

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：17501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791386

研究課題名(和文)放射線性腸炎・皮膚炎に対する新規抗酸化剤の有効性

研究課題名(英文)The effectiveness of the newly antioxidant for radiation enteritis, dermatitis

研究代表者

杉田 諭 (SUGITA, Satoshi)

大分大学・医学部・客員研究員

研究者番号：20625470

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：抗酸化作用と抗炎症作用をもつ新規抗酸化物質ETS-GSのラット放射線性腸炎モデルに対する治療効果の検討を行った。ラットの腹部に10Gyの放射線を照射し放射線性腸炎モデルを作成し、照射2日前よりETS-GS(10mg/kg)を5日間連続でラットに皮下投与した。ETS-GS投与群の回腸粘膜の障害は放射線照射群と比べて抑制されていた。各種炎症系・酸化ストレスマーカーでもETS-GS投与群は放射線照射単独群よりも有意に低値であった。今回の結果から、ETS-GSの投与により放射線照射後の回腸粘膜障害を抑制することが認められた。引き続き放射線性皮膚炎モデルに対する有効性についての検討を予定している。

研究成果の概要(英文)：The therapeutic effects of ETS-GS, a novel vitamin E derivative with antioxidative and anti-inflammatory abilities, were examined in a rat model of radiation enterocolitis. The radiation enterocolitis model was created by irradiation of rats with a single dose of 10 Gy. ETS-GS was administered subcutaneously (10 mg/kg/day) for five consecutive days from two days prior to irradiation. The ileal mucous membrane disorder of the ETS-GS administrated group was controlled in comparison with radiation exposure that received no ETS-GS group. In the ETS-GS administrated group, various inflammatory and oxidative stress markers were significantly lower than radiation exposure alone group. In this study, ETS-GS with antioxidant activity has a therapeutic effect on the symptoms of radiation enterocolitis in a rat model. Subsequently, the effectiveness of the ETS-GS for radiation dermatitis model is planned to study.

研究分野：医歯薬学

キーワード：外科 放射線

1. 研究開始当初の背景

放射線性腸炎や放射線性皮膚炎は悪性腫瘍に対して行われた放射線治療の副作用として生じる副作用で、腸炎では腹痛・下痢・下血・腸管狭窄・腸管穿孔・瘻孔形成など、皮膚炎では発赤・びらん・潰瘍形成などを引き起こす疾患である。原因として、放射線照射による腸管粘膜・皮膚への直接障害や周囲血管の内膜炎・血栓形成などが考えられているが、その発症メカニズムについては未だ不明な部分が多い。同疾患の治療に関しては、腸炎では腸管安静やステロイド、サラゾスルファピリジンなどが、皮膚炎では冷あみ法やステロイド軟膏などが用いられるがその治療効果は十分とは言えず、薬物治療無効例では外科的治療に至る場合もあり得る。一般に強い炎症による臓器障害には酸化ラジカルが関与することはよく知られていることから、抗酸化物質がそのような臓器障害に有効である可能性があるが、放射線性障害に対する有効性は不明である。

これまでにこのような酸化ラジカルを消去する薬剤としていくつかの抗酸化物質が試されている。ビタミンEもその一つである。ビタミンEは強力な抗酸化作用を有するが、油溶性で水に溶けないという欠点があり、薬剤として不的確であった。またこれまで水溶性にするために種々の誘導体が合成されてきたが、溶血性といった副作用が出現するなど難点があった。

我々は最近、抗酸化物質として知られたビタミンEの新規誘導体 ETS-GS

(γ -L-Glutamyl-S-[2-[[[3,4-dihydro-2,5,7,8-tetramethyl-2-(4,8,12-trimethyltri-decyl)-2H-1-benzopyran-6-yl]oxy]carbonyl]-3-oxo-3-[(2-sulfoethyl)amino]propyl]-L-cysteinyglycine sodium salt) を合成することに成功し、ETS-GS が強い抗酸化作用を有することをすでに見だし報告した (J Surg

Res. 2010 in press)。ETS-GS はビタミンEに無水マレイン酸を作用させてビタミンEマレイン酸エステルを合成し、これにシステインやグルタチオンを付加させ、水溶性ビタミンE誘導体として満足できる安定な化合物を合成し、これにマレイン酸残基にアミンやアミノ酸を結合させたものである。我々はすでにマウスの虚血再灌流臓器障害に ETS-GS 投与が有効であることを見いだしている。

したがって、我々は ETS-GS が全身性炎症反応時のラジカル産生を抑制することによって、放射線性腸炎や皮膚炎にも効果を示すのではないかと仮説をたてた。

2. 研究の目的

本研究では、ビタミンE誘導体の一つである ETS-GS が、ラット放射線性腸炎モデル・皮膚炎モデルにおいて有効であるか否かについて検討する。また臨床への実用化を視野にいれて、最適な薬剤の投与方法についても検討を行う。放射線性腸炎においては早期障害・晩期障害それぞれで検討を行う。最終的には、本計画期間中に ETS-GS の長期投与による各種臓器への毒性の有無を確認し、臨床応用に向けての第一歩とすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1)放射線性腸炎モデルに対する検討

雄性SDラットをコントロール群、放射線照射単独群、放射線照射+ETS-GS投与群の3群に分け、放射線照射単独群と放射線照射+ETS-GS投与群はセシウムを線源とした放射線10Gyを全腹一回照射する。ETS-GS投与群はさらに放射線照射2日前から照射後2日目まで計5日間、1日10mg/kgのETS-GSを皮下投与する。放射線照射3日後に犠牲させ回腸組織を採取し、腸炎抑制効果を検討する。評価項目として、1)臨床所見、2)回腸粘膜の肉眼的所見、3)回腸粘膜の病理組織学的所見、

4)アポトーシスの程度(TUNEL 染色、カスパーゼ 3/7)、5)酸化ストレスマーカーの測定(マロンジアルデヒド、NO_x、HO-1 測定)、6)炎症系マーカーの測定(MPO)等を行う。

(2)放射線性皮膚炎モデルに対する検討

放射線性皮膚炎モデルにおけるビタミン E 誘導体 ETS-GS の抑制効果として、雄性 SD ラットをコントロール群、放射線照射単独群、放射線照射+ETS-GS 投与群の 3 群に分け、放射線照射単独群と放射線照射+ETS-GS 投与群はセシウムを線源とした放射線 10Gy を 1 回照射する。ETS-GS 投与群はさらに放射線照射 2 日前から照射後 2 日目まで計 5 日間、1 日 10mg/kg の ETS-GS を皮下投与する。放射線照射 3 日後に犠死させ皮膚組織を回収し、皮膚炎抑制効果を検討する。評価項目として、皮膚組織の臨床・肉眼・病理組織学的所見、アポトーシスの程度、酸化ストレスマーカーの測定を行う。

4. 研究成果

(1)放射線性腸炎モデルに対する成果

回腸粘膜の HE 標本においてコントロールである非治療群と比べて放射線群は粘膜の壊死・粘膜下層の浮腫、炎症細胞の浸潤を認め、陰窩の短縮を認めた。一方、放射線+ETS-GS 投与群においては中等度の上皮のびらんを認めるが、放射線群よりも粘膜や陰窩は保たれていた(図 1)。

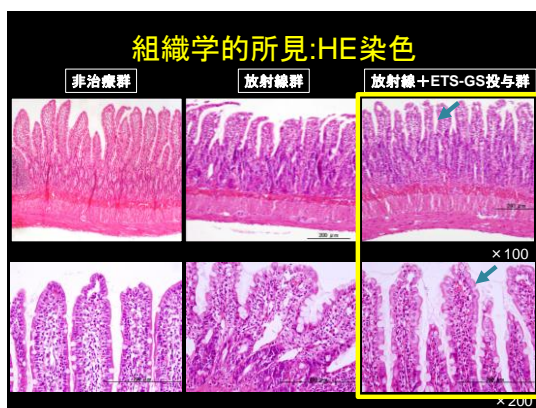


図 1 回腸組織所見(HE 染色)

TUNEL 法を用いた回腸組織所見では、放射線群で染色されたアポトーシス細胞を確認した。これに対し、コントロール群及び ETS-GS 投与群ではアポトーシス細胞をほとんど認めなかった(図 2)。

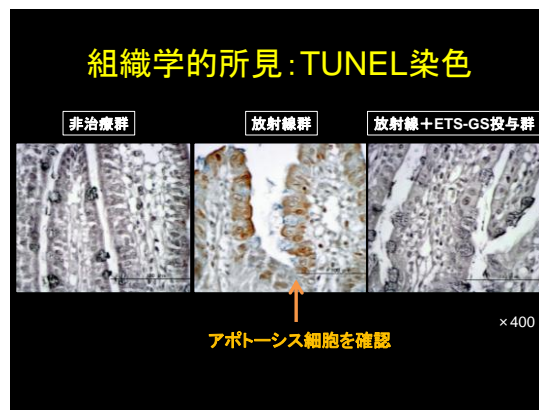


図 2 TUNEL 染色

アポトーシスを誘導に關与するタンパク分解酵素であるカスパーゼ 3/7 活性では、非治療群に比べ、放射線群で有意に上昇を認めた。

ETS-GS 投与群は放射線群に比べカスパーゼ 3/7 の上昇が有意に抑えられていた(図 3)。

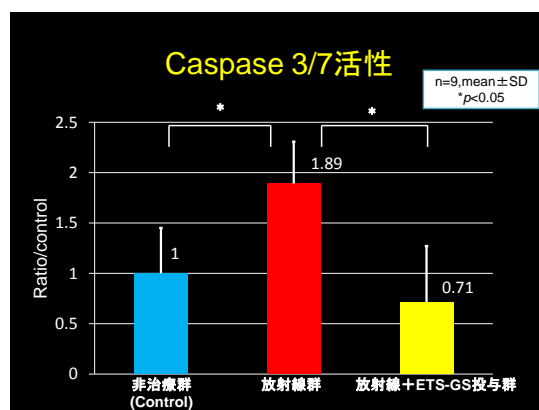


図 3 カスパーゼ 3/7 活性

酸化ストレスマーカーであるマロンジアルデヒドの発現では、非治療群に比べ、放射線群で有意に上昇を認めた。放射線群に比べ ETS-GS 投与群では有意に低下していた(図 4)。

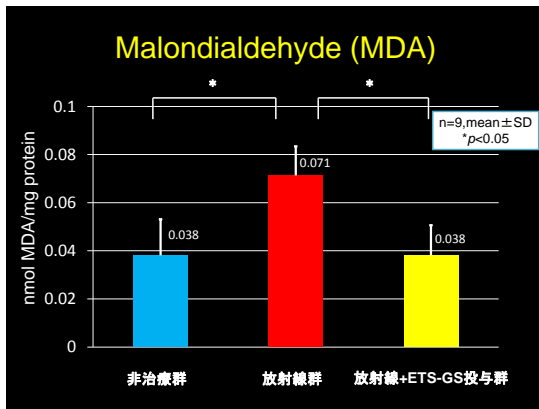


図4 マロンジアルデヒド(MDA)

ミエロペロキシダーゼの発現量では、非治療群に対し放射線群で有意に上昇していた。ETS-GS 投与群では放射線群に比べ有意に低下していた(図5)。

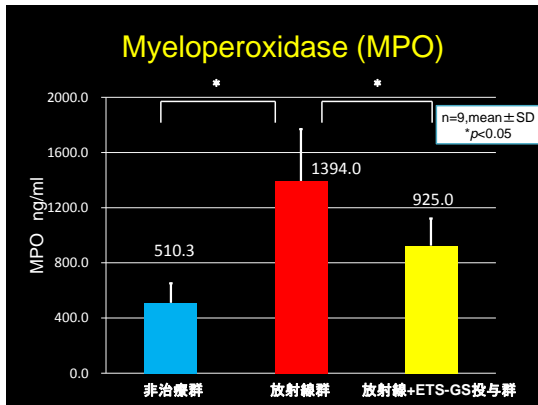


図5 ミエロペロキシダーゼ(MPO)

以上の結果より、ラット放射線性腸炎モデルにおいて、新規ビタミン E 誘導体 ETS-GS を投与は、回腸粘膜のアポトーシスや酸化ストレスマーカー、炎症系マーカーの上昇を抑制し、その結果回腸粘膜障害の抑制効果を示した。

今回の研究では放射線性腸炎の晩期障害への効果や放射線性皮膚炎モデルに対する有効性についてまでは判明し得なかった。引き続きこれらに対する検討を予定している。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Sugita S, Inomata M, Kono Y, Shiroshita H, Etoh T, Shiraishi N, Kitano S. Effect of the new synthetic vitamin E derivative ETS-GS on radiation enterocolitis symptoms in a rat model *Oncol Lett.* 2013 Nov;6(5):1229-1233. 査読有

[学会発表] (計 1 件)

- ① 杉田諭、河野洋平、平塚孝宏、上田貴威、白下英史、衛藤剛、安田一弘、猪股雅史、野口剛、白石憲男、北野正剛 新規抗酸化物質 ETS-GS はラット放射線性腸炎モデルの回腸粘膜障害を改善する 第112回日本外科学会定期学術集会 2012年4月12-14日 幕張メッセ(千葉県千葉市)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉田 諭 (SUGITA, Satoshi)

大分大学・医学部・客員研究員

研究者番号：20625470

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：