

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K11076

研究課題名(和文)小腸粘膜障害予想バイオマーカーを用いた抗癌剤による消化管毒性新規予防法の確立

研究課題名(英文) Establishment of method using new biomarker to prevent the intestinal toxicity caused by chemotherapy.

研究代表者

小林 道也 (KOBAYASHI, Michiya)

高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・教授

研究者番号：30205489

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：5、8日目の5FUおよび5FU+SDF群の血漿DAO活性の減少率は対照群に比べて有意に高かった。5日目では5FU+SDF群が5FU群よりも有意に低かった(48.1%対63%； $p=0.028$ )。8日目では有意差なかった(56.1%対58.7%； $p=0.686$ )。組織学的には5FU群では対象群と較べて5、8日目とも小腸粘膜の炎症細胞浸潤が強く絨毛の萎縮を認めた。この変化は5FU群に比べて5FU+SDF群で軽度であった。SEMによる超微形態学的検討では5FU群において対照群と較べて5、8日目で小腸粘膜の表面構造が不規則であった。5FU+SDF群では5FU群に比べて表面構造が保たれていた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血漿DAO活性は8日目には有意差がなくなったため、消化管粘膜障害の回復期での有用性を確認することは出来なかったが、急性期の消化管の腸管粘膜の損傷の減少を抑えるバイオマーカーとしては有用であった。これらよりSDFの前投与が、急性期の5FUの消化管粘膜障害を抑えることができることが示唆された。この結果より消化管有害事象の発生を化学療法前に予想し、早期に対処することができ、癌化学療法を受ける患者にとっても、また医療経済学的にも有意義である。

研究成果の概要(英文)：The decrease rate of DAO activity on 5th and 8th day was significantly high in 5FU, and 5FU plus SDF group compared to the control. On the 5th day, it was significantly low in the 5FU plus SDF group compared to the 5FU group (48.1% vs 63%； $p=0.028$ ). The 5FU group demonstrated more of inflammatory cell infiltration and atrophy of villi. The 5FU and SDF group showed less findings compared to 5FU group. Ultrastructural analysis by SEM demonstrated much more irregular surface structure in 5FU group compared to control group on 5th and 8th day. The 5FU plus SDF maintain the surface structure compared to 5FU group.

研究分野：消化器

キーワード：Diamine Oxidase 癌薬物療法 有害事象 消化管粘膜障害 下痢

## 1. 研究開始当初の背景

胃癌化学療法時の消化器系有害事象は治療遂行に大きな影響を与えその予測と早期の対処は重要である。研究代表者らは小腸粘膜細胞増殖に必須のpolyamine濃度を制御する酵素diamine oxidase (DAO)<sup>1,2</sup>に注目し、5-fluorouracil (5-FU)投与後のラット小腸粘膜の超微形態学的変化と血中DAO活性を検討し、小腸粘膜障害の指標としてのDAO活性の有用性を発表した<sup>3</sup>。われわれは進行胃癌に対する術後補助化学療法や再発・切除不能進行胃癌に対する化学療法の多施設共同臨床試験を施行しその成果を発表してきた<sup>4,11</sup>。臨床試験ではプロトコールに既定された比較的全身状態の良い患者が多く重篤な有害事象の発生は少ないが、実臨床ではさまざまな状態の患者が存在し、血液毒性、消化管毒性などの有害事象が治療継続上問題となる。新規制吐剤による支持療法が施行されているが、下痢などの消化管毒性を化学療法前・化学療法中に早期に予測し、対処をする手段はない。DAO活性がそのバイオマーカーとなり、安価なSDF投与により下痢を予防することができないかが本研究の重要な点である。術後の体重減少の回復が化学療法遂行に重要であると報告がある<sup>12</sup>。化学療法には、1)術後補助化学療法、2)再発・切除不能進行胃癌に対する化学療法、がある。胃切除術直後には食事摂取能、消化管機能の回復が不十分で患者の栄養状態が低下している。再発・切除不能例では担癌状態による全身状態の悪化や癌による通過障害のため栄養状態の低下を伴うことが多い。化学療法によりさらに食欲低下、悪心・嘔吐、下痢などの有害事象が生じればさらに栄養状態、全身状態が悪化し化学療法の継続が不可能となるこれをSDF投与で予防しDAO活性で早期に察知することは患者にとっても医療経済にとっても重要であると考えられる。

5-fluorouracil (5FU)投与によって、血漿 Diamine Oxidase (DAO)レベルの低下が引き起こされ、腸管粘膜が損傷されることが過去の研究で示されている。また、水溶性食物繊維 (SDF: グアーガム)を予防的に前投与することで、小腸粘膜を保護し、消化管毒性を予防し、化学療法の認容性を高め、副作用の症状緩和が期待される。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、これまでの研究で生じた新たな問題①5-FU投与前の血中DAO活性が消化器系有害事象を予測するバイオマーカーとなりうるか、②DAOを指標として5-FU投与前からの水溶性食物繊維(SDF)投与が小腸粘膜障害を予防できるかどうか、を明らかにすることである。

## 3. 研究の方法

ラットの尾静脈より4日間生理食塩水を投与するコントロール群、4日間5FUを投与する5FU群、7日前から経口的にSDFを投与し、4日間5FUを投与、その後もSDFを投与する5FU+SDF群の各々10匹のラット3群を準備し、生理食塩水または5FU投与初日に尾静脈より採血し、5日目に再度、10匹から採血し、各々、5匹から小腸と大腸をサンプリング、8日目に残り5匹から採血とサンプリングを行った。いずれの手技も、

イソフルランの全身麻酔下で行われ、心臓切開で安楽死を行った。DAO は、Rat Diamine Oxidase ELISA Kit で測定を行い、小腸を採取し、光学顕微鏡および走査型電子顕微鏡 (SEM) による観察を行った。

#### 4. 研究の成果

5、8日目の5FUおよび5FU+SDF群における血漿DAO活性の減少率は、対照群に比べて有意に高かった。また5日目の5FU+SDF群の血漿DAO活性減少率は5FU群よりも有意に少なかった(48.1%対63%;  $p=0.028$ )。8日目に、5FU+SDF群と5FU群の血漿DAO活性減少率には有意差が認められなかった(56.1%対58.7%;  $p=0.686$ ) (図1)。

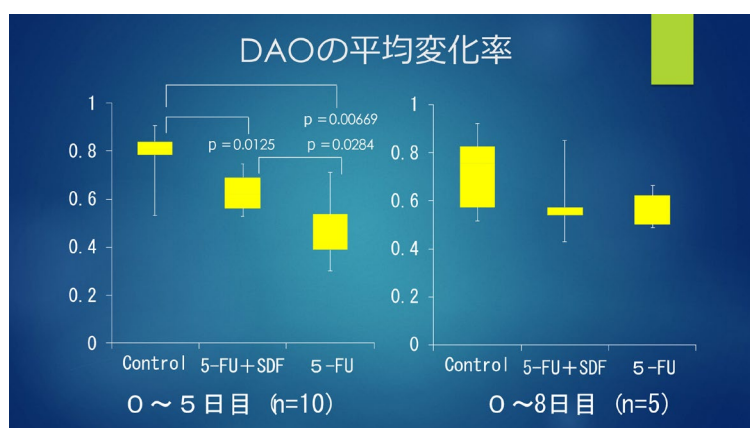


図1

小腸粘膜は、組織学的には、5FU群では生理食塩水群と較べて、5、8日目とも炎症細胞浸潤が強く、絨毛の萎縮を認めた。この変化は5FU群に比べて5FU+SDF群で軽度であった。SEMを用いた超微形態学的検討では、5FU群において、対照群と較べ、5、8日目とも小腸粘膜の表面構造が不規則であった(図2, 3)。一方、5FU+SDF群では5FU群に比べて表面構造が保たれていた。

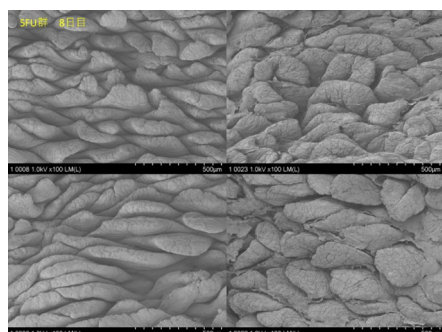


図2

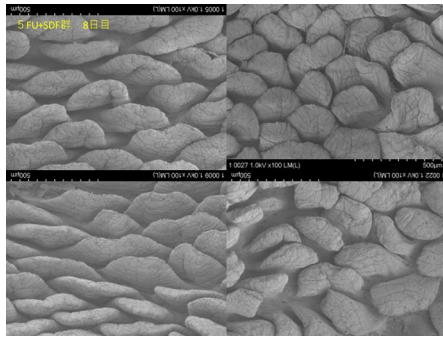


図 3

本研究では血漿 DAO 活性は 8 日目には有意差がなくなったため、小腸粘膜障害の回復期での有用性を確認することは出来なかったが、急性期の小腸粘膜障害のバイオマーカーとしては有用であった。また、組織学的および超微形態学的検討から SDF の前投与が、急性期の 5FU の小腸粘膜障害を抑えることができることが示唆された。

これらの結果は 2020 年 12 月 3 日、4 日に開催された第 52 回日本臨床分子形態学会総会・学術集会で発表した。

[参考文献]

1. Tsujikawa T, Uda K, Ihara T, et al. *Cancer Lett* 147:195-198, 1999
2. 田中芳明 外科と代謝41:95-101, 2007
3. Fukudome I, Kobayashi M, Maeda H, et al. *Med Mol Morphol* doi:10.1007/s00795-013-0055-7
4. Kondo K, Kobayashi M, Kojima H, et al. *Jpn J Clin Oncol* 35:332-337, 2005
5. Nagata N, Kobayashi M, Kojima H, et al. *Hepato-Gastroenterol* 52:1905-1910, 2005
6. Kobayashi M, Sakamoto J, Namikawa T, et al. *World J Gastroenterol* 12:1412-1415, 2006
7. Kobayashi M, Tsuburaya A, Nagata N, et al. *Gastric Cancer* 9:114-119, 2006
8. Kobayashi M, Oba K, Sakamoto J, et al. *Gastric Cancer* 10:52-57, 2007
9. Ninomiya M, Kondo K, Kobayashi M et al. *J Chemother* 19:444-450, 2007
10. Tsuburaya A, Morita S, Kobayashi M et al. *BMC cancer* Epub 2012
11. Imamura H, Nishikawa K, Kishi K et al. *Ann Surg Oncol* 23:2928-35, 2016
12. Nishikawa K, Morita S, Kobayashi M et al. *Gastric Cancer* Epub 2012

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 原 一平
2. 発表標題 ラットへの5-FU投与におけるジアミンオキシダーゼの低下と可溶性食物繊維投与の有益性について
3. 学会等名 第52回日本臨床分子形態学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	馬場 良子 (BABA Ryoko) (90271436)	産業医科大学・医学部・講師  (37116)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------