

令和 3 年 5 月 23 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H04322

研究課題名(和文) 抗がん作用を併せ持つ画期的な鎮痛法の開発 - 正に電化した局所麻酔薬を用いて -

研究課題名(英文) Development of analgesic strategy with anti-tumor effect

研究代表者

川股 知之 (Kawamata, Tomoyuki)

和歌山県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：80336388

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：申請者のこれまでの研究で、TRPV1(+)神経が、がんの痛みの伝達とがんの生育の双方に重要な働きをしていることが示唆された。したがって、TRPV1(+)神経そのものを抑制することにより、がんの痛みとがんの生育を抑制できる可能性がある。そこで活性化されたTRPV1(+)神経を選択的に遮断する正に電化した局所麻酔薬リドカインであるQX-314を用いて、がんの痛みを軽減するとともに、がんの生育を抑制する治療法について検討した。その結果、足底がん移植モデルでQX-314がTRPV1(+)神経を選択的に遮断し、がんの増殖と痛みを抑制できることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで、鎮痛治療と抗がん治療は別に考えられてきた。したがって、痛み神経とがんの生育を結びつけた本研究は学術的な意義は非常に大きい。本研究は、正に電化した局所麻酔薬QX-314を使用して、痛みと軸索反射をブロックする。痛みの伝達と腫瘍増殖に関与している活性化TRPV1(+)神経のみを選択的に抑制でき、活性化していないTRPV1(+)神経やTRPV1(-)神経、および中枢神経には作用しないことから、副作用が非常に少ない治療が期待できる。したがって、本研究結果が臨床応用されることにより副作用の少ない痛み治療・がん治療が可能となることが予想され、その臨床的意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：Our previous study has showed that TRPV1-positive afferents are involved in both cancer growth and cancer-induced pain. QX-314, a quaternary lidocaine derivative, has a permanent positive charge that theoretically impairs its ability to cross neuronal membranes. However, when TRPV1 was activated, extracellular QX-314 could produce a local anesthetic effect through entering the pore of TRPV1. Our results of this study revealed that systemic QX-314 decreases both cancer pain and cancer growth due to inhibition of activated TRPV1-positive afferents.

研究分野：麻酔科学

キーワード：がん疼痛

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

これまでにがんの痛みの機序に関する研究を行い、幾つかの興味ある結果を得てきた。その1つが、末梢神経によるがん生育の促進である。大腿部皮下に Lewis lung carcinoma 細胞を移植すると CGRP 欠損マウスでは野生型マウスに比べ腫瘍生育が著しく抑制された。CGRP は主に痛み受容体であるカプサイシン受容体 (TRPV1) 陽性神経に発現しているため、TRPV1 の関与について検討した。化学的に TRPV1 (+) 神経を脱落させたところ同様に腫瘍生育と周囲の血管新生が著しく抑制された。すなわち、がん細胞が周囲の TRPV1 (+) 神経を利用して、軸索反射により CGRP を放出させ、血管新生を促し自ら生育するという末梢神経とがん細胞のクロストークが示唆された。すなわち、TRPV1 に加え TRPV1 (+) 神経に発現する TRPV1 以外の分子が骨がん痛発現に重要であり、特定の分子というよりも TRPV1 (+) 神経を“まるごとターゲット”することにより十分な鎮痛が得られることを明らかにした^{1) 2)}。以上のこれまでの研究は、TRPV1 (+) 神経が、がんの痛みの伝達とがんの生育の双方に重要な働きをしていることを示唆する。したがって、TRPV1 (+) 神経そのものを抑制することにより、がんの痛みとがんの生育を抑制できる可能性がある。

正に電化した局所麻酔薬リドカインである QX-314 は通常、細胞膜を通過できず局所麻酔効果を発揮することができない“薬に立たない局所麻酔薬”であるが、痛み受容体である TRPV1 や TRPA1 が活性化している状態ではそのポアを介して細胞内に侵入し、神経選択的に局所麻酔効果を発揮することは知られている³⁾。TRPA1 は TRPV1 (+) 神経に選択的に発現することから、がん病変で TRPV1 (+) 神経上の TRPV1 や TRPA1 が活性しているならば、QX-314 は TRPV1 (+) 神経を選択的に抑制し、がんの痛みを軽減するとともに、がんの生育を抑制する可能性がある。

2. 研究の目的

そこで本研究では、QX-314 ががんの痛みを軽減するとともに、がんの生育を抑制することを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 使用動物

6-8 週齢の雄性 C57BL/6 マウス、TRPV1 遺伝子欠損マウス、および TRPA1 遺伝子欠損マウスを使用した。

(2) 足底がん痛モデル

Lewis 肺がん細胞 (LLC) を $5 \times 10^6 / 20 \mu\text{L}$ の濃度に調整し、全身麻酔下に、インスリン注射器を用いてマウスの左足底皮下に LLC を移植する。対照マウスには細胞培養液のみ $20 \mu\text{L}$ 皮下投与した。

(3) がん細胞増殖の評価

足容積測定装置 (Ugo Basile 37140) を用いて、移植側と反対側の足容積を非侵襲的に経時的に測定した。

(4) 痛みの評価

(4)-1 行動評価

Von Frey filament による逃避閾値と熱輻射装置 (Ugo Basile 37370) を用いた侵害熱刺激に対する逃避潜時、および足振り行動 (flinching) や足舐め (licking) に費やす時間を経時的に測定する。

(4)-2 組織学的評価

下肢および足底に投射する L3/4/5 後根神経節を採集し、phosphorylated CREB (pCREB) の免疫染色を行い、発現について定量評価する。また、pCREB がどのような神経細胞に発現するかの詳細を検討するために、TRPA1、TRPV1、NF200 (有髄神経のマーカー)、および IB4 (ペプチドを含有しない無髄神経のマーカー) と pCREB の二重染色を行う。

(5) QX-314 投与

QX-314 を持続投与するために浸透圧式持続注入ポンプをマウスの背部皮下に埋め込む。対照群では生理食塩水を持続投与する。持続投与ポンプを埋め込んだ後に、マウスの左足底に LLC を移植する。さらに、QX-314 投与終了時の血中 QX-314 濃度を高速液体クロマトグラフィーで測定する。

4. 研究成果

(1) 足底がん痛モデルで腫瘍増大の経時変化

WT マウス、TRPV1 KO マウス、および TRPA1 KO マウス共に経時的に腫瘍は増大したが、TRPV1 KO マウスと TRPA1 KO マウスは WT マウスに比べて腫瘍容積は統計学的に有意に小さかった (Fig 1, 2)。

(2) 行動評価

WT マウス、TRPV1 KO マウス、および TRPA1 KO マウス共に経時的に熱性痛覚過敏、機械性痛覚過敏、自発痛関連行動は悪化した。TRPV1 KO マウスと TRPA1 KO マウスは KO マウスに比べ熱性痛覚過敏、機械性痛覚過敏、自発痛関連行動の程度は統計学的に有意に抑制された (Fig 3 - 11)。

Figure 1. WTとTRPV1KOでの腫瘍増殖の経時変化

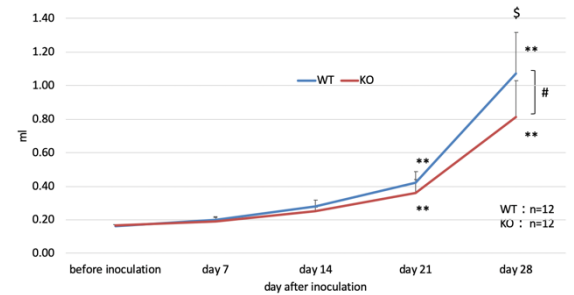


Figure 2. WTとTRPA1 KOでの腫瘍増殖の経時変化

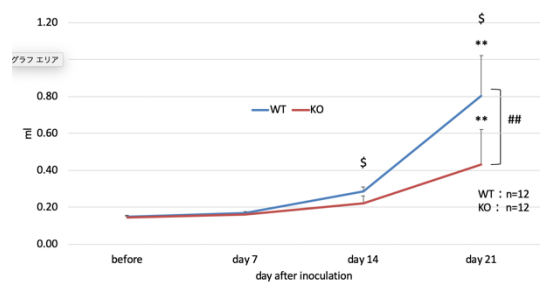


Figure 3. Effects of TRPV1 on cancer-induced mechanical sensitivity

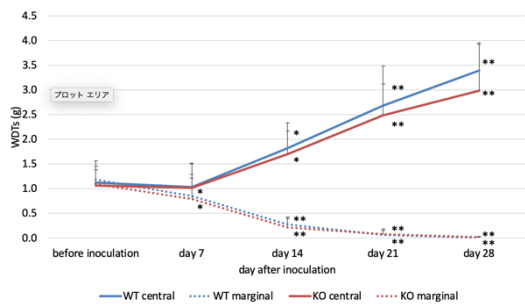


Figure 4. Effects of TRPV1 on cancer-induced thermal sensitivity

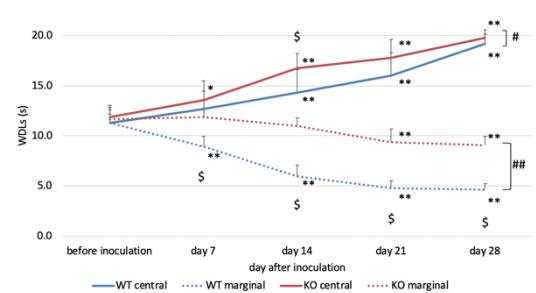


Figure 5. Effects of TRPV1 on cancer-induced spontaneous pain

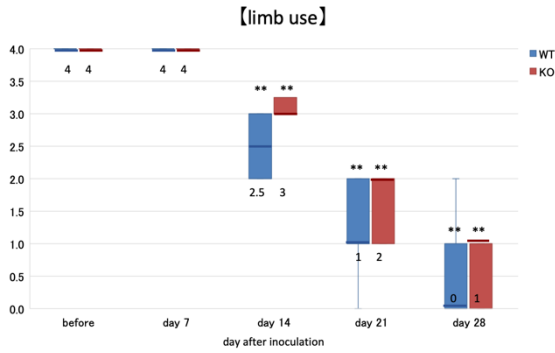


Figure 6. Effects of TRPV1 on cancer-induced spontaneous pain

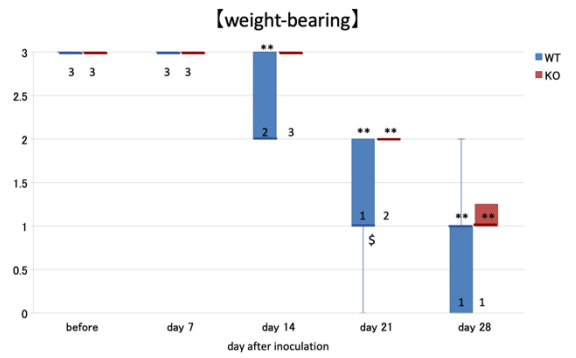


Figure 7. Effects of TRPA1 on tumor growth

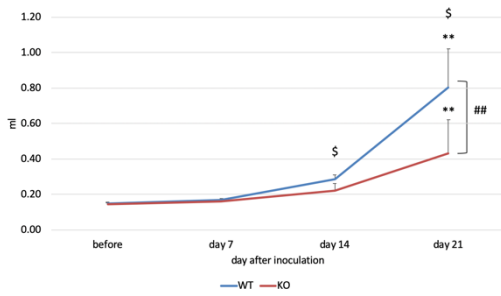


Figure 8. Effects of TRPA1 on cancer-induced thermal sensitivity

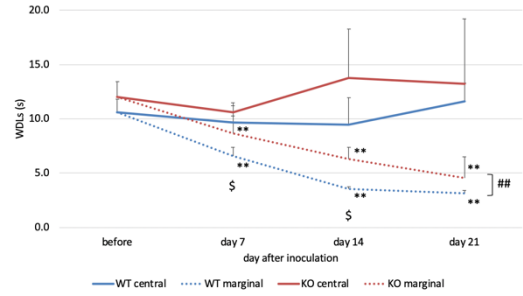


Figure 9. Effects of TRPA1 on cancer-induced spontaneous pain

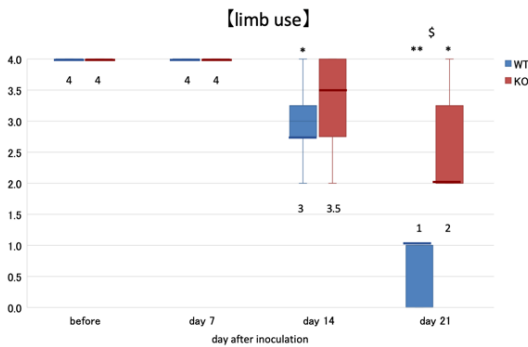


Figure 10. Effects of TRPA1 on cancer-induced spontaneous pain

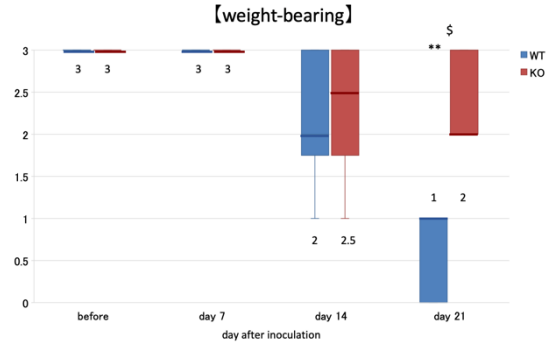
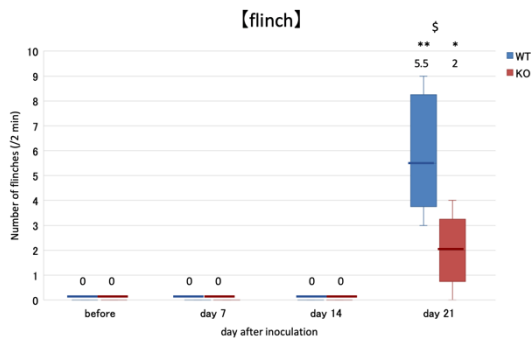


Figure 11. Effects of TRPA1 on cancer-induced spontaneous pain



(3) QX-314 の効果

QX-314 は day 0-14 まで持続皮下投与した。対照群は生食を持続皮下投与した。QX-314 持続投与は腫瘍増殖を抑制した (Fig 12)。また、QX-314 持続投与により flinching 行動は抑制されたが、その他の自発痛関連行動、熱性痛覚過敏および機械性痛覚過敏は抑制されなかった (Fig 13 - 17)。

Figure 12. Effects of QX-314 on tumor growth

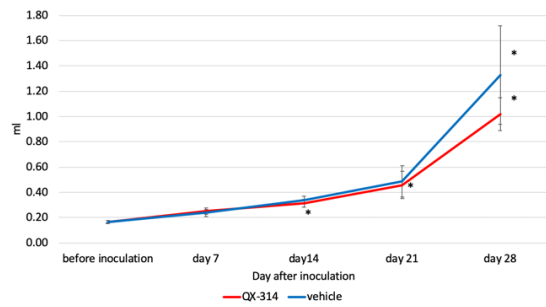


Figure 13. Effects of QX-314 on cancer-induced mechanical sensitivity

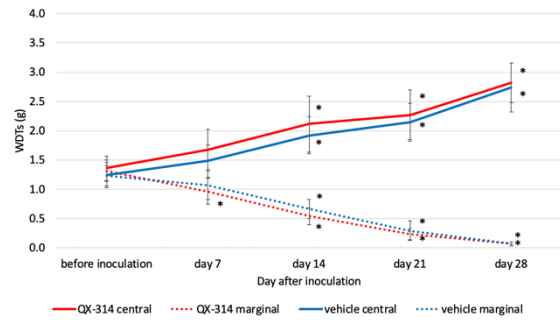


Figure 14. Effects of QX-314 on cancer-induced thermal sensitivity

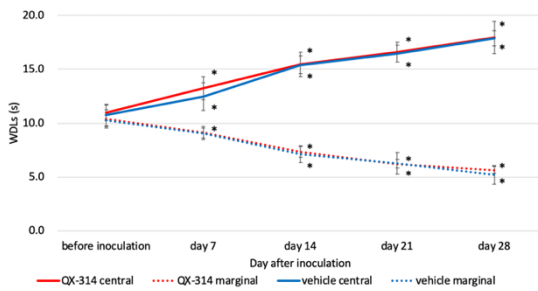


Figure 15. Effects of QX-314 cancer-induced spontaneous pain [limb use]

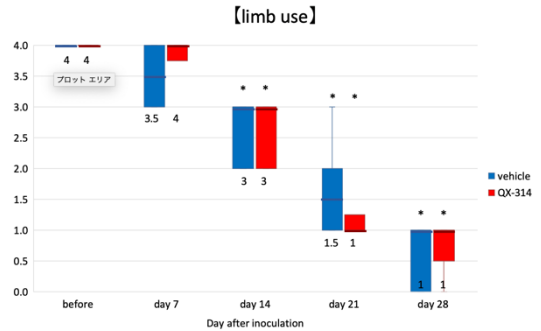


Figure 16. Effects of QX-314 on cancer-induced spontaneous pain [weight-bearing]

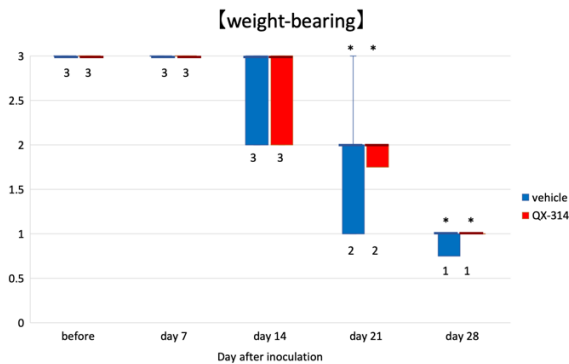
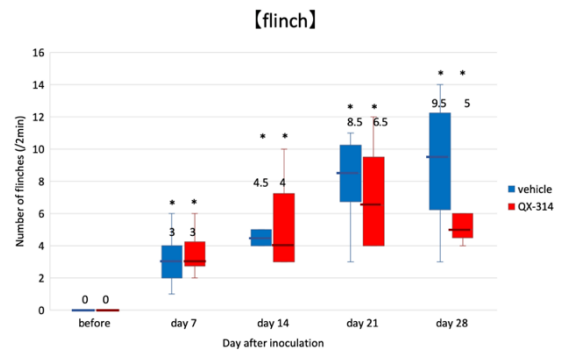


Figure 17. Effects of QX-314 on cancer-induced spontaneous pain [flinch]



また、QX-314 持続投与により DRG の TRPV1 陽性神経細胞での p-CREB 発現は対照群に比べ有意に抑制され、QX-314 が活性化 TRPV1 神経細胞に作用したことが示唆された (Fig 18)。

5 結論

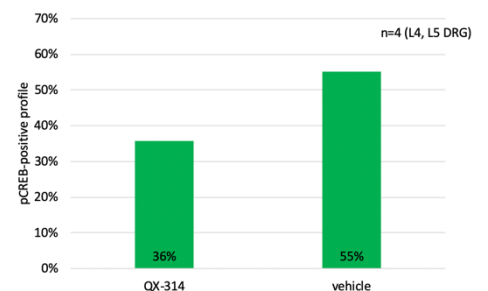
がん疼痛モデルでは TRPV1 陽性神経が痛みと腫瘍増殖に関与している。QX-314 はがんの増殖と痛みを抑制できる。

参考文献

1. Niiyama Y, Kawamata T, et al. Brit J Anaesth 2009
2. Fuseya H, Kawamata T, et al. Anesthesiology 2016

Figure 18. pCREB-positive profiles in TRPV1-positive DRG neurons

	QX-314	pCERB(+)	TRPV1(+)	計	vehicle	pCERB(+)	TRPV1(+)	計
	36%	1426	2579	4005	55%	2798	2290	5088
DRG section				49				52



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Sheehan K, Kawamata T, et al	4. 巻 14
2. 論文標題 Transcriptional factor Sp4 is required for hyperalgesic state persistence	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS One	6. 最初と最後の頁 e0211349
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0211349	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Hayami, Kawamata T, et al	4. 巻 36
2. 論文標題 Optimal timing of removal of epidural and urethral catheters to avoid postoperative urinary retention undergoing abdominal surgery	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Dig Sure	6. 最初と最後の頁 261-265
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1159/000490199	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nogawa R, Maruyama T, Kimoto Y, Yamazaki A, Kawamata T	4. 巻 32
2. 論文標題 Comparison of catheter-over-needle and catheter-through-needle on leakage from the catheter insertion site during continuous femoral nerve block.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Anesth	6. 最初と最後の頁 439-442
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00540-018-2479-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shiro M, Nakahata K, Minami S, Kawamata T, Ino K	4. 巻 44
2. 論文標題 Perinatal outcome of vaginal delivery with epidural analgesia initiated at the early or late phase of labor period: A retrospective cohort study in the Japanese population.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Obstet Gynaecol Res	6. 最初と最後の頁 1415-1423
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jog.13671	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hayami S, Ueno M, Kawai M, Kuriyama T, Kawamata T, Yamaue H	4. 巻 36
2. 論文標題 Optimal Timing of Removal of Epidural and Urethral Catheters to Avoid Postoperative Urinary Retention Undergoing Abdominal Surgery.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Dig Sure	6. 最初と最後の頁 261-265
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jog.13671	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kurosaki H, Nakahata K, Donishi T, Shiro M, Ino K, Terada M, Kawamata T, Kaneoke Y.	4. 巻 13
2. 論文標題 Effects of perinatal blood pressure on maternal brain functional connectivity.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 :e0203067
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0203067	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kurosaki H, Higuchi M, NogaR, Kawamata T	4. 巻 6
2. 論文標題 Detection of Acute Arterial Occlusion During Artery Bypass Surgery for a Lower Extremity by Monitoring Regional Saturation of Oxygen of the Sole of the Foot.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Cardiothorac Vasc Anesth.	6. 最初と最後の頁 2167-2169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1053/j.jvca.2017.03.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 2. 正木美帆、山崎亮典、大森亜紀、川股知之	4. 巻 66
2. 論文標題 腹部大動脈瘤ステントグラフト内挿術に対する末梢神経ブロックによる麻酔管理	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 麻酔	6. 最初と最後の頁 761-764
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 Ogawa S, Tsujimoto M, Kawmata T
2. 発表標題 A case in which ultrasound was useful for repeated evaluation of pneumothorax during laparoscopic surgery
3. 学会等名 Annual meeting of the American society of Anesthesiologists (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshida Q, Tanioku T, Aratani Y, Maruyama T, Tsujimoto M, vbKawamat T
2. 発表標題 TRPV1 is involved in both tumor growth and cancer-induced pain
3. 学会等名 Annual meeting of the American society of Anesthesiologists
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川股知之
2. 発表標題 NSAIDs
3. 学会等名 日本麻酔科学会第65回大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川股知之
2. 発表標題 統合型臨床情報システムDWHが切り開く周術期データ検索とその可能性
3. 学会等名 日本麻酔科学会第65回大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1 . 発表者名 Kurosaki H, Tazoe M, Ogawa S, Kawamata T
2 . 発表標題 Altered spontaneous brain activity in chronic PHN patients
3 . 学会等名 Annual meeting of the American Society of Anesthesiologists (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Yoshida A, Ogawa S, Tazoe M, Kawamata T
2 . 発表標題 TRPA1 is involved in cancer-induced spontaneous pain but not mechanical and thermal hyperalgesia
3 . 学会等名 Annual meeting of the American Society of Anesthesiologists (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Kurosaki H, Kan S, Nakata R, Yamazaki A, Kuriyama T, Mizumoto K, Shibata M, Kawamata T
2 . 発表標題 Altered resting-state functional connectivity of pain-related brain regions in patients with postherpetic neuralgia
3 . 学会等名 Annual Meeting of the American Society of Anesthesiologists (国際学会)
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 Tanioku T, Higashi S, Deguchi K, Boki K, Nishibata M, Kawamata T
2 . 発表標題 Validation of ClearSight System during anesthetic induction in patients undergoing cardiovascular surgery
3 . 学会等名 Annual Meeting of the American Society of Anesthesiologists (国際学会)
4 . 発表年 2017年

1. 発表者名 Kawamata T
2. 発表標題 Current status and future development of cancer pain management
3. 学会等名 25th Chinese Society of Anesthesiologists (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 川股知之	4. 発行年 2018年
2. 出版社 メディカル・サイエンス・インターナショナル	5. 総ページ数 187
3. 書名 LiSA別冊秋号 頭痛と鎮痛	

1. 著者名 吉田朱里、川股知之	4. 発行年 2018年
2. 出版社 診断と治療社	5. 総ページ数 764
3. 書名 麻酔科研修ノート改訂第三版	

1. 著者名 吉田朱里、川股知之	4. 発行年 2018年
2. 出版社 克誠堂	5. 総ページ数 239
3. 書名 日めくり麻酔科エビデンスアップデート2	

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------