

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 23 日現在

機関番号：34413

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460245

研究課題名(和文) プラチナ系抗癌剤の副作用発現予測と発現機序解明に向けたバイオメタル情報の活用

研究課題名(英文) Usefulness of the analysis of trace metals to predict adverse effects and understand their underlying mechanisms during platinum-based cancer chemotherapy

研究代表者

中村 任 (Nakamura, Tsutomu)

大阪薬科大学・薬学部・教授(移行)

研究者番号：80379411

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：食道癌患者と肺癌患者を対象にシスプラチン投与後のプラチナならびに鉄、銅、亜鉛、マンガン、鉛などの生体内金属(バイオメタル)の血漿中濃度を解析した。輸血や鉄剤投与ならびに食事の有無あるいは採血時間などバイオメタルへの影響因子を除いて解析したところ、血漿中鉄濃度は薬物投与開始後一週間程度をピークに一過性の上昇を認めた。血漿中鉄濃度の上昇には一部ヘモグロビン由来の鉄が関与すると考えられた。亜鉛の濃度も化学療法開始数日後に上昇を示しており、シスプラチン投与時にはバイオメタルが血液レベルで一定の変動することが明らかとなった。プラチナ系抗癌剤の生体への影響を理解する上でバイオメタル解析は有用と考えられた。

研究成果の概要(英文)：The blood concentrations of platinum and trace metals including iron, copper, zinc, manganese and lead were determined in esophageal and lung cancer patients receiving cisplatin-based chemotherapy. The data for the patients who received a blood transfusion and iron tablet intake or had blood drawn while in non-fasting state were excluded from the analysis. The patients exhibited the increase in the plasma iron concentration within a week after the CDDP treatment, followed by a subsequent return to baseline level. This transient elevation may have been partly due to the anemia-associated lowering of hemoglobin value. The plasma zinc concentration was also increased on days 1-3 after the cisplatin treatment. The variation in the blood concentrations of iron and zinc showed a certain trend after the start of cisplatin-based chemotherapy, suggesting the usefulness of the analysis of trace metals in the body to understand the physiological responses to platinum-based cancer chemotherapy.

研究分野：医療薬学

キーワード：プラチナ 癌

1. 研究開始当初の背景

(1) プラチナ系抗癌剤は、消化器や呼吸器系癌に対する治療薬として中心的役割を担っており、癌患者の生存期間の延長に貢献してきた。一方で、同剤による骨髄抑制や神経障害などの用量制限毒性が問題となり、治療完遂に至らないケースが認められる。また、その副作用の種類や頻度ならびに発現期間は患者ごとで異なり、予測は困難を極めることから、副作用の早期発見ならびに予防法の確立が急がれる。

(2) 生体内には必須微量元素(バイオメタル)が存在する。代表的なものには、鉄、銅、亜鉛があるが、それ以外にもマンガンやコバルトなどが挙げられる。プラチナも金属の一種であり、プラチナ系抗癌剤投与時にはバイオメタルの生体内挙動が変化し治療の有効性や安全性に影響することが推察されるが、測定技術や感度の問題からバイオメタル(特に鉄、銅、亜鉛以外の重金属)を対象とする臨床研究は見受けられない。

(3) 海外ではラットにプラチナ系抗癌剤シスプラチンを投与した際に亜鉛や銅の腎臓内組織分布が変動する現象が報告されている。また、国内外では培養細胞や実験動物を用いた検討から、鉄、亜鉛、銅の細胞内取り込みや排出に関与するトランスポーターが数種類同定されている。しかしながら、これらトランスポーターの果たす役割やバイオメタルの変動に及ぼす影響についての臨床研究はほとんど進められていない。

(4) 研究代表者らは、これまでに臨床サンプルを用いてシスプラチンの体内動態解析を行い、同薬の長期血中滞留性の原因ならびに腎毒性や遅発性神経障害に関する研究報告を行ってきた。また、プラチナ測定技術を応用した水溶液中のバイオメタル定量系を確立し、従来より高感度かつ網羅的にバイオメタルを測定できる環境を整備してきた。

2. 研究の目的

(1) プラチナ系抗癌剤を投与された患者におけるプラチナおよびバイオメタルの血中濃度と臨床評価との関連解析を行う。また、バイオメタルの変動が認められる場合にはその要因の解明を行う。

(2) 培養細胞を用いたプラチナとバイオメタルの細胞内蓄積量および薬剤応答性に関する検討を行う。

3. 研究の方法

(1) 書面による同意の得られた患者を対象として、採血を行う。採血は、プラチナ系抗癌剤投与前、投与中、投与終了後(不応・不耐にて該当する治療レジメンを終了となった後)ならびに有害事象発生時に行う。また、

患者背景(年齢、性別、疾患、画像・血液等臨床所見、併存疾患等)や有害事象ならびに治療効果などの臨床評価を行う。

(2) 採取された患者血液サンプルを用いてバイオメタルの網羅的解析を行う。プラチナ系抗癌剤の濃度は、血漿分離後のサンプルを強酸により湿式灰化し、誘導結合プラズマ質量分析計(ICP-MS)を用いてプラチナ濃度として測定する。また、同一サンプルにてバイオメタルの測定を行う。バイオメタルとしては、カルシウム、マグネシウム、鉄、亜鉛、銅、マンガン、セレン、ヒ素、クロム、コバルト、モリブデン、カドミウム、鉛などを対象とする。

(3) 血液中のプラチナおよびバイオメタルの濃度は、患者背景や有害事象ならびに治療効果との関連解析を行う。また、生理的因子や病態的因子との関連解析も行う。

(4) 培養細胞における検討では、常法に従い、細胞培養を行う。培養細胞としては、消化器系癌および呼吸器系癌由来培養細胞を用いる。また、副作用発現部位を勘案しながら神経細胞などの癌由来以外の細胞も使用する。プラチナ系抗癌剤存在下および非存在下において、細胞培養液中ならびに細胞溶解液中のバイオメタル濃度を測定し、検出限界の決定やバリデーションを行うなど定量系を確立する。

4. 研究成果

(1) 市販の標準血清に既知量のプラチナを添加して作製したスパイクサンプルについて ICP-MS を用いたバイオメタルの定量を試みた。76 種類の金属元素について解析を行ったところ、プラチナ添加量の増加に応じて濃度が変動した金属元素は認められなかった。一方、スパイクサンプルに対する灰化処理の影響について検討したところ、灰化処理による金属元素濃度の変動が認められ、増加する金属元素が 11 種類、減少する金属元素が 4 種類存在した。バイオメタルの網羅的解析を実施する上でサンプルの前処理条件によっては個々の金属元素で測定値への影響が異なる可能性があることが示唆された。また、標準血清を用いてバイオメタル測定条件を確立後、プラチナ系抗癌剤を含む癌化学療法施行患者より得られた血液サンプルについてバイオメタル測定系の確立を行った。

(2) 食道癌患者と肺癌患者のシスプラチン投与開始前と開始後の血液サンプルについて解析を行った。食道癌患者は、術前癌化学療法(FP療法:シスプラチン(80 mg/m²)の2時間点滴1日投与と5-FU(800 mg/m²)の5日間持続点滴投与の併用療法)を施行した5症例とし、FP療法1サイクル目開始後から2サイクル目開始前までの間(シスプラチン投与

開始後 32 日目まで)を対象期間とした。肺癌患者は、シスプラチン(75 mg/m²)とペメトレキセド(500 mg/m²)の2時間点滴1日投与を施行した3症例とし、同療法開始後から次サイクル目開始前までの間(シスプラチン投与開始後 28 日目まで)を対象期間とした。

臨床血液サンプルを用いて予備検討したところ、検出可能と考えられたバイオメタルは 33 種類であった。また、化学療法開始後の経過日数に伴うプラチナ濃度の減少に応じて増加や減少する数種類のバイオメタルが存在した。このうち、プラチナに加えて 6 種類のバイオメタル(マンガン、鉄、コバルト、銅、亜鉛、鉛)に着目して血漿中濃度を ICP-MS 法を用いて測定し、解析を行った。食道癌患者では、肺癌患者と比較して、薬物投与前の血漿中鉄濃度が有意に低値を示した(それぞれ、1,719 ± 369 ng/ml および 2,419 ± 118 ng/ml; P=0.011)。また、治療開始前のプラチナ濃度は定量限界以下であり、治療前および治療期間中のコバルト濃度はほとんどの採血点において定量限界を下回った。食道癌患者では、血漿中の鉄濃度は薬物投与開始後一週間程度までに薬物投与開始前の値と比較して最大約 2 倍に上昇し、2 週間までに薬物投与開始前の値まで回復した(図 1)。また、肺癌患者 2 名でも同様の傾向を認めた(図 1)。

(3) 血漿中鉄濃度の変動要因の解明を目的として血液検査値のカルテ調査を行った。生

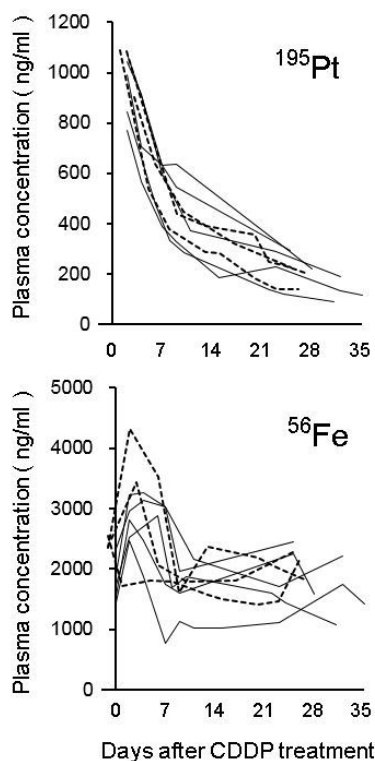


図 1. シスプラチン(CDDP)投与開始後の経過日数に伴うプラチナおよび鉄の血中濃度推移(食道癌患者 5 名、肺癌患者 3 名)

体内に存在する鉄の 60%~70%は赤血球中のヘモグロビンに存在することから、赤血球値とヘモグロビン値を調査したところ、食道癌患者 4 名ではヘモグロビン値は FP 療法開始後に低下していたが、1 名はむしろ上昇する傾向にあった。なお、後者の 1 名では赤血球濃厚液の投与ならびに経口鉄剤の投与が行われていた。血漿鉄の上昇には一部ヘモグロビン由来の鉄が関与していると考えられた。血漿中の鉄濃度は食事の影響や日内変動が影響して交絡因子となることが考えられたことから、対象とした食道癌患者と肺癌患者の血液サンプルについて早朝採血ならびに空腹時に採血されたサンプルに絞り再解析を行った。また、輸血や鉄剤投与が行われていない患者とした。その結果、血漿中鉄濃度の一過性濃度上昇はより顕著に認められた。

(4) 生体内の鉄は、必須鉄としてヘモグロビンやミオグロビン等に存在する以外に、貯蔵鉄としてフェリチンに存在したり、寄与は小さいながら鉄輸送タンパク質のトランスフェリンにも存在する。そこで、血清中のフェリチンやトランスフェリン値の測定を行った。血漿中鉄濃度の上昇に伴って、血清フェリチン値の上昇ならびに血清トランスフ

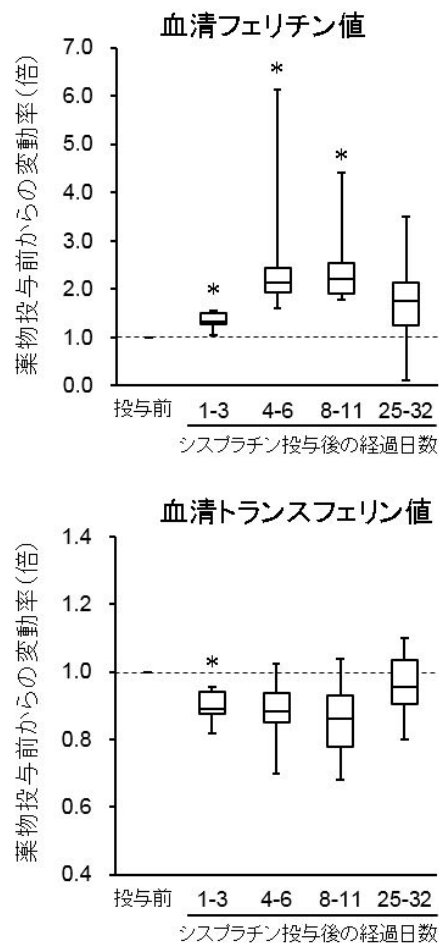


図 2. シスプラチン(CDDP)投与開始後の経過日数に伴う血清フェリチン値および血清トランスフェリン値の推移(食道癌患者 4 名、肺癌患者 2 名)

エリン値の低下を認めた(図2)。血清フェリチン値は血漿鉄濃度の上昇に遅れてピークが認められており、フェリチンは血漿中の鉄濃度上昇に伴って二次的に上昇したものと考えられた。従って、一過性の血漿鉄濃度の上昇はフェリチン由来ではないと推察された。一方で、血清トランスフェリン値は血漿中鉄濃度の上昇時に上昇すると考えられるが、逆に低下傾向を示していた。原因は不明である。血漿中で一過性に上昇する鉄と臨床効果との関連性は不明であるが、鉄上昇の原因を解明することによってプラチナ系抗癌剤の副作用発現や体内動態に対して従来とは異なる新たな知見が見出せるものと考えられる。

(5) 近年、マグネシウムの補給によってシスプラチン投与後の腎障害が軽減されるとの報告が散見される。バイオメタルと合わせて血清マグネシウム値を測定したところ、シスプラチン投与開始後から血清マグネシウム値は低下傾向を示し、観察期間中の値は投与開始前と比較して0.87~0.99倍で推移した。マグネシウム補給によって血清マグネシウム値が維持されることで腎障害が回避されている可能性が考えられるが詳細は不明である。

(6) 血漿中の亜鉛濃度も化学療法開始後数日後に有意な上昇を示しており、プラチナ系抗癌剤には鉄も含めたバイオメタルが血液レベルで一定の変動を示すことが明らかとなった。バイオメタル変動の詳細なメカニズムについては引き続き培養細胞系を用いて解析を進める予定である。サンプルの処理方法によってバイオメタルの測定値が影響を受ける可能性があり、サンプル処理条件の確立を優先して進める予定である。また、臨床での検討症例数が少ないことから、今後さらに症例数を増やして検討を進める必要がある。

本研究を通じて、プラチナ系抗癌剤の生体内挙動を把握する上でバイオメタル解析の有用性が明らかとなったことは大きな成果と考えられる。今後、異なる癌腫や化学療法プロトコールについても解析を進めることで同剤の副作用発現機序解明や予測に繋がっていきたいと考えている。

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 7件)

Tsutomu Nakamura, Minoru Takahashi, Riho Niigata, Kazuhiko Yamashita, Manabu Kume, Midori Hirai, Hiroyuki Yasui. Changes in blood concentrations of trace metals in cancer patients receiving

cisplatin-based chemotherapy. *Biomed Rep.*, 5(6), 737-744 (2016). 査読有.
DOI: 10.3892/br.2016.789.

Tetsuya Minegaki, Akiko Kuwahara, Motohiro Yamamori, Tsutomu Nakamura, Tatsuya Okuno, Ikuya Miki, Hideaki Omatsu, Takao Tamura, Midori Hirai, Takeshi Azuma, Toshiyuki Sakaeda, Kohshi Nishiguchi. Genetic polymorphisms in SLC23A2 as predictive biomarkers of severe acute toxicities after treatment with a definitive 5-fluorouracil/cisplatin-based chemoradiotherapy in Japanese patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Med Sci.*, 11(4), 321-326 (2014). 査読有.

DOI: 10.7150/ijms.7654.

[学会発表](計16件)

Tsutomu Nakamura, Minoru Takahashi, Riho Niigata, Kazuhiko Yamashita, Manabu Kume, Midori Hirai, Hiroyuki Yasui. Changes in blood concentrations of trace metals during the first cycle of CDDP-based chemotherapy, ASCPT 2017 Annual Meeting, 2017年3月16日, Washington D.C. (アメリカ合衆国).

國光葉子、山下和彦、西岡達也、久米学、榎本博雄、中村任、平井みどり：脳神経外科領域CARE療法におけるカルバート式を用いた血液毒性の予測性に関する検討、医療薬学フォーラム2016/第24回クリニカルファーマシーシンポジウム、2016年6月25日、びわ湖ホール(滋賀県・大津市) 他

田中雄大、山下和彦、土居襟子、西岡達也、久米学、榎本博雄、立原素子、小林和幸、中村任、西村善博、平井みどり：経口マグネシウム製剤投与によるシスプラチンの腎障害予防効果の検討、医療薬学フォーラム2016/第24回クリニカルファーマシーシンポジウム、2016年6月25日、びわ湖ホール(滋賀県・大津市) 他

中村任、高橋稔、新潟里歩、久米学、山下和彦、平井みどり、安井裕之、食道癌術前化学療法施行時の血漿中鉄濃度の一過性上昇、日本薬学会第136年会、2016年3月28日、パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市) 他

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 任 (NAKAMURA TSUTOMU)
大阪薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：80379411

(2)研究分担者

高橋 稔 (TAKAHASHI MINORU)

姫路獨協大学・薬学部・助教

研究者番号：80620872

(平成 27 年度より研究分担者)

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()