

研究論文

CRC 患者における化学療法によって引き起こされる副作用を緩和する キャッツクロー (*Uncaria tomentosa*) : 臨床試験

I. L. G. Farias,(1, 2) M. C. S. Araújo,(1, 2) J. G. Farias,(3) L. V. Rossato,(3)
L. I. Elsenbach,(4) S. L. Dalmora,(4) N. M. P. Flores,(2) M. Durigon,(5) I. B. M. Cruz,(5)
V. M. Morsch,(1) and M. R. C. Schetinger(1)

(1) Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900 Santa Maria, RS, Brazil
(2) Hospital Universitário de Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900 Santa Maria, RS, Brazil
(3) Departamento de Biologia, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900 Santa Maria, RS, Brazil
(4) Departamento de Farmácia Industrial, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900 Santa Maria, RS, Brazil
(5) Departamento de Morfologia, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900 Santa Maria, RS, Brazil

Correspondence should be addressed to M. R. C. Schetinger, mariachitolina@gmail.com

Received 26 March 2011; Revised 18 June 2011; Accepted 23 June 2011

Academic Editor: Angelo Antonio Izzo

Copyright © 2012 I. L. G. Farias et al. これはクリエイティブ・コモンズ・ライセンスの表示に基づくオープンアクセス論文で、原著への適切な引用があれば、あらゆる媒体での無制限の使用、配布、再利用を許可されている。

大腸癌 (CRC) 患者への化学療法の副作用を最小にし、酸化状態を促進するという、キャッツクローの効果を評価するため、無作為臨床試験が行われた。5-Fluorouracil/ロイコボリン+オキサリプラチン (FOLFOX4) によるアジュバント (補助的) / 緩和化学療法を受けている患者ら (43 名) は、2つのグループに分けられた: UT グループは化学療法に加えて毎日 300mg のキャッツクローを投与され、また対照とされる C グループは FOLFOX4 だけ投与された。それぞれの血液サンプルは、6 サイクルにわたる化学療法の各サイクル前に集められ、血液像、酸化性ストレス、酸化酵素、免疫学的なパラメータ、有害事象が分析された。FOLFOX4 による治療 6 サイクルの間、毎日 300mg のキャッツクローを服用したところ、分析されたパラメータに変化はみられず、また毒性作用も観察されなかった。

1. イントロダクション

大腸がんの組織学的診断の後行われる進行期癌の治療には、アジュバント療法または対症療法的な化学療法が含まれる。一般的な治療案の一つは、5-フルオロウラシル (5FU) /ロイコボリンおよびオキサリプラチン (FOLFOX4) の使用である [1]。しかしこの処方、患者の 41.1% に重度の好中球減少症 (the National Cancer Institute の共通毒性基準におけるグレード 3 または 4) という副作用を含んでいる [1]。化学療法の細胞毒性効果に加え、高濃度の H₂O₂ レベルが骨髓系前駆細胞の増殖および分化に否定的な影響を与えるかもしれないという理由から、好中球減少症の原因が酸化ストレスと関連

している可能性がある [2]。酸化ストレスと大腸がんとの間には十分に裏付けされた関係性がある。腫瘍代謝の適応がハイレベルの活性酸素 (ROS) を生成することから、酸化ストレスが DNA 損傷 [3] と新生細胞の増殖の両方をもたらすかもしれない。[4]。加えて、化学療法癌治療は酸化ストレスレベル [5] を上昇させ、活性酸素 (ROS) レベルを高くする結果を招き、細胞膜の脂質、細胞タンパク質、DNA の損傷をもたらす [2]。

患者の免疫状態、特に CD8⁺、および CD4⁺T 細胞 (Tregs) のレベルは、生存率との相関を示している。腫瘍浸潤性リンパ球の CD4⁺/CD8⁺ 比は、大腸がんの予後と有意に関連している [6]。5FU による治療は、腫瘍特異性の CD8⁺T 細胞が腫瘍に浸潤して、生体内で T 細胞依存性の

抗腫瘍反応を促進するという作用を介することで、IFN- γ の産生を増加させるものである。[7]。さらに免疫反応と酸化性ストレスの間には相互作用がある。悪性疾患の環境の中で活性化した顆粒(白血)球およびマクロファージによって生み出される活性酸素(ROS)の発現は、T細胞およびNK細胞の機能不全を引き起こす[8]。ハイレベルのスーパーオキシドディスムターゼ(SOD—活性酸素を分解する酵素)は、腫瘍細胞の耐性および治療への非感受性の一因となり、予後不良と関連している[9]。

これらの理由のために、植物療法的な植物を含め、結腸がんの化学療法に関連する好中球減少を最小におさえる相補的治療を捜すことが重要である。Uncaria tomentosa(Ut、キャッツクロー)は抗酸化物質としての特性を持ち[10]、DNA修復[11]と骨髄造血[12]を刺激することができる。Eberlinら[12]は、血清のコロニー刺激因子(CSF)増加を通して、Utの抽出物が骨髄系前駆細胞の激増を促進することを示した。他の前臨床実験は、8週間にわたる健康な動物[13]の、そしてその後10日のドキシソルビシンによって誘発された好中球減少[14]から、水溶性Ut抽出物の白血球数に対する陽性の効果を示した。これらの特性を考えると、Utは化学療法の望ましくない影響を最小限に抑え、癌患者のストレスと抗酸化物質のバランスを向上させる可能性がある。この臨床研究は、大腸がんに対するUtを併用したアジュバント治療の効果を、従来の化学療法と比較評価しようとしている。この調査では、Utの酸化性ストレスにおける効果と、好中球減少と他の血液学的なパラメータ、免疫系、安全性と副作用に関する結果を評価した。

2. 方法

2.1 デザインと患者

我々は、化学療法を受けている大腸がん患者に対して無作為の介入研究を行った。

この研究は、組織学的にステージIIB、IIIまたはIVとされる大腸直腸がんの完全切除を受けた43人の患者ら(26人の女性、17人の男性)に対して行われたが、彼らはサンタマリア大学病院(ブラジル)でFOLFOX4によるアジュバント/対症的化学療法を開始するところだった。患者は治療開始の日付により、無作為に以下2つのグループに分類された：一つめは研究に参加することに同意したUTグループで、ふたつめはCグループで、研究

の最後まで継続された。UTグループはFOLFOX4とUtを、そして、対照群の(C)はFOLFOX4だけの治療を受けた。研究は、各15日からなる6サイクルにわたる患者らへの化学療法を継続しておこなわれた。UTグループが服用した薬は以下の通り：オキサリプラチン、1日目85mg/m²; 5FU、1日目と2日目1g/m²; ロイコボリン、1日目と2日目200mg/m²; Ut(Unha de Gato Herbarium)、3日目から15日目までの毎日3錠。Utの服用は、前回の試験同様水性抽出物C-MED-100を250–350mg用い[11]、この間の食物摂取パターンの変化はなかった。無作為臨床試験のために必要とされるサンプルサイズを推定するための計算は、グリーンバーグほか[15]によるもので、Shengら[13]の研究を参考として使い、5%の一定の有意水準(α)と、90%(β 10%)の統計的検出力を満たすものである。

The Human Ethics Committee of the Universidade Federal de Santa Mariaはこの研究を承認し、すべての参加者からインフォームド・コンセントが得られている(プロトコル n.0169.0.243.000-07)。

2.2 材料

Unha de Gato Herbariumの錠剤は、一錠に100mgの乾燥Ut抽出物を含有している。錠剤に使われる生物学的材料は、その自然生息地での植物に由来している。Utの抽出は、粉碎した樹皮(Centroflora)から、ultra-turrax extraction(Biotron, Kinematica AG)により、70%のエタノール(Dipalcool)を使って用意された。HPLC(高速液体クロマトグラフィー)によるUt抽出物の分析は、2.57%の五環系オキシインドールアルカロイド(POAs)の含有を示しており、それはミトラフィリンの検量線を参照して計算された。抽出物の分析は、サンプル中の四環系オキシインドールアルカロイド(TOAs)の欠如を示しており、米国薬局方に従う治療および研究目的の使用を認められている。

2.3 サンプル収集

血液は、化学療法の前と各6サイクルの後、抗凝固性バキュテナーチューブは用いず、クエン酸、EDTA(エチレンジアミン四酢酸)、ヘパリンで集められた。CAT/SOD活性は、1:20の食塩水で薄めた全血液を使って決定された。

2.4 生化学的パラメータ

血液中の化学構成要素の定量分析のためにはCOBAS INTEGRAシステムが使われ、データはCOBAS INTEGRA

400 plus 装置 (USA) を使用して取得した。

2.5 血清タンパク質のカルボニル化

血清タンパク質のカルボニル化は、レヴァイン [16] の修正方法を通して決定された。

2.6 脂質過酸化の決定

脂質過酸化は、Jentzsch ら [17] の修正方法により、プラズマ・サンプルの TBARS (チオバルビツール酸反応性物質) を測ることで推定された。

2.7 カタラーゼ (CAT) と過酸化物質スモターゼ (SOD) 活性

CAT 活性レベルの決定は、Nelson と Kiesow [18] の修正方法に従って行われた。SOD 活性は、McCord and Fridovich [19] の解説する、過酸化物質とアドレナリンの反応を妨げる能力に基づき計算された。

2.8 血液像

血液サンプルは、Pentra 装置 (フランス) を使って分析された。最低値はメイグムザ染色のスライドと光学顕微鏡検査を使用した観察から確認した。

2.9 インターロイキン 6 (IL-6)

IL-6 の酵素免疫測定法 (ELISA) は、室温で 96 穴マイクロタイター・プレート (Nunc-Immuno Plate Maxi Sorp) を使った、以前発表された方法 [20] で行われ、490nm の光学濃度 (O. D.) はマイクロプレートリーダー (Thermo Scientific Multiskan FC, Vantaa, Finland) を利用して測定された。

2.10 単細胞ゲル電気泳動 (コメットアッセイ)

Singh ほか [21] により解説されるように、アルカリのコメットアッセイが行われた。100 の細胞 (複製された 2 つの、根拠に基づいた補完代替医療による 50 細胞のスライド) が選ばれ、分析された。スライドは、ブラインド状況下で、少なくとも 2 人の異なる個人によって分析された。

2.11 CD3+, CD4+, CD8+ 細胞

サンプルは EDTA で集められ、分析は 3 カラーのセルソーター (FACScalibur, Becton Dickinson Biosciences, USA) とマルチセット ソフトウェア (Becton Dickinson) を使用して解析された。フルオレセインで蛍光標識された CD4 抗体、PE で蛍光標識された CD8 抗体と PerCp

で蛍光標識された CD3 抗体が使われ、免疫サブ集団は、CD3+ 細胞総数のパーセンテージで測られた。

2.12 有害事象

the National Institutes of Health/National Cancer Institute-EUA [22] による有害事象 (AE) 共通用語規準 Adverse Events) v3.0 (CTCAE) が使われた。等級は、AE の重症度を示す。CTCAE v3.0 は、1 から 5 まで等級を使用しているが、以下に示すような、一般的ガイドラインに基づく AE ごとの特徴的な重症度の臨床説明からなる: グレード 1 軽い AE、グレード 2 中程度の AE、グレード 3 重度の AE、グレード 4 生命を脅かす、または機能障害性の AE、グレード 5 死に至る AE。有害事象は、医薬品を使用する各化学療法サイクルにおける臨床症状の聞き取りで審査された。血清臨床化学、全血分析、白血球数の差は、the Department of Oncology の医師により、有効性と毒性をモニターするのに用いられた。

2.13 統計

データは、CDC - Epi Info コンピュータープログラムバージョン 3.5.1 (USA) を使用して分析された。データは分散分析 (ANOVA) と t 検定を使用して評価され、平均土標準偏差として表された。その相違が同質でなかったり、分散分析が適切でなかった時 (パートレット検定で P 値 < 0.05) には、ウィルコクソン二標本検定がデータ評価するに用いられた。P < 0.05 は、統計的に有意であると考えられる。

3. 結果

この研究における大腸がん患者の一般的な特徴は、表 1 の通り。C グループの平均年齢は 60.89 歳で、UT グループの平均年齢は 62.68 才。

研究の目的の 1 つは、好中球減少、血小板減少、貧血の評価であった。血液像は各 15 日ごとに分析されたが、調べられたどのサイクルにおいても、血液学的なパラメータ (表 2 と 3) に関して、グループ間における有意差はなかった。白血球 (WBC) 数の重大な縮小が、両グループで治療にともない観察された。白血球とは異なり赤血球 (RBC) の観察では、その時点のベースラインでの低色素および小赤血球症の回復を示した。赤血球恒数 (平均赤血球ヘモグロビン量 -MCH; 平均赤血球容積 -MCV) は、両方のグループで改善され通常の値になった。

ROS (活性酸素) の生成は、さまざまな生体分子に損傷

を与えるかもしれない。脂質、タンパク質または DNA への酸化損傷は、TBARS レベル、タンパク質カルボニル濃度とコメットアッセイによってそれぞれ評価された。抗酸化防御システムは、抗酸化酵素カタラーゼと SOD (スーパーオキシドディスムターゼ) の活性で測定された。Ut サプリメントが、酸化ストレス値または抗酸化酵素の活性を変化させることはなかった。同様に、コメットアッセイ (個々の真核生物細胞レベルでの DNA 損傷を調べる高感度の技術) では、グループによる違いを示さなかった (表 4)。

CRC 患者の免疫状態評価に使われる CD4+T 細胞と CD8+T 細胞 (絶対数と比率) は、Ut のサプリメント服用 (表 5) や化学療法 (処置が始まる前と第 6FOLFOX4 サイクル後) で、統計学的に差異がなかった。UT グループと C グループでは、化学療法が行われる前に IL-6 レベルの違いを示していたが、その違いは治療を終えた後でも変わらなかった。さらに、コメットアッセイでは、IL-6 レベルは被験者間で大きな差異を示した。

治療に関連する有害事象 (AE) の評価は、化学療法の各サイクルの間の患者と面談、検査の分析、患者によって提示される異常な徴候の観察を通して実行された。AE は、the Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0 (CTCAE v3.0) [22] により分類された。グループによる違いがなかったため、Ut のサプリメントが、化学療法に関連した AE の発生や、引き起こされた AE に変化を与えなかったことをこのデータは示している。両方のグループで最もしばしば観察された AE は、疲労、吐き気と血液学的なパラメータの減少だった (表 6 と 7)。好中球 (等級 3 または 4) の重大な縮小が、患者の 25.4% で生じていた。Ut の毒性も、肝臓、腎臓、代謝的、構造的なパラメータを使って評価された。Ut による治療は、肝臓酵素 (アラニン・アミノトランスフェラーゼ -ALT、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ -AST、 γ グルタミル・ペプチド 転移酵素 -GGT) の上昇で定義される評価による肝機能と、ビリルビンレベルに変化を与えなかった。腎機能は尿素の適用、代謝パラメータ (アルブミン濃度と血糖症)、そして、構造的なパラメータ (体重減少) (データ表示なし) によって評価されている。クレアチニン濃度の小さな違いが治療前にグループ間で見られ (UT = 74.25 μ mol/L, C = 68.95 μ mol/L)、それは第 6 サイクルの治療の時点でも残った。((UT = 76.90 μ mol/L, C = 60.12 μ mol/L)

表 1: アジュバント / 対症的化学療法 (FOLFOX4) の CRC 患者において、*Uncaria tomentosa* を投与しない C グループと、300mg/ 日の *Uncaria tomentosa* を投与した UT グループの一般データ。

<i>Parameters</i>		<i>C group</i> <i>n = 23</i>	<i>UT group</i> <i>n = 20</i>
^a States T	T1	0	1
	T2	1	1
	T3	16	12
	T4	6	6
^a States N	N0	1	2
	N1	8	8
	N2	11	10
^a States M	M0	13	17
	M1	10	3
Age	<50	4	2
	51-65	10	12
	66-80	9	6
Gender	Female	16	10
	Male	7	10
Smoke	Smokers	2	0
	ex-smokers	8	10
	no smokers	13	10
Associated chronic diseases	Without	5	4
	Hypertension	6	6
	Hypertension + coronary diseases/dyslipidemia/diabetes	3	7
	Diabetes	2	2
	Others	4	1

一般的な病気の段階は、the American Joint Committee on Cancer (AJCC) and American Cancer Society (ACS) によって出版された TNM に記述されている。

表 2：6 サイクルのアジュバント / 対症的化学療法の間、Uncaria tomentosa 投与なし (C グループ) と、300mg/ 日の Uncaria tomentosa 投与の (UT グループ) CRC 患者の、ヘモグロビンと赤血球恒数の評価。

Parameters	Group	Chemotherapy cycle						
		0	1	2	3	4	5	6
Hb g/L	UT	123.5 (14.9)	125.2 (17.9)	127.2 (17.0)	123.5 (14.2)	125.3 (13.9)	121.4 (11.1)	118.6 (10.4)
	C	113.7 (17.6)	115.1 (13.8)	113.3 (15.7)	113.9 (17.2)	114.9 (14.2)	117.0 (12.5)	113.7 (14.2)
MCH pg	UT	27.53 (1.99)	27.88 (1.69)	28.37 (1.97)	28.95 (2.20)	29.66 (2.31)	29.69 (1.92)	30.60* (2.16)
	C	26.62 (2.61)	27.02 (2.63)	27.37 (2.59)	27.70 (2.67)	27.93 (2.63)	28.80 (2.60)	29.19* (2.44)
MCV fL	UT	84.62 (4.31)	85.31 (3.91)	86.03 (3.65)	87.57 (5.36)	89.13 (5.59)	90.00 (4.90)	91.50** (4.84)
	C	81.94 (6.8)	82.53 (6.58)	83.74 (6.4)	85.28 (6.34)	86.27 (6.02)	88.29 (5.92)	89.22** (5.51)

値は平均 (標準偏差) で表示。UT グループの患者：FOLFOX4 に加えて Uncaria tomentosa 300mg/ 日 (n = 20) による治療が施された。C グループの患者：FOLFOX4 (n = 23) による治療が施された。*P < 0.05; **P < 0.001; ***P < 0.0001 in relation to the day 0.

表 3：Uncaria tomentosa 投与なしの C グループと、300mg/ 日の Uncaria tomentosa 投与の UT グループにおける、アジュバント / 対症的化学療法の CRC 患者の白血球数と血小板の評価。

Parameters	Groups	Chemotherapy cycles						
		0	1	2	3	4	5	6
WBC cells ×10 ⁹ /L	UT	8.178 (2.705)	5.689* (1.919)	5.184** (2.051)	4.778** (2.022)	4.956** (2.006)	4.660** (2.095)	4.442** (2.433)
	C	7.668 (2.892)	5.933* (2.137)	5.391* (2.451)	4.886* (2.039)	4.473*** (2.086)	4.962** (2.157)	4.195*** (1.558)
Neutrophils cells ×10 ⁹ /L	UT	5.345 (2.691)	3.069* (1.455)	2.600** (1.411)	2.441** (1.401)	2.429** (1.456)	2.227** (1.506)	2.343*** (1.842)
	C	4.871 (2.674)	3.285* (1.618)	2.848** (1.858)	2.295*** (2.295)	2.190*** (1.628)	2.514* (1.797)	1.975*** (1.186)
Lymphocytes cells ×10 ⁹ /L	UT	2.038 (.735)	1.888 (.681)	1.859 (.656)	1.673 (.642)	1.776 (.661)	1.728 (.754)	1.433* (.504)
	C	1.901 (.702)	1.888 (.737)	1.815 (.717)	1.769 (.827)	1.650 (.648)	1.697 (.531)	1.578 (.659)
Monocytes cells ×10 ⁹ /L	UT	.538 (.215)	.515 (.157)	.528 (.197)	.482 (.216)	.546 (.244)	.547 (.241)	.542 (.306)
	C	.542 (.245)	.533 (.254)	.570 (.254)	.602 (.272)	.470 (.197)	.595 (.262)	.498 (.231)
Platelets count ×10 ⁹ /L	UT	263 (92)	188* (43)	174* (55)	146*** (48)	135*** (51)	117*** (42)	117*** (33)
	C	286 (76)	216* (68)	197** (64)	161*** (70)	149*** (66)	165*** (57)	141*** (58)

値は平均 (標準偏差) で表示。Hb：ヘモグロビン MCH：平均赤血球ヘモグロビン量 MCV：血球体積 UT グループの患者：FOLFOX4 に加えて Uncaria tomentosa 300mg/ 日 (n = 20) による治療が施された。C グループの患者：FOLFOX4 (n = 23) による治療が施された。*P < 0.05; **P < 0.001; ***P < 0.0001 in relation to the day 0.

表4：Uncaria tomentosa 投与なしのCグループと、300mg/日のUncaria tomentosa 投与のUTグループにおける、アジュバント/対症的化学療法のCRC患者の、脂質過酸化、血清タンパク質のカルボニル化、DNAの損傷と抗酸化防御の評価。

Parameters	Group	Chemotherapy cycles						
		0	1	2	3	4	5	6
TBARS nmol	UT	16.7	16.2	18.3	17.9	17.7	17.8	21.6
MDA/mL		(9.34)	(7.1)	(7.2)	(6.9)	(4.1)	(3.4)	(11.8)
	C	22.5	18.8	17.8	19.4	21.2	22.4	22.9
		(11.6)	(10.9)	(11.3)	(10.5)	(8.9)	(9.7)	(10.5)
Protein carbonyl nmol/mg protein	UT	0.63	0.56	0.61	0.61	0.68	0.67	0.6
		(0.2)	(0.2)	(0.17)	(0.18)	(0.26)	(0.2)	(0.2)
	C	0.79	0.77	0.73	0.72	0.78	0.9	0.84
		(0.37)	(0.4)	(0.39)	(0.36)	(0.37)	(0.43)	(0.37)
Comet assay Index damage	UT	29.04						26.78
		(34.18)						(31.99)
	C	26.94						34.66
		(49.3)						(46.63)
Catalase pmol/mg protein	UT	7.85	8.2	7.65	9.12	8.97	9.33	10.39
		(3.3)	(3.0)	(2.81)	(4.75)	(4.71)	(3.27)	(4.08)
	C	9.05	8.29	8.51	8.06	9.07	8.31	9.38
		(4.9)	(2.7)	(4.05)	(3.51)	(3.71)	(3.07)	(3.78)
SOD U/mg protein	UT	1.82	1.85	1.95	2.19	1.95	2.29*	2.41*
		(0.5)	(0.44)	(0.44)	(0.43)	(0.43)	(0.44)	(0.56)
	C	1.91	1.91	2.1	2.15	2.09	2.12	2.13
		(0.8)	(0.76)	(0.71)	(0.78)	(0.7)	(0.81)	(0.72)

データは平均(標準偏差)で表示。TBARS、チオバルビツール酸反応性物質 ;SOD、過酸化物質スムターゼ ;UTグループの患者：FOLFOX4に加えてUncaria tomentosa 300mg/日 (n = 20) による治療が施された。Cグループの患者：FOLFOX4 (n = 23) による治療が施された。*P < 0.05 in relation to the day 0.

表5：Uncaria tomentosa 投与なしのCグループと、300mg/日のUncaria tomentosa 投与のUTグループにおける、アジュバント/対症的化学療法 (FOLFOX4) 治療前と6サイクルの治療後のCRC患者の免疫状態。

Parameters	Group	Chemotherapy cycles	
		0	6
CD4 ⁺ T Cells Cells/ μ L	UT	958.36 (414.6)	720.28 (271.72)
	C	828.45 (431.25)	848.38 (430.56)
CD8 ⁺ T cells Cells/ μ L	UT	494.0 (231.28)	390.64 (223.62)
	C	490.29 (271.14)	394.27 (149.96)
CD4 ⁺ T/CD8 ⁺ T Ratio	UT	2.17 (0.76)	2.21 (0.78)
	C	1.96 (1.03)	2.30 (1.08)
IL6 ng/mL	UT	4.07 [#] (6.54)	5.1 [#] (6.12)
	C	12.97 (13.28)	16.66 (18.2)

データは平均(標準偏差)で表示。UTグループの患者：FOLFOX4に加えてUncaria tomentosa 300mg/日 (n = 20) による治療が施された。Cグループの患者：FOLFOX4 (n = 23) による治療が施された。#P < 0.05 between groups.

4. ディスカッション

世界中で多数のがん患者に補完代替医療 (CAM) が使われてきた。文化的、社会経済、そして精神性の違いが、その使用率に影響を及ぼしている。たとえば、メキシコ (97.2%) や中国 (97%) など使用率が高く [23、24]、米国 (63%) は中間的 [25]、カナダ (47%) [26] やイラン (35%) [27] では使用率が低い。ハーブ療法薬キャツクローは、補完代替医療 (CAM) として一部のがん患者に使われている。これは DNA 修復を刺激する働きがあり、抗発癌性物質、免疫賦活薬、抗酸化物質と考えられている。その作用のメカニズムが理論的に理解されているにもかかわらず、臨床効果の証拠はごく少ない [28]。化学療法、好中球および血小板数の減少などの主要副作用を最小にするとされる Ut の効果を評価するために、血液像が各 FOLFOX4 サイクルの前 (15 日の間隔) に分析された。ある抗悪性腫瘍薬と CAM (補完代替医療薬) はシトクロム P450 酵素ファミリーを通して代謝され、その相互作用が患者 [28] の代謝を変えるかもしれないことから、Ut による治療は患者が化学療法を受けた日には行われなかった。WBC、RBC、血小板の数については、グループ (Ut 対 C) の違いはなく、Ut の治療による改善はみられなかった。化学療法を受けたネズミの生体内分析では、好中球が Ut サプリメント [14] により著しく短い時間で回復することを証明している。この Ut の WBC に対する効果は骨髄系前駆細胞 [12] の刺激と ROS に対する影響によるもので、それはリンパ球 [29] の生き残りを増やし、脊髄細胞の分化 [2] を抑制する。われわれの Ut を用いた CRC 患者の臨床試験は以上である。健康人による臨床試験においては、250 または 350mg/ 日の Ut 抽出物が、8 週間連続して健康な大人に与えられたが、グループ間での WBC の統計的な有意な違いはなかった [11]。我々のグループは、化学療法を受けている女性乳がん患者に対して、毎日 300mg の Ut を与える臨床試験を行った。この研究においては、我々は、Ut を受けたグループと対照群グループ間に有意差を見つけた。Ut グループは、対照群と比較して、より高い好中球数を示した (データ未発表)。それぞれの処置において使用される薬が、乳がん (5-FU、アドリアマイシンとシクロホスファミド) と CRC (5-FU とオキサリプラチン) では異なり、また化学療法のサイクル期間の違い (それぞれ 21 と 15 日) も考慮されなければならない。またこの研究の全 CRC 患者が大腸切除を受けていたため、Ut の吸収をさまたげたかもしれないという事実も考慮しなければなら

い。

これまでになされた多くの研究は、Ut の抗酸化物質としての可能性を明らかに示し、その強いラジカルスカベンジャー作用は、以下を含むいくつかの分析により確かめられている：ジフェニルピクリルヒドラジルのフリーラジカルを減らし (DPPH 分析) [30、31]、酸化性物質である過酸化水素や次亜塩素酸 [30、32] だけでなく、スーパーオキシドアニオン、ペルオキシル、ヒドロキシラジカルの活性 [30] と、T E A C アッセイを減らす能力 [10]。さらに Ut 抽出物の抗酸化活性については、TBARS 生成物 (ネズミの肝臓ホモジェネートと筋小胞体膜を使用) の測定及び、フリーラジカルによる DNA-糖鎖損傷 [30、33] の抑制から分析された。これらの分析は、主として試験管内におけるテストで、ひとつの生体内テスト [31] を伴う。この強力な証拠にも関わらず、脂質過酸化 (TBARS) とタンパク質カルボニルによる評価では、Ut の治療を受けたグループと受けなかったグループの間で、酸化性ストレスの違いは見つからなかった。加えて抗酸化酵素 SOD またはカタラーゼにおけるの差異も観察されなかった。

DNA の損傷と DNA 修復、リンパ球の免疫反応の間には、緊密な相関関係がある。DNA の損傷と突然変異は、T 細胞増殖の不全や、抗原刺激による広範囲なクローン増殖を引き起こす結果になるかもしれない。Sheng らは、Ut の水溶性抽出物が、被験者の DNA 損傷の著しい減少と、DNA 修復の増加を引き起こすことを示した。しかし、我々の研究では、コメットアッセイは Ut 治療を受けたグループに有意差を示さなかった。Ut 抽出物は、すり碎いた樹皮を 70%のエタノールで抽出して用意された。このプロセスは、水性の抽出物 (Sheng ら [11] により用いられた) と比較して、抽出物 (オキシインドールアルカロイド) の組成が変わっている。しかしさらに最近では、キャツクローの水溶性抽出物は、さほど多くのアルカロイド (< 0.05%) を含まない事がわかっている。とはいえキナ酸が主要な活性成分 [34] であることから、それがいまだ有効であることが示されている。抽出物成分の違いが、観察された結果の違いと相関しているかどうか判断するためには、更なる研究が必要である。

酸化性ストレスと同様に、試験管内の証拠 [35] にもかかわらず、Ut は分析された CD4+T 細胞、CD8+T 細胞数および IL-6 レベルの免疫学的パラメータに対する影響を示さなかった。

Ut 抽出物 (Unha de Gato Herbarium) を 300mg/ 日、12 週間毎日服用して、臨床症状、血清臨床化学、全血分析、白血球数差から判断したところ、薬に関連する毒

表 6: 副作用の頻度は、1 番目と 6 番目の治療サイクル時の、アジュバント / 対症的化学療法の CRC 患者へのインタビューよりレポートされた。

	After 1 chemotherapy cycle					After 6 chemotherapy cycles				
	Not present	rarely	sometimes	often	Always	Not present	Rarely	Sometimes	Often	always
Fatigue	60.5	13.2	13.2	5.3	7.9	54.3	5.7	22.9	5.7	11.4
Insomnia	86.8	2.6	7.9	2.6	0	97.1	2.9	0	0	0
Vomiting	78.9	10.5	10.5	0	0	100	0	0	0	0
nausea	60.5	15.8	21.1	2.6	0	80.0	15.0	0	0	5.0
Dry skin	91.2	2.9	2.9	2.9	0	88.6	0	0	5.7	5.7
Pruritus/itching	81.6	2.6	10.5	0	5.3	91.4	5.7	0	0	2.9
Fever	97.4	2.6	0	0	0	97.1	2.9	0	0	0

データは徴候がみられた患者の%で表示。

表 7: FOLFOX4 (n = 43) によるアジュバント / 対症的化学療法の CRC 患者で観察された有害事象。

	After 1 chemotherapy cycle (FOLFOX4)					After 6 chemotherapy cycles (FOLFOX4)				
	Grade refers to the severity of the AE*					Grade refers to the severity of the AE				
	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
Hemoglobin	82.9	12.2	4.9	0	0	76.9	17.9	2.6	0	0
Leukocytes (total WBC)	97.6	2.4	0	0	0	74.4	5.1	15.4	5.1	0
Neutrophils/granulocytes	85.4	7.3	0	4.9	2.4	48.7	12.8	10.3	17.9	7.7
Lymphocytes	95.1	0	4.9	0	0	92.3	0	7.7	0	0
Platelets	97.6	0	2.4	0	0	84.6	10.3	5.1	0	0
Weight loss	82.9	9.8	2.4	4.9	0	92.3	0	2.6	5.1	0
Hyperglycemia	97.6	0	0	2.4	0	87.2	0	7.7	5.1	0
γ-glutamyl transpeptidase	100	0	0	0	0	89.8	10.2	0	0	0
Alkaline phosphatase	100	0	0	0	0	84.6	15.4	0	0	0
Neuropathy: sensory	100	0	0	0	0	94.9	0	5.1	0	0
Infection with Grade 3 or 4 neutrophils	100	0	0	0	0	97.4	0	2.6	0	0
Diarrhea	100	x	0	0	0	92.3	x	7.7	0	0

値は AE がみられた患者の%で表示。* グレードは AE の深刻さによる: 1 = 穏やかな AE; 2 = 中くらいの AE ; 3 = 激しい AE; 4 = 生命を脅かす、または機能障害を伴う AE; 5 = 死に至る AE[22];

性作用は観察されなかった。類似した結果は、これまで行われた被験者による研究でも [11、36] 示されている。National Center for Complementary and Alternative Medicine (USA)[37] センターは、キャットクローの推薦されている投薬量での副作用をほとんど報告していない。ごくまれに、頭痛、めまい、嘔吐が、副作用に含まれるかもしれない。

抗悪性腫瘍薬（オキサリプラチンと 5FU）に関連した有害事象は有名で [1]、我々の研究において観察される症状と類似している。

5. 結論

Ut 乾燥抽出物 300mg の毎日の服用は、症状の進んだ CRC 患者への 5FU/ ロイコボリンとオキサリプラチンの

治療でみられる、最も一般的な有害事象を減らす効果はない。毎日 300mg の乾燥抽出物を 12 週間投与されたグループの、Ut に関する毒性作用は観察されなかった。どのような状況で、どのような薬を用い、どのような種類のガンの場合に、Ut の治療が好中球減少症や血小板減少症を軽減し、また免疫反応を改善するといった陽性の影響があるのか、これらを評価するためにはさらなる研究が必要である。

利害関係

すべての著者は、どのような利害関係も拒絶する。この研究は、政府機関 CNPq と CAPES から財政援助を受けている。

謝辞

ブラジル the physicians of the Servico de Hematologia/Oncologia of the Hospital Universitario de Santa Mariaの医師らに感謝する。この研究は、CNPqとCAPESの公金援助を受けて行われた。

参照

[1] T. André, C. Boni, L. Mounedji-Boudiaf et al., "Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer," *New England Journal of Medicine*, vol. 350, no. 23, pp. 2343–2351, 2004.

[2] S. Kusmartsev and D. I. Gabrilovich, "Inhibition of myeloid cell differentiation in cancer: the role of reactive oxygen species," *Journal of Leukocyte Biology*, vol. 74, no. 2, pp. 186–196, 2003.

[3] S. Mena, A. Ortega, and J. M. Estrela, "Oxidative stress in environmental-induced carcinogenesis," *Mutation Research*, vol. 674, no. 1-2, pp. 36–44, 2009.

[4] T. N. Seyfried and L. M. Shelton, "Cancer as a metabolic disease," *Nutrition and Metabolism*, vol. 7, article 7, 2010.

[5] J. Alexandre, Y. Hu, W. Lu, H. Pelicano, and P. Huang, "Novel action of paclitaxel against cancer cells: bystander effect mediated by reactive oxygen species," *Cancer Research*, vol. 67, no. 8, pp. 3512–3517, 2007.

[6] A. C. P. Diederichsen, J. V. B. Hjelmberg, P. B. Christensen, J. Zeuthen, and C. Fenge, "Prognostic value of the CD4+/CD8+ ratio of tumour infiltrating lymphocytes in colorectal cancer and HLA-DR expression on tumour cells," *Cancer Immunology, Immunotherapy*, vol. 52, no. 7, pp. 423–428, 2003.

[7] J. Vincent, G. Mignot, F. Chalmin et al., "5-Fluorouracil selectively kills tumor-associated myeloid-derived suppressor cells resulting in enhanced T cell-dependent antitumor immunity," *Cancer Research*, vol. 70, no. 8, pp. 3052–3061, 2010.

[8] M. Klemke and Y. Samstag, "Molecular mechanisms mediating oxidative stress-induced T-cell suppression in cancer," *Advances in Enzyme Regulation*, vol. 49, no. 1, pp. 107–112, 2009.

[9] A.M. L. Janssen, C. B. Bosman, C. F.M. Sier et al., "Superoxide dismutases in relation to the overall survival of colorectal cancer patients," *British Journal of Cancer*, vol. 78, no. 8, pp. 1051–1057, 1998.

[10] R. Pilarski, H. Zielinski, D. Ciesiolka, and K. Gulewicz, "Antioxidant activity of ethanolic and aqueous extracts of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 104, no. 1-2, pp. 18–23, 2006.

[11] Y. Sheng, L. Li, K. Holmgren, and R. W. Pero, "DNA repair enhancement of aqueous extracts of *Uncaria tomentosa* in a human volunteer study," *Phytomedicine*, vol. 8, no. 4, pp. 275–282, 2001.

[12] S. Eberlin, L. M. B. Dos Santos, and M. L. S. Queiroz, "*Uncaria tomentosa* extract increases the number of myeloid progenitor cells in the bone marrow of mice infected with *Listeria monocytogenes*," *International Immunopharmacology*, vol. 5, no. 7-8, pp. 1235–1246, 2005.

[13] Y. Sheng, C. Bryngelsson, and R. W. Pero, "Enhanced DNA repair, immune function and reduced toxicity of C-MED, a novel aqueous extract from *Uncaria tomentosa*," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 69, no. 2, pp. 115–126, 2000.

[14] Y. Sheng, R. W. Pero, and H. Wagner, "Treatment of chemotherapy-induced leukopenia in a rat model with aqueous extract from *Uncaria tomentosa*," *Phytomedicine*, vol. 7, no. 2, pp. 137–143, 2000.

[15] R. S. Greenberg, S. R. Daniels, W. D. Flanders, J. W. Eley, and J. R. Boring, "Appendix A: estimation of sample size requirements for randomized controlled clinical trials," in *Medical Epidemiology*, McGraw-Hill, Columbia, SC, USA, 4th edition, 2004.

[16] R. L. Levine, D. Garland, C. N. Oliver et al., "Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins," *Methods in Enzymology*, vol. 186, pp. 464–478, 1990.

[17] A. M. Jentsch, H. Bachmann, P. F. ¨urst, and H. K. Biesalski, "Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids," *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 20, no. 2, pp. 251–256, 1996.

[18] D. P. Nelson and L. A. Kiesow, "Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25 °C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV)," *Analytical Biochemistry*, vol. 49, no. 2, pp.

474–478, 1972.

- [19] J. M. McCord and I. Fridovich, "Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein)," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 244, no. 22, pp. 6049–6055, 1969.
- [20] Y. S. Taktak, S. Selkirk, A. F. Bristow et al., "Assay of pyrogens by interleukin-6 release from monocytic cell lines," *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 43, no. 8, pp. 578–582, 1991.
- [21] N. P. Singh, M. T. McCoy, R. R. Tice, and E. L. Schneider, "A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells," *Experimental Cell Research*, vol. 175, no. 1, pp. 184–191, 1988.
- [22] National Cancer Institute (NCI), "Common Toxicity Criteria," 2010, http://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/docs/ctcae3.pdf.
- [23] R. Gerson-Cwillich, A. Serrano-Olvera, and A. Vilalobos-Prieto, "Complementary and alternative medicine (CAM) in Mexican patients with cancer," *Clinical and Translational Oncology*, vol. 8, no. 3, pp. 200–207, 2006.
- [24] Z. Chen, K. Gu, Y. Zheng, W. Zheng, W. Lu, and X. O. Shu, "The use of complementary and alternative medicine among Chinese women with breast cancer," *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, vol. 14, no. 8, pp. 1049–1055, 2008.
- [25] A. Sparber, L. Bauer, G. Curt et al., "Use of complementary medicine by adult patients participating in cancer clinical trials," *Oncology Nursing Forum*, vol. 27, no. 4, pp. 623–630, 2000.
- [26] L. K. Helyer, S. Chin, B. K. Chui et al., "The use of complementary and alternative medicines among patients with locally advanced breast cancer—a descriptive study," *BMC Cancer*, vol. 6, article 39, 2006.
- [27] A. Montazeri, A. Sajadian, M. Ebrahimi, S. Haghighat, and I. Harirchi, "Factors predicting the use of complementary and alternative therapies among cancer patients in Iran," *European Journal of Cancer Care*, vol. 16, no. 2, pp. 144–149, 2007.
- [28] U. Werneke, D. Ladenheim, and T. McCarthy, "Complementary alternative medicine for cancer: a review of effectiveness and safety," *Cancer Therapy*, vol. 2, pp. 475–500, 2004.
- [29] C. Akesson, R. W. Pero, and F. Ivars, "C-Med 100, a hot water extract of *Uncaria tomentosa*, prolongs lymphocyte survival in vivo," *Phytomedicine*, vol. 10, no. 1, pp. 23–33, 2003.
- [30] C. Gonçalves, T. Dinis, and M. T. Batista, "Antioxidant properties of proanthocyanidins of *Uncaria tomentosa* bark decoction: a mechanism for anti-inflammatory activity," *Phytochemistry*, vol. 66, no. 1, pp. 89–98, 2005.
- [31] R. Paniagua-Pérez, E. Madrigal-Bujaidar, D. Molina-Jasso et al., "Antigenotoxic, antioxidant and lymphocyte induction effects produced by pteropodine," *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, vol. 104, no. 3, pp. 222–227, 2009.
- [32] S. Amaral, L. Mira, J. M. F. Nogueira, A. P. D. Silva, and M. Helena Florêncio, "Plant extracts with anti-inflammatory properties—a new approach for characterization of their bioactive compounds and establishment of structure-antioxidant activity relationships," *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, vol. 17, no. 5, pp. 1876–1883, 2009.
- [33] C. Desmarchelier, E. Mongelli, J. Coussio, and G. Ciccía, "Evaluation of the in vitro antioxidant activity in extracts of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC," *Phytotherapy Research*, vol. 11, no. 3, pp. 254–256, 1997.
- [34] Y. Sheng, C. Åkesson, K. Holmgren, C. Bryngelsson, V. Giamapa, and R. W. Pero, "An active ingredient of Cat's claw water extracts: identification and efficacy of quinic acid," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 96, no. 3, pp. 577–584, 2005.
- [35] I. Lemaire, V. Assinewe, P. Cano, D. V. C. Awang, and J. T. Arnason, "Stimulation of interleukin-1 and -6 production in alveolar macrophages by the neotropical liana, *Uncaria tomentosa* (Una de Gato)," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 64, no. 2, pp. 109–115, 1999.
- [36] J. Piscocoy, Z. Rodriguez, S. A. Bustamante, N. N. Okuhama, M. J. S. Miller, and M. Sandoval, "Efficacy and safety of freeze-dried cat's claw in osteoarthritis of the knee: mechanisms of action of the species *Uncaria guianensis*," *Inflammation Research*, vol. 50, no. 9, pp. 442–448, 2001.
- [37] National Center for Complementary and Alternative Medicine, National Institutes of Health, "Herbs at a glance /Cat's Claw," 2011, <http://nccam.nih.gov/health/catclaw/>.