

学 位 論 文 要 旨

氏 名 山本 創



論 文 題 目 :

「Changes in the mucus barrier during cisplatin-induced intestinal
mucositis in rats

(ラットにおける Cisplatin 起因性消化管粘膜傷害に対するムチン量の
変化に関する検討)」

指 導 教 授 承 認 印

小泉和之郎



「Changes in the mucus barrier during cisplatin-induced intestinal mucositis in rats
(ラットにおける Cisplatin 起因性消化管粘膜傷害に対するムチン量の変化に関する検討)」

山本 創

要旨

【背景・目的】

抗癌剤起因性消化管粘膜傷害は臨床症状において、下痢、食欲不振としてあらわれ、時に治療継続が困難となる場合があるが、詳細は未だ解っていない。これまで我々は 5-FU をラットに投与すると胃から大腸に至るまでの消化管粘膜に様々な傷害が認められ、部位により傷害の程度に差があることを明らかにしてきた。

そこで今回は、消化器領域の癌に対する化学療法において 5-FU 同様に汎用される cisplatin を用いて、抗癌剤起因性消化管粘膜傷害に関し、検討を行った。また、抗癌剤起因性消化管粘膜傷害に対し、抗潰瘍薬として臨床で使用される各種 H₂ 受容体拮抗薬の効果を併せて検討した。

【方法】

Wistar 系雄性ラットに cisplatin を 6mg/kg 単回尾静脈投与し、1、3、7、11 日目に消化管（胃、空腸、回腸、大腸）を抗ムチンモノクローナル抗体使用による免疫組織学的検討及び生化学的粘液量測定を施行した。

次に H₂ 受容体拮抗薬につき、第一世代 famotidine(3mg/kg)と第二世代 lafutidine(30mg/kg)を 1 日 1 回計 3 日間経口投与することによる抗癌剤起因性小腸粘膜傷害に対する効果を検討した。

(1)Cisplatin 投与におけるラット体重及び消化管粘膜の変化に対する検討

ラットを control 群、cisplatin 投与群の 2 群に設定。実験初日 (day0) にのみ、cisplatin 群には生理食塩水にて希釈した cisplatin を 6mg/kg の投与量で尾静脈より単回投与した。Control 群に対しては cisplatin 群で投与する体重あたりの投与量と同量の生理食塩水を尾静脈より単回投与した。投与後 1 日、3 日、7 日、11 日目に各群の体重測定及び消化管（胃、空腸、回腸、大腸）粘膜の傷害の程度、消化管粘液の測定を行なった。

次いで、H₂ 受容体拮抗薬である famotidine(3mg/kg)、lafutidine(30mg/kg)の抗癌剤起因性小腸粘膜傷害に対する効果を検討するため、control 群、cisplatin 投与群、famotidine 投与群、lafutidine 投与群の 4 群を設定。実験初日 (day0) にのみ、cisplatin 群にはゾンデにて経口的に carboxymethylcellulose (CMC)を投与後、生理食塩水にて希釈した cisplatin を 6mg/kg の投与量で尾静脈より単回投与し、control 群に対しては CMC 投与後、cisplatin 群で投与する体重あたりの投与量と同量の生理食塩水を尾静脈より単回投与した。両群ともに、3 日間 (day0,1,2) 1 日 2 回ゾンデにて CMC を投与した。Famotidine 群、lafutidine 群は各々 famotidine(3mg/kg)、lafutidine(30mg/kg)をゾンデにて経口投与後、実験初日 (day0) にのみ、生理食塩水にて希釈した cisplatin を 6mg/kg の投与量で尾静脈より単回投与した。両群ともに、3 日間 (day0,1,2) 1 日 2 回ゾンデにて各々 famotidine、lafutidine を投与した。

(2)組織学的検討

得られた胃、空腸、回腸、大腸に対して hematoxylin & eosin (H-E)染色を施行し、各消化管粘膜の傷害の程度を評価した。次に、消化管粘液の主成分であるムチンにおいて、構造側鎖に、スルホ基を有する小腸のムチンを認識する抗ムチンモノクローナル抗体である PGM34 を使用して消化管粘膜の傷害の程度及び消化管粘液の分布を評価した。次いで、各細胞の細胞周期において、細胞周期合成期(G1、S、G2 期)の核を特異的に染色する抗体、ki-67 を使用して cisplatin 単独投与群及び famotidine、lafutidine 併用群の消化管粘膜増殖帯の細胞周期の過程を評価した。

(3)消化管粘液量の測定

各々の実験で得られた胃、空腸、回腸、大腸に対し組織の乾燥、粉碎、抽出を経て高分子画分 (Fr-1) を作成し、hexose 量を測定。得られた hexose 量を粘液量とした。

【結果】

(1)Cisplatin 単独投与及び H₂ 受容体拮抗薬併用に伴うラット体重の変化に関する検討

ラット体重においては、Cisplatin 投与群で、control 群と比し有意に体重の減少を認めた。体重減少に関しては、cisplatin 投与群において著明に下痢を認めた事から、cisplatin 起因性の催吐作用による食欲減退と下痢による水分減少が考えられた。H₂ 受容体拮抗薬併用では lafutidine 併用において、cisplatin 投与に伴う体重減少を抑制した。

(2)組織学的評価

Cisplatin 単独投与において H-E 染色にて消化管粘膜を評価すると、day3 の空腸、回腸に著明な傷害を認め、以降 day11 にかけて、傷害の自然回復を認めた。後述する消化管粘液量の測定結果と合わせ、空腸に比し回腸における粘膜傷害がより顕著であることが示された。次に、特に回腸における抗癌剤起因性粘膜傷害に注目し、各々 Control 群、cisplatin 単独投与群及び famotidine 併用群、lafutidine 併用群において、抗ムチンモノクローナル抗体である PGM34 による回腸粘液量の分布を調べた。Cisplatin 投与群では、回腸に表層粘液の減少、粘液分泌細胞の減少及び消化管粘膜の傷害を認めた。これらは、lafutidine 併用下においては粘液量及び消化管粘膜の保持を認めた。Ki-67 による回腸粘膜の増殖帯の評価に関しては、famotidine、lafutidine 併用群の両者において、cisplatin 単独投与群と同様に cisplatin 投与下において、増殖帯は control 群に比し抑制されていた。以上より、cisplatin 起因性の小腸粘膜傷害は空腸に比し、回腸がより傷害される事が示されたが、lafutidine 併用下では、傷害は抑制された。また、lafutidine は増殖帯の細胞周期に直接関与しないことから、cisplatin の細胞傷害作用に影響を与えず、粘液量を保持していることが示唆された。

(3) 消化管粘液量の測定

消化管粘液量において、cisplatin を投与すると、胃、回腸、大腸において day3 より顕著に粘液量が減少し、day11 にかけて回復する傾向を認めた。組織学的な評価と合わせ、回腸における cisplatin 起因性粘膜傷害と H₂ 受容体拮抗薬併用による効果を評価すると、lafutidine 併用下において、著明に粘液量減少は抑制された。

【考察】

(1) Cisplatin 単独投与及び H₂ 受容体拮抗薬併用に伴うラット体重の変化に関する検討

Cisplatin 投与に伴う体重減少に関しては、cisplatin 起因性の催吐作用による食欲減退と吸収の場である空腸、回腸粘膜上皮が傷害される事に起因する栄養、水分の吸収障害及び炎症に起因する血管透過性亢進による水分漏出が併発し、その結果として発症する下痢による水分減少、栄養不良が主たる要因と考えられた。Lafutidine 併用における体重減少の抑制に関しては、lafutidine 投与により、空腸、回腸粘膜上皮の傷害が抑制され、これにより上述の吸収障害、漏出が抑制される事に起因するラット体水分量、筋肉や体脂肪量の保持が主たる要因と考えられた。

(2) 組織学的評価及び消化管粘液量の測定

Cisplatin 投与群において空腸、回腸とも投与 3 日目に粘膜上皮の最大の傷害を認め、7 日目を以降自然回復を認めた。これは cisplatin 単回投与での血中濃度の減少が二相性を示し、第二相の半減期がおおよそ 100 時間程度である事、また、ラットの小腸粘膜上皮の turn over はおおよそ 48~72 時間である事に起因する両者の時相が主たる要因として示唆された。空腸と比し、回腸において粘膜上皮に有意に傷害を認めた事に関しては、両者の血流量の差異や、元来の粘膜上皮の脆弱性の差異などの因子が考えられるが、これらは今後も検討が必要である。回腸における lafutidine 併用下での粘液量減少の抑制及び消化管粘膜の保持に関しては、Ki-67 を使用した免疫染色の結果より、増殖帯からの粘膜新生ではなく、lafutidine 独自の作用であるカプサイシン感受性知覚神経を介する粘液産生機構によって粘液産生が保たれ、これにより相対的な管腔側からの細菌、消化酵素などの刺激が緩和された事が粘膜傷害抑制をもたらしたのではないかと考えている。

【結論】

Cisplatin 投与は、ラットにおいて消化管の特に回腸を中心に傷害を生じることが確認でき、傷害抑制には第二世代の H₂ 受容体拮抗薬併用投与が効果的であることが示唆された。