
原 著 (第4回若手奨励賞受賞論文)

癌化学療法における消化管毒性と血清 Diamine Oxidase (DAO) 活性に関する検討

田村 潮¹⁾, 岡久稔也²⁾, 北村晋志²⁾, 外磯千智¹⁾, 宇高憲吾¹⁾,
小林愛貴美¹⁾, 松本早代¹⁾, 宮本康雄¹⁾, 有田加奈子²⁾, 岸久美子²⁾,
中村文香²⁾, 三好人正²⁾, 田中貴大²⁾, 藤野泰輝²⁾, 井上篤²⁾,
矢野弘美²⁾, 木村哲夫²⁾, 竹内尚²⁾, 仁木美也子²⁾, 岡本耕一²⁾,
木村雅子²⁾, 佐藤康紀²⁾, 岡村誠介²⁾, 中屋豊³⁾, 高山哲治²⁾

¹⁾徳島大学病院卒後臨床研修センター, ²⁾徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部病態予防医学講座消化器内科学分野,

³⁾徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部医療栄養科学講座代謝栄養学分野

(平成22年11月24日受付)

(平成22年12月13日受理)

癌化学療法の消化管毒性の客観的評価と出現予測は困難である。Diamine oxidase (DAO) は、主に小腸粘膜の絨毛上皮細胞に分布する酵素であり、腸管障害によって血中 DAO 活性が低下するため、小腸粘膜の変化を鋭敏に反映する指標として注目されているが、癌化学療法中の消化管毒性出現予測における血中 DAO 活性の有用性は十分に検討されていない。そこでわれわれは、化学療法時の消化管毒性出現予測における血清 DAO 活性の有用性について検討した。初回治療として DCS 療法を施行した進行胃癌患者6例の血清 DAO 活性の推移と消化管毒性との関連性を調べた。消化管毒性 (Grade 2以上) が出現した4例では、消化管症状の出現に先行して持続的な血清 DAO 活性の減少がみられた。化学療法施行時の血清 DAO 活性の推移を検討することにより、消化管毒性の出現を予測し、迅速に対応できる可能性が示唆された。

癌化学療法の有害事象としての消化管毒性は、患者の QOL を低下させ、しばしば化学療法中断の原因となる。このため、癌化学療法中に出現する悪心・嘔吐、口内炎、下痢などの消化管毒性を客観的に評価し、早期に対応することが重要であるが、その客観的評価と出現予測は困難である。

われわれは、進行胃癌に対する標準治療である Tega-

ful gimestat potassium (S-1) と Cisplatin (CDDP) 併用療法の奏効率をあげるために Docetaxel (DTX) を加えた3剤併用化学療法 (DCS 療法) を開発し、Phase I/II study を実施してきた^{1,2)}。この Phase II study の奏効率は87.1%と非常に高く、23%の症例でダウンスタージング後の根治術が可能であった。このように奏効率の高い DCS 療法を行う際には、施行中の有害事象である白血球減少、好中球減少に加え、悪心・嘔吐、下痢、口内炎などの消化管毒性をうまくコントロールすることが重要な課題となっている。

Diamine oxidase (DAO) は、主に小腸粘膜の絨毛上皮細胞に分布し、ジアミン類の脱アミノ化作用を有し、細胞増殖の制御作用および有害なポリアミンやヒスタミンの異化による生体防御作用を担う酵素である^{3,4)}。DAO は1~2日で代謝される酵素であり、小腸組織中の DAO 活性は血中 DAO 活性と正の相関を示すため、血中 DAO 活性は小腸粘膜の健全度、成熟度の指標とされる⁵⁾。血中 DAO 活性は、抗癌剤による小腸粘膜障害によって減少することが報告され、消化管毒性の客観的指標として利用できる可能性が示唆されている^{6,7)}。本研究では、進行胃癌に対する化学療法施行時の消化管毒性出現予測における血清 DAO 活性の有用性について検討した。

対象および方法

本研究は、徳島大学病院臨床研究倫理審査委員会の承認を得て行われた（承認番号683）。当科において Docetaxel (DTX), Cisplatin (CDDP), Tegafur gimestat potassium (S-1) による3剤併用化学療法 (DCS療法) を初回治療として施行した消化管手術歴のない Stage IV の進行胃癌患者のうち、本研究に関して十分に説明し文章による同意の得られた6例を対象とした。年齢は52歳から77歳（平均62歳）、男性3例、女性3例であった。

DCS療法は、S-1 80mg/m²を day 1 から day14の2週間経口投与し、day 8 に DTX 50mg/m²および CDDP 60mg/m²を点滴静注し、day15より7日間休薬する計21日間を1コースとした^{1,2)}(図1)。なお、悪心・嘔吐の予防目的に、DTX および CDDP 投与当日 (day 8) には5-HT₃受容体拮抗薬のアザセトロン30mg、デキサメタゾン9.9mg、投与後2日間 (day 9, 10) はアザセトロン20mg、デキサメタゾン6.6mgの投与を行った。

S-1投与開始直前 (day 1), DTX および CDDP 投与直前 (day 8), DTX および CDDP 投与翌日 (day 9), S-1投与終了後 (day14), 1コース終了直後 (day21)の末梢静脈血中の血清 DAO 活性を、高感度比色法を用いて測定した^{8,9)}(図1, 2)。消化管毒性の判定は Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) v4.0 による評価基準を用いて行い、Grade 2 (中等症; 最小限/局所的/非侵襲的治療を要する; 年齢相応の身の回り以外の日常生活動作の制限のみられる状態) 以上を消化管毒性ありと判定した。

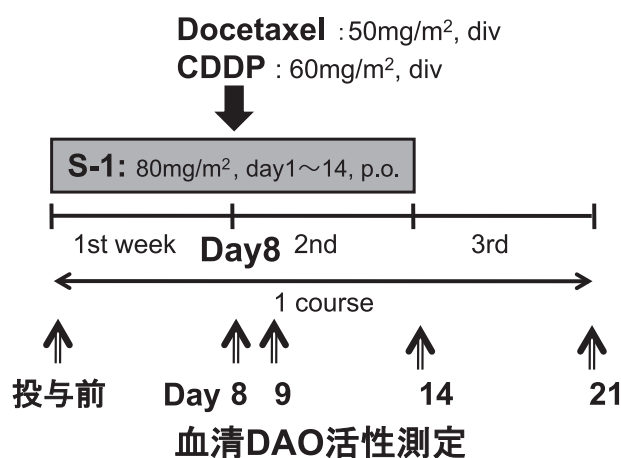


図1. DCS療法の治療プロトコールと血清 DAO 活性の測定時期

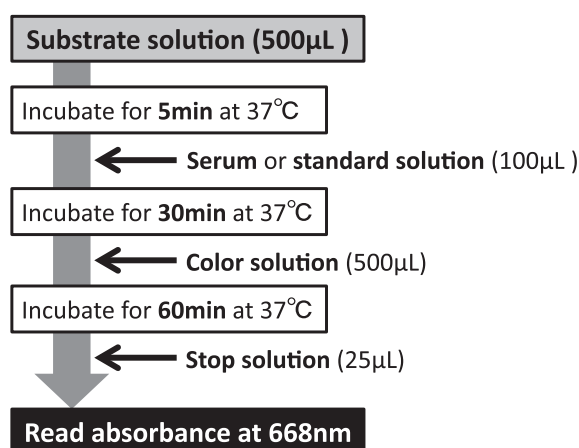


図2. 血清 DAO 活性の測定方法: Substrate solution: 30mM cadaverine in PIPES buffer (pH7.2); Substrate solution: 0.625-20units/L DAO; Color solution: 100µM DA-67, 6 unit/ml peroxidase, 5unit/ml ascorbate oxidase in MES buffer (pH5.4); Stop solution: 30mM diethyldithiocarbamate

消化管毒性の出現頻度と出現時期、全症例の血清 DAO 活性平均値の推移、消化管毒性出現の有無と血清 DAO 活性値の推移との関係を検討した。結果は mean ±SD で表記した。

結 果

消化管毒性は6例中4例(67%)に出現した。その内訳は、下痢と食欲不振1例、食欲不振1例、悪心・嘔吐1例、口内炎1例であり、出現時期はそれぞれ day12, day11, day10, day11であった(表1)。S-1投与開始直前(day 1), DTX および CDDP 投与直前(day 8), DTX および CDDP 投与翌日 (day 9), S-1投与終了後 (day 14), 1コース終了直後 (day21) の血清 DAO 活性平均値は、それぞれ4.9±2.8 U/L, 4.2±1.8 U/L, 3.4±1.7 U/L, 3.4±1.2 U/L, 3.8±0.8 U/Lであった。血清 DAO 活性平均値は、S-1投与開始に伴いS-1投与開始1週間 (day 1 から day 8) で14.3%減少し、DTX および CDDP 投与1日 (day 8 から 9) で19.0%減少した。S-1投与終了後 (day14) から1コース終了直後 (day21) の休薬期間中 (day15から21) に血清 DAO 活性平均値は11.8%増加した。消化管毒性が出現した4例では、全例で消化管症状の出現に先行して、持続的な血清 DAO 活性の減少がみられ、S-1投与開始1週間 (day 1 から day 8) で17.9±15.6%, DTX および CDDP 投与1日 (day 8 から 9) で24.5±8.6%減少した。これに対し、消化管

表1. 消化管毒性の有無とその内訳

症例	年齢	性	病期	消化管毒性 (CTCAE Grade*)				消化管毒性 (総合評価)
				食欲不振	悪心・嘔吐	下痢	口内炎	
1	63	F	IV	1	0	0	1	無
2	77	M	IV	1	0	0	1	無
3	52	M	IV	2	0	2	0	有
4	70	M	IV	1	2	0	1	有
5	76	F	IV	1	1	2	1	有
6	65	F	IV	3	1	0	0	有

*Common Terminology Criteria for Adverse Events v4.0 [CTCAE] (有害事象共通用語規準 v4.0), Grade 1 軽症; 症状がない, または軽度の症状がある; 臨床所見または検査所見のみ; 治療を要さない, Grade 2 中等症; 最小限/局所的/非侵襲的治療を要する; 年齢相応の身の回り以外の日常生活動作の制限, Grade 3 重症または医学的に重大であるが, ただちに生命を脅かすもの, Grade 4 生命を脅かす; 緊急処置を要する, Grade 5 有害事象による死亡

毒性が出現しなかった2例では, S-1投与開始1週間後またはDTXおよびCDDP投与翌日のいずれかで血清DAO活性の増加がみられた。

考 察

進行胃癌に対するDCS療法施行時に, 開始直前(day 1), DTXおよびCDDP投与直前(day 8), その翌日(day 9)の3点の血清DAO活性に持続的な減少がみられた4例でday 9以降に消化管毒性が出現し, 持続的な減少の見られなかった2例では消化管毒性が出現しなかったことより, 血清DAO活性の推移を評価することによって, DCS療法施行中の消化管毒性の出現を予測できる可能性が示唆された。

Tanakaらは, 小児神経芽細胞腫患者へのcycloshosphamide (CPM)を用いた化学療法時にはCPM投与後1日目に血清DAO活性が有意に減少し, その後次第に増加して7日目で前値に回復し, 3~5日目に食欲不振, 軽度の腹部膨満, 下痢などの消化器症状が出現したが, vincristine (VCR)による化学療法時には血清DAO活性は減少せず消化管毒性の出現も見られなかったと報告している。また, 水溶性食物繊維であるグアーガム分解物の予防投与によって, CPM投与翌日の血清DAO活性の減少は消失し, 消化管毒性もみられなかったことより, 血清DAO活性の測定は消化管毒性発生の早期診断に有用と報告している⁹⁾。

今回の検討では, DCS開始直前の血清DAO活性値は4.9±2.8 U/L (2.1~8.7U/L)とばらつきが大きく,

測定値から消化管毒性の出現の有無を予測することは不可能であった。今回の対象症例には問題となるような肝障害を合併した症例は含まれていなかったが, 血液中に放出されたDAOは肝臓で代謝されるため, 肝障害のある症例では血中DAO活性が高値となることが報告されている¹⁰⁾。また, 血中DAO活性は, 年齢によってもその基礎値が影響を受け, 1~3歳でピークとなり, その後次第に低下して思春期以降成人に近い値(4.93±1.82 U/L)となる⁹⁾。血中DAO活性は, 体格差による腸管面積の違い, 年齢, 肝障害や高齢による代謝低下などによっても影響を受ける可能性があり, 単回測定値による判定ではなく, その推移や減少率を評価することによって判定することが必要と考えられる。

癌化学療法時には, 抗癌剤の直接作用によって消化管に粘膜障害がおこり, 口内炎や下痢を生じる。口内炎は, 抗癌剤投与2~10日後に出現する粘膜障害と, 投与10~14日後に出現する口腔内感染がその発症に関与している。また, 下痢は, 抗癌剤投与直後に出現する消化管の副交感神経刺激に伴う蠕動亢進による早期下痢と, その後の腸管粘膜上皮障害によって生じる下痢がある。今回の検討では, 口内炎はday11 (S-1投与開始11日後, DTXおよびCDDP投与3日後)に, 下痢はday12 (S-1投与開始12日後, DTXおよびCDDP投与4日後)に出現した。DCS療法で使用するS-1, DTX, CDDPの中では, S-1, DTXが口内炎を, S-1, CDDPが下痢を起こしやすい。DCS療法開始直前, day 8, day 9の3点で血清DAO活性を測定し, 持続的な減少が見られた場合に, 口内炎や下痢の発生が起こる可能性が高いことを予測したうえで, 患者や家族に説明し, より積極的な口腔内の衛生管理, 食事内容の制限(固い食物や熱い食事の制限)による口腔粘膜の物理的粘膜損傷の回避, 整腸剤・止痢剤の投与, 水溶性食物繊維の摂取などを行うことによって, QOLを損なうことなく治療が継続できる可能性が考えられる。

癌化学療法時の悪心・嘔吐は, 延髄の嘔吐中枢(vomiting center: VC)が刺激されて生じる。その刺激経路として, ①延髄に存在する化学受容体引き金帯(chemoreceptor trigger zone: CTZ)に存在するセロトニン, アセチルコリン, サブスタンスPなどの受容体を抗癌剤が刺激するもの, ②消化管(回腸)から遊離したセロトニンが上部消化管壁に存在する5-HT₃受容体と結合し, 自律神経を介してVCを刺激するもの, ③大脳皮質を介するものの3つに分類される。抗癌剤の投与開始24時間以内

に出現する急性悪心・嘔吐は①, ②の機序が関与し, また, 過去の化学療法時に経験した悪心・嘔吐に対する心因性反応として抗癌剤の投与前から出現する予測性悪心・嘔吐は③の機序が関与すると考えられている。これに対して, 抗癌剤の投与24時間以降に出現する遅延性悪心・嘔吐は, その原因が十分に解明されていない。DCS療法では, CDDPが悪心・嘔吐の高危険群(嘔吐発現率90%以上), S-1, DTXが低危険群(嘔吐発現率10%未満)に属する薬剤である。今回は, 初回治療時の検討であり, DTXおよびCDDP投与(day 8)に際し5-HT₃受容体拮抗薬とデキサメタゾンをday 8~10の3日間投与し, 持続的に血清DAO活性の低下した症例4例中1例でday 11に遅延性悪心・嘔吐が出現した。遅延性悪心・嘔吐に対する粘膜障害の関与は明らかとなっていないが, 持続的に血清DAO活性の低下のみられる症例に対して, 5-HT₃受容体拮抗薬とデキサメタゾンをより長期間投与することによって, 効率よく遅延性悪心・嘔吐の予防できる可能性もあり, 今後の検討が必要である。

血清DAO活性は, 小腸組織中のDAO活性と正の相関を示すため, 小腸切除術後の残存小腸量の評価や小腸障害をきたすクローン病や虚血性腸炎の腸管障害の定量評価に有効とされている⁵⁾。また, 抗癌剤による小腸粘膜障害度と相関することが報告され, 消化管毒性の客観的指標として利用できる可能性が示唆されている^{6,7)}。今回の検討では, 初回DCS療法施行時の血清DAO活性の推移を評価することによって消化管毒性の出現を予測できる可能性が考えられた。1コース終了時の血清DAO活性平均値は, 開始直前の4.9U/Lから3.8U/Lへ減少しており, 2コース目以降にはより消化管毒性が出現しやすくなる可能性も考えられる。今後, 症例数を増やしてDCS療法における血清DAO活性推移の評価の有用性を確かめるとともに, 2コース目以降の消化管毒性出現予測における血清DAO活性の有用性, 年齢, 肝障害などの病態を考慮した血清DAO活性の評価法, さらに, 他の化学療法レジメンに対する血清DAO活性の評価法についても検討が必要と考えられる。

現在, 癌化学療法における予後予測, 治療効果予測, 有害事象予測に関するバイオマーカーの検討が進められている。臨床的に使用できるバイオマーカーには, 十分な感度, 特異度, 非侵襲的で簡便に測定できること, 安価であることなどの条件が必要である。血清DAO活性は高感度比色法によって少量の血清検体を用いて比較的簡便かつ迅速に測定することができ, HPLC法に比べて

操作が簡単かつ高感度である^{8,9)}。簡便かつ迅速に測定できる血清DAO活性値を消化管毒性のバイオマーカーとしてその推移を評価し, 消化管毒性が出現する可能性が高い血清DAO活性値の持続的減少を認める症例では, 衛生管理, 止痢剤や制吐剤などの薬剤投与および栄養療法を積極的に行うことによって, より安全かつ安定した治療が可能になると考えられる。

結 論

血清DAO活性の推移を検討することにより, 癌化学療法施行時の消化管毒性の出現を予測できる可能性が示唆された。

文 献

- 1) Sato, Y., Takayama, T., Sagawa, T., Takahashi, Y., *et al.*: Phase II study of S-1, docetaxel and cisplatin combination chemotherapy in patients with unresectable metastatic gastric cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 66 : 721-728, 2010
- 2) Takayama, T., Sato, Y., Sagawa, T., Okamoto, T., *et al.*: Phase I study of S-1, docetaxel and cisplatin combination chemotherapy in patients with unresectable metastatic gastric cancer. *Br. J. Cancer*, 8 ; 97 : 851-856, 2007
- 3) Wolvekamp, M. C., de Bruin, R. W. : Diamine oxidase : an overview of historical, biochemical and functional aspects. *Dig. Dis.*, 12 : 2-14, 1994
- 4) Mennigen, R., Bieganski, T., Elbers, A., Kusche, J. : The histamine-diamine oxidase system and mucosal proliferation under the influence of aminoguanidine and seventy percent resection of the rat small intestine. *Agents. Actions.*, 27 : 221-223, 1989
- 5) Luk, G. D., Bayless, T. M., Baylin, S. B. : Plasma postheparin diamine oxidase. Sensitive provocative test for quantitating length of acute intestinal mucosal injury in the rat. *J. Clin. Invest.*, 71 : 1308-1315, 1983
- 6) Moriyama, K., Kouchi, Y., Morinaga, H., Irimura, K., *et al.*: Diamine oxidase, a plasma biomarker in rats to GI tract toxicity of oral fluorouracil anti-cancer drugs. *Toxicology*, 16 ; 217 : 233-239, 2006
- 7) Luk, G. D., Vaughan, W. P., Burke, P. J., Baylin, S. B. :

- Diamine oxidase as a plasma marker of rat intestinal mucosal injury and regeneration after administration of 1-beta-D-arabinofuranosylcytosine. *Cancer Res.*, 41 : 2334-2337, 1981
- 8) Takagi, K., Nakao, M., Ogura, Y., Nabeshima, T., *et al.* : Sensitive colorimetric assay of serum diamine oxidase. *Clin. Chim. Acta.*, 226 : 67-75, 1994
- 9) Tanaka, Y., Mizote, H., Asakawa, T., Kobayashi, H., *et al.* : Clinical significance of plasma diamine oxidase activity in pediatric patients : influence of nutritional therapy and chemotherapy. *Kurume Med. J.*, 50 : 131-137, 2003
- 10) D'Agostino, L., Ciacci, C., Capuano, G., Daniele, B., *et al.* : Metabolic fate of plasma diamine oxidase : evidence of isolated and perfused rat liver uptake. *Digestion*, 34 : 243-250, 1986

Gastrointestinal toxicity and serum diamine oxidase (DAO) activity during chemotherapy

Ushio Tamura¹⁾, Toshiya Okahisa²⁾, Shinji Kitamura²⁾, Chisato Tonoiso¹⁾, Kengo Udaka¹⁾, Akimi Kobayashi¹⁾, Sayo Matsumoto¹⁾, Yasuo Miyamoto¹⁾, Kanako Arita²⁾, Kumiko Kishi²⁾, Fumika Nakamura²⁾, Jinsei Miyoshi²⁾, Takahiro Tanaka²⁾, Yasuteru Fujino²⁾, Atsushi Inoue²⁾, Hiromi Yano²⁾, Tetsuo Kimura²⁾, Hisashi Takeuchi²⁾, Miyako Niki²⁾, Koichi Okamoto²⁾, Masako Kimura²⁾, Yasunori Sato²⁾, Seisuke Okamura²⁾, Yutaka Nakaya³⁾, and Tetsuji Takayama²⁾

¹⁾Post-graduate Education Center, Tokushima University Hospital, ²⁾Department of Gastroenterology and Oncology, and ³⁾Nutrition and Metabolism, Institute of Health Biosciences, the University of Tokushima Graduate School, Tokushima, Japan

SUMMARY

There are so many patients with advanced gastric cancer who undergo systemic chemotherapy worldwide. The quality of life (QOL) of patients with gastric cancer who receive chemotherapy is often lowered by various gastrointestinal toxicities during the chemotherapy. Nutrition is also impaired by gastrointestinal toxicities. However, it is difficult to predict their occurrence in advance and further there is no good serum marker for nutrition in the patients treated with chemotherapy. Thus, it is important to objectively evaluate and predict the toxicity of the digestive tract during cancer chemotherapy. Diamine Oxidase (DAO) is an enzyme that is expressed in intestinal epithelial cells. Recently it has been reported that DAO activity may reflect damage or atrophy of the intestinal villi, and therefore it may be a sensitive serum marker for nutritional state. In this study, we measured serum DAO activity of patients with gastric cancer treated with systemic chemotherapy, and investigated the correlation between DAO activity and gastrointestinal toxicities. Six patients with gastric cancer, who were treated by docetaxel+cisplatin+S-1 combination chemotherapy, were enrolled. DAO activity was measured by sensitive colorimetric assay. DAO activities diminished after treatment in 4 patients with moderate to severe gastrointestinal toxicities. In contrast, they did not change in 2 patients with no gastrointestinal toxicities. Our results may suggest that DAO activity is a good serum marker for the gastrointestinal toxicities as well as nutrition state in patients who receive systemic chemotherapy. More large scale study is needed to warrant.

Key words : gastrointestinal toxicity, gastric cancer chemotherapy, diamine oxidase