

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月11日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22501045

研究課題名（和文） 胃癌化学療法による小腸粘膜障害のバイオマーカー開発と消化管毒性の新規予防法の確立

研究課題名（英文） Development of a biomarker for small intestinal mucosal injury following chemotherapy for gastric cancer and establishment of new method to prevent gastrointestinal adverse event

研究代表者

小林 道也（KOBAYASHI MICHIIYA）

高知大学・教育研究部医療学系・教授

研究者番号：30205489

研究成果の概要（和文）：抗癌剤による消化器系有害事象（主に下痢）について小腸粘膜の病理組織学的（光学顕微鏡、PCNA、Ki67による免疫組織化学）と超微形態学的な変化（走査型電子顕微鏡）とDAO活性との相関、また水溶性食物繊維（SDF）投与が小腸粘膜障害の予防ができるかどうかを用いて検討し、1）DAO活性は抗癌剤治療後の消化管障害の指標となりうる、2）SDFの投与は抗癌剤治療による消化管障害の改善に効果がある可能性がある、ということが証明された。

研究成果の概要（英文）：To clarify the gastro-intestinal adverse event (mainly diarrhea) and morphological change of the small intestine after chemotherapy, we investigate the correlation between DAO activity and morphological change of small intestine by light microscopy, immuno-histochemistry (for PCNA and Ki67) and scanning electron microscopy. We also investigated that soluble dietary fiber could prevent the injury for small intestine. The conclusions are 1) DAO activity can indicate the small intestine injury after chemotherapy, and 2) soluble dietary fiber may have an effect to improve the small intestine injury.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：腫瘍学・臨床腫瘍学

キーワード：化学療法、DAO活性

1. 研究開始当初の背景

日本人の悪性新生物臓器別年齢調整別死亡率はこれまで胃癌が第1位であったが1965年をピークに急激に減少し、2000年には肺癌にその座を譲っているが、これは近年の高齡

化した年齢構成を調整していることより年齢調整別死亡率が低下しているため、実際には粗死亡率は横ばい状態である。今後さらに高齢者社会になると考えられ、胃癌の罹患率は増加すると推測される。

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 Phase I ならびに Phase II 試験を多施設共同で施行し、その成果を発表してきた。臨床試験に登録された患者はプロトコルに示された登録条件により栄養状態の良い患者が多く、重篤な有害事象の発生は少ない。

胃癌化学療法には 1) 術後補助化学療法、2) 再発・切除不能進行胃癌に対する治療的化学療法、の 2 つある。術後補助化学療法は胃切除術直後で、食事摂取能、消化管機能の回復が十分でないことによる患者の栄養状態の低下があり、再発・切除不能な場合に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。これらの低栄養状態の患者に化学療法を施行し、化学療法による食欲低下、下痢、悪心・嘔吐などの消化器系の有害事象が生じればさらに栄養状態、全身状態が低下し化学療法の継続さえも不可能となる。特に実臨床においては、すべての患者が良好な栄養状態下にあるとは限らない。

進行・再発消化器癌の集学的治療の一環として、化学療法が果たす役割は大きい。しかし、胃切除後や再発胃癌に共通した病態として栄養低下による全身状態の低下がある。これに化学療法による消化器系有害事象が加わり、本来施行すべき十分な治療を完遂できない場合も多い。

本研究で検討する diamine oxidase (DAO) は小腸粘膜の細胞増殖に必須の polyamine 濃度を制御する酵素で、血中 DAO 活性が化学療法中の小腸の粘膜障害の指標になるとの報告がある。

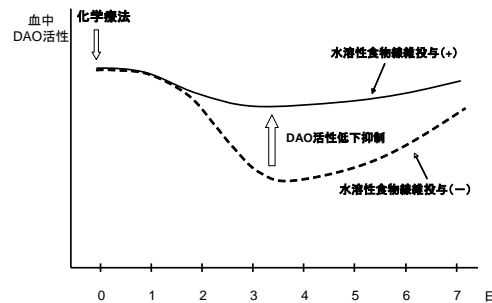
また、水溶性食物繊維には癌化学療法中の小腸粘膜保護効果があり、癌化学療法中に投与することにより DAO 活性の低下を軽減できるとの報告がある。

(1) 化学療法による食欲低下、下痢、悪心・嘔吐などの消化器系の有害事象が生じればさらに栄養状態、全身状態が低下し化学療法の継続さえも不可能となる場合がある。

(2) Tsujikawa ら (Tsujikawa T, Uda K, Ihara T, et al. Changes in serum diamine oxidase activity during chemotherapy in proteins with hematological malignancies. Cancer Lett 147:195-198, 1999) は小腸粘膜の細胞増殖に必須の polyamine 濃度を制御する酵素である diamine oxidase (DAO) の血中の活性が化学療法中の小腸の粘膜障害の指標になると述べている。また、田中ら (田中芳明 血中 DAO と消化管機能. 外科と代謝 41:95-101, 2007) は消化器症状を主な有害

事象とする抗がん剤の投与時には DAO 活性が低下し、さらに水溶性食物繊維の投与により DAO 活性が改善し、下痢などの消化器症状が軽減することを示している。

予測される効果



2. 研究の目的

(1) 各種抗癌剤による小腸粘膜障害の病理組織学的、さらに超微形態学的程度と血中 DAO 活性との相関を明らかにし、癌化学療法中の小腸粘膜障害の指標としての DAO 活性の有用性を示す。

(2) 水溶性食物繊維の投与により小腸粘膜障害の予防ができることを証明する。

3. 研究の方法

ラットをコントロール群 (抗癌剤未投与群)、5-fluorouracil (5-FU) 投与群、に分け、それぞれ 1 週間前より水溶性食物繊維投与群と非投与群に分け、それぞれ以下の方法を用いた。

(1) ラットで下痢を生じさせる 5-fluorouracil (5-FU) の至適投与量を決定。

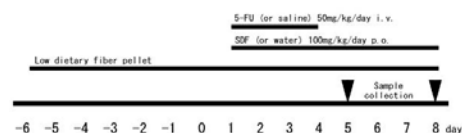
(2) 5-FU を投与し、下痢の状態を観察しその程度をスコア化、血中 DAO 活性を測定。

(3) 小腸粘膜障害の程度を光学顕微鏡、走査型電子顕微鏡を用いて観察。

(4) 細胞増殖マーカーである PCNA, Ki67 を用いた免疫組織化学による検討。

4. 研究成果

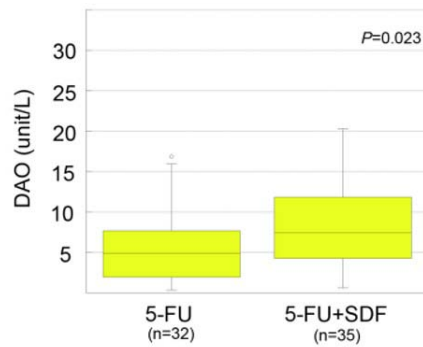
(1) ラットが生存し、下痢を発症する至適投与量は 50mg/kg/日、4 日間連続静脈投与であった。



(2) 5-FU 投与群では水溶性食物繊維投与群は水溶性食物繊維非投与群に比べ重篤な下痢が少ない傾向にあった。

		Rate of diarrhea			
		Day 5*	Day 6**	Day 7**	Day 8**
5-FU Group	Grade I	11	2	3	-
	Grade II	-	4	-	1
5-FU+SDF Group	Grade I	5	1	2	-
	Grade II	1	3	-	-

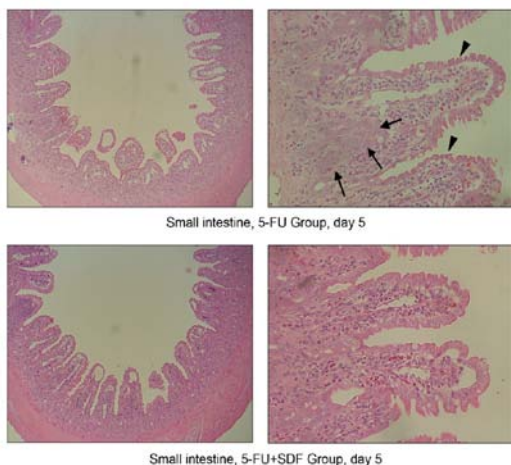
(*) 12 rats in each group. (**) 6 rats in each group. On day 5, 11 out of the 12 rats in the 5-FU Group had diarrhea while only 6 rats in the 5-FU+SDF Group developed diarrhea.



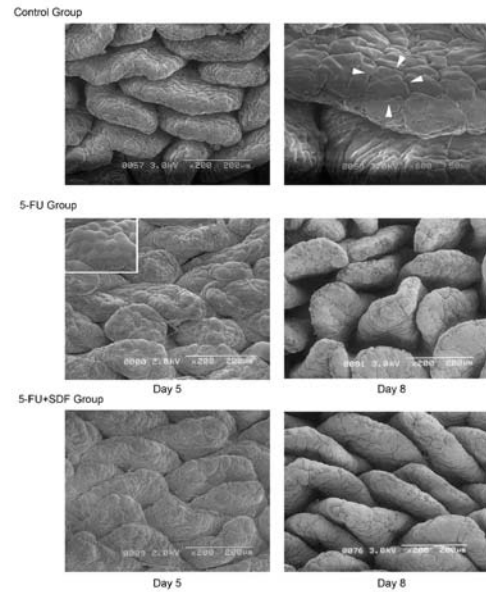
(3) 5-FU 投与群では 5-FU 非投与群に比べ 5 日目、8 日目で DAO 活性の有意な低下が見られたが、5 日目において水溶性食物繊維投与群で水溶性食物繊維非投与群に比べ DAO 活性が高値であった。

(4) 小腸粘膜の形態学変化：

①光学顕微鏡による検討では食物繊維投与群においては非投与群に比べ、小腸絨毛の形態が比較的維持されており、また炎症、浮腫も軽度であった。特に、5 日目、8 日目において小腸絨毛の障害程度が軽度であった。

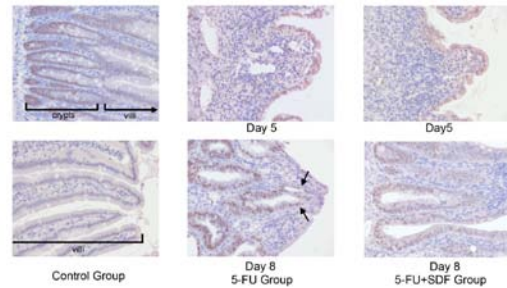


②走査型電子顕微鏡を用いた検討では、食物繊維投与群において小腸絨毛の舌状構造の破壊の程度が軽度であった。



③PCNA, Ki67 を用いた免疫染色による検討では水溶性食物繊維を投与した群において 8 日目で小腸絨毛、腸陰窩がより正常に近い形態を示した。

ki67



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)

[学会発表] (計 4 件)

- ① 福留惟行、化学療法による小腸粘膜障害のバイオマーカー開発と小腸粘膜障害の形態学的観察、第 21 回日本癌病態治療研究会、2012 年 7 月 6 日、前橋テルメ、群馬県
- ② 福留惟行、化学療法による小腸粘膜障害のバイオマーカー開発と消化管毒性の新規予防法の確立、第 44 回日本臨床分子形態学会、2012 年 9 月 29 日、高知市文化プラザかるぽーと、高知県
- ③ 福留惟行、化学療法による小腸粘膜障害のバイオマーカー開発と消化管毒性の新規予防法の確立、第 50 回日本癌治療

学会学術集会、2012年10月26日、パシ
フィコ横浜、神奈川県

- ④ 福留惟行、化学療法による小腸粘膜障害
のバイオマーカー開発と消化管毒性の
新規予防法の確立、第43回日本臨床分
子形態学会、
2011年9月10日、大阪医科大学、大阪
府

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小林 道也 (KOBAYASHI MICHIYA)
高知大学・教育研究部医療学系・教授
研究者番号：30205489

(2) 研究分担者

田中 芳明 (TANAKA YOSHIAKI)
久留米大学・医学部・准教授
研究者番号：50188348
(H23→H24：連携研究者)
並川 努 (NAMIKAWA TSUTOMU)
高知大学・教育研究部医療学系・講師
研究者番号：50363289

(H23→H24：連携研究者)

北川 博之 (KITAGAWA HIROYUKI)
高知大学・教育研究部医療学系・助教
研究者番号：10403883
(H23→H24：連携研究者)

福留 惟行 (FUKUDOME IAN)
高知大学・医学部附属病院・医員
研究者番号：00587545

(H23→H24：連携研究者)

緒方 宏美 (OGATA HIROMI)
高知大学・教育研究部医療学系・助教
研究者番号：30341366
(H23：連携研究者)

藤田 守 (FUJITA MAMORU)
中村学園大学・栄養科学部・教授
研究者番号：60037471
(H24：連携研究者)

(3) 連携研究者

馬場 良子 (BABA RYOUKO)
産業医科大学・医学部・講師
研究者番号：90271436

(H23→H24)

熊谷 奈々 (KUMAGAI NANA)
中村学園大学・栄養科学部・助手
研究者番号：70552983
(H23→H24)