

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04377

研究課題名(和文) 知覚神経によるがんの増大、転移の制御

研究課題名(英文) Role of sensory nerve in cancer progression

研究代表者

米田 俊之 (Yoneda, Toshiyuki)

大阪大学・歯学研究科・招へい教員

研究者番号：80142313

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,900,000円

研究成果の概要(和文)：がんの進展により激しい痛み(がん性疼痛)が誘発される。しかし、がん性疼痛の仕組みは不明であり、有効な治療手段が確立されておらず、痛みはがん患者の生存率を大きく低下させる。研究代表者らは、がん性骨痛の動物モデルを用いて、骨内で増大する乳がんが造る酸性環境が骨痛を誘発することを明らかにした。次いで、その酸性環境の影響をブロックする低分子化合物、あるいは天然物質が骨痛を緩和し、同時に乳がんの骨内での増大、さらに骨から肺への転移も抑制することを見出した。この結果より、がん性骨痛は生物学的にがんの進展、転移の制御に関与すること、またがんの酸性環境は有力な治療ターゲットであることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血管の新生はがんの増大に不可欠である。しかし、血管の新生と連動して起こる神経の新生とがんの増大との関係は不明である。本研究は、増大するがん周囲の酸性環境による骨内の知覚神経の興奮、すなわちがん性骨痛、により知覚神経でのがん増殖促進因子の産生が高まり、その結果骨内でのがんの増大、骨からの二次転移が強まることを分子細胞生物学的に明らかにした。本成果は、がん患者を最も苦しめ、その治療を困難にする要因の一つであるがん性骨痛を抑え込むことにより、同時にがん自体の進展に対しても一石二鳥的に抑制効果が得られることを示唆し、今後のがん治療にこれまでになかった視点からのアプローチをもたらすと期待される。

研究成果の概要(英文)：Majority of cancer patients suffer from cancer pain at advanced and terminal stage of the illness. However, the mechanism underlying cancer pain remains unclear and currently-available therapeutic means are not satisfactorily effective at reducing cancer pain, resulting in decreased survival of cancer patients. In this study, we found that the acidic microenvironment created by breast cancer is responsible for causing bone pain using an animal model of cancer pain. We then showed that a synthetic small compound and a natural substance that block the actions of the acidic microenvironment reduced bone pain, and the progression of breast cancer in bone and metastasis to lung from bone. These results suggest that bone pain and breast cancer progression are reciprocally interactive and that bone pain biologically regulates cancer progression and secondary metastasis from bone and support the notion that the acidic microenvironment associated with cancer is a potential therapeutic target.

研究分野：口腔生化学

キーワード：がん 知覚神経

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

血管新生はがんの増大に必須であるが、血管新生に連動する神経新生とがんの増大との関係は明らかではない。しかし臨床的には**神経周囲浸潤 (Perineural invasion, PNI)**を示すがんは悪性度が高く、患者の生存率を低下させることが古くから知られており、神経新生とがん進展との関連が推測されてきた。近年精神的ストレスががんの発生率を高め、生存率を低下させることから交感神経が様々ながんの増大、進展を制御することが示唆されている。一方疼痛を訴えるがん患者も予後が悪化することから知覚神経もがんの増大、進展に関与する可能性が考えられるが、その推測を支持する詳細な研究は国内外を問わず見当たらない。

## 2. 研究の目的

本研究では乳がんの骨内での増大、進展と、がん存在下において増生、興奮し、骨痛を惹起する知覚神経との相互関連について分子および細胞レベルで検討する。本研究の遂行により、知覚神経興奮、すなわち痛み、ががんの増大、進展に対して、精神的にだけでなく、生物学的にも影響を与えることを明らかにし、その知見に立脚する新たな視点から、**がん性骨痛、ならびにがんの進展に一石二鳥的に効果を示す抗がん療法の開発と、PNIを示すがんに対する治療への応用をめざす。**

## 3. 研究の方法

骨には知覚神経が密に終末しており、骨に転移したがんは知覚神経の増生、ならびに興奮を促進することにより激しい骨痛を誘発する。したがってがんと知覚神経との相互関連について研究を進める場合に、がんの骨転移は非常に好都合な研究モデルを提供する。本研究ではマウス乳がん細胞 4T1、ならびに E0771 を脛骨骨髓内に注入するモデルを用いて以下の実験を進める。

脛骨骨髓内での乳がんの増大様式と担がんマウスの骨痛の有無を検討する。

骨内で増大する乳がんの遠隔内臓臓器への二次転移を検討する。

乳がんの増大に伴う骨内環境の酸性化の進行を測定する。

乳がん増大と骨内環境酸性化に伴って骨に終末する知覚神経の新生、神経突起伸長、興奮および骨痛誘発の変化を検索する。

これらの変化において、知覚神経が発現する**酸感受性受容体 (Transient receptor potential vanilloid-1, TRPV1)**の活性化の関与を検討する。

骨内酸性環境により活性化された TRPV1 を介して興奮した知覚神経が産出する乳がん細胞増殖促進因子の検出と同定を行う。

同定された知覚神経由来の乳がん増殖促進因子が、がんの骨内での増大と骨から肺への二次転移を促進することを、shRNA による乳がんの増殖促進因子受容体遺伝子ノックダウン、受容体拮抗剤、あるいは阻害剤などを用いて証明する。

乳がん酸性環境による TRPV1 の活性化が知覚神経の興奮および骨痛誘発に及ぼす影響、ならびに乳がんの骨内での増大と骨から肺への二次転移を制御することを TRPV1 アンタゴニスト、あるいは TRPV1 欠損マウスを用いて明らかにする。

## 4. 研究成果

### 1) PNI モデルマウスの樹立

脛骨骨髓内に注入された 4T1 乳がん細胞は骨を破壊しながら増大し、その増大に並行して知覚神経を興奮させ骨痛を誘発した。したがって乳がん骨転移による骨痛誘発マウスモデルが樹立された。またこのモデルでは神経新生、増生、軸索伸長も 4T1 乳がんの増大に伴って増加することから PNI の動物モデルとしても活用できることが示された。

骨内で増大する 4T1 乳がんは **high mobility group box 1 (HMGB1)** を産出することにより知覚神経を興奮させ、骨痛を誘発し、HMGB1 中和抗体は知覚神経興奮および骨痛を抑制した。shRNA により HMGB1 遺伝子がノックダウンされた乳がん細胞は骨内で増大しても知覚神経興奮、ならびに骨痛を誘発しなかった。そのメカニズムとして、乳がんから分泌された HMGB1 は知覚神経が発現する HMGB1 受容体 **the receptor for advanced glycation end products (RAGE)** を通じて知覚神経興奮および骨痛を誘発することが示された。これらの結果は HMGB1/RAGE 経路ががんの骨痛制御に有効であることを示唆する。本研究は申請時には計画されていなかったが、研究遂行中に新たに追加された。**以上の研究成果は論文にまとめ現在投稿中である。**

骨内で増大した 4T1 乳がんは肺に遠隔転移することが示された。したがって乳がん患者の生存率をさらに低下させる主要な原因である骨からの二次転移を研究できるマウスモデルが樹立された。

### (2) がんの増殖における知覚神経の役割の解明

骨内の 4T1 乳がんは液胞型プロトンポンプを通じてプロトンを骨内に放出し、骨内環境を酸性化することにより知覚神経を興奮させ、骨痛を誘発することが示された。

知覚神経上に発現される酸感受性受容体 TRPV1 が産生環境下で活性化され、それに続いて知覚神経の興奮と骨痛が誘発されることが示された。合成、あるいは天然の TRPV1 アン

タゴニスト、SB366791,あるいはヨードレジニフェラトキシンは知覚神経新生、増生、興奮、ならびに骨痛を抑制した。これらの TRPV1 アンタゴニストは骨痛のみならず 4T1 乳がんの骨内での増大および肺への二次転移も抑制した。しかし TRPV1 アンタゴニスト自体にがん細胞増殖抑制効果は認められなかった。

次に、知覚神経によるがんの増殖の分子メカニズムの探索を行った。興奮した知覚神経は乳がんの強力な増殖促進因子である **Hepatocyte Growth Factor (HGF)** 産生を増加することが判明した。

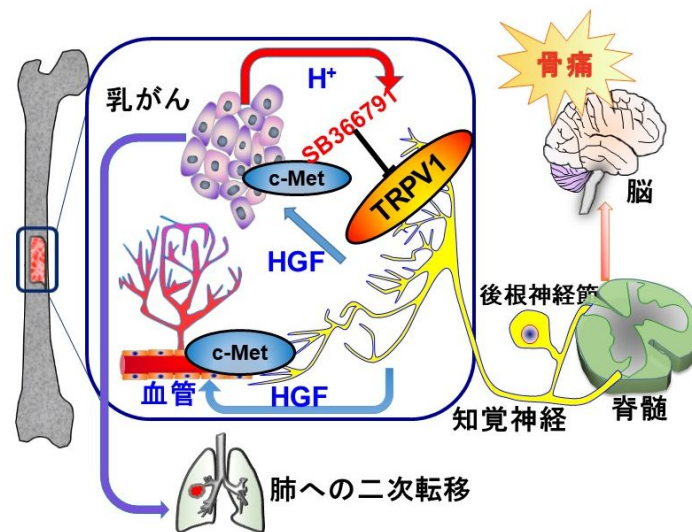
TRPV1 アンタゴニストは知覚神経興奮を抑制して HGF 産生を減少させた。HGF 受容体、c-Met、の低分子合成阻害剤クリゾチニブは 4T1 乳がんの骨内での増大および肺への転移を抑制した。

c-Met 遺伝子がロックダウンされた 4T1 乳がんを脛骨骨髓内に注入した場合、骨内での増大および肺への転移が低下した。TRPV1 アンタゴニストは 4T1 乳がんでの血管新生も抑制した。

TRPV1 欠損マウスの脛骨骨髓内に E0771 乳がん細胞を注入した場合、知覚神経興奮、骨痛誘発、ならびに骨内での増大、肺への転移はいずれも低下した。TRPV1 アンタゴニストは乳がん治療に最もよく使用されるドキソルビシンの抗がん作用を増強した。

以上の結果より、**知覚神経上の TRPV1 活性化の抑制は、骨痛を緩和し、同時に知覚神経による HGF 産生を抑制することにより骨内でのがんの増大、進展、転移を阻害することが示唆された(図)**。これらの知見は新しい視点からの一石二鳥の抗がん療法の開発に結び付くと期待される。さらにこれらの知見は PNI を示すがんの予後が不良となる理由を説明するものであり、PNI を示すがんの治療に対する理論的基盤が得られた。

図 本研究結果のまとめ



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 2. Fukumoto S, Soen S, Taguchi T, Ishikawa T, Matsushima H, Terauchi M, Horie S, Yoneda T, Sugimoto T, Matsumoto T	4. 巻 38
2. 論文標題 Management manual for cancer treatment-induced bone loss (CTIBL): Position statement of the JSBMR.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Bone Miner Metab	6. 最初と最後の頁 141-144
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00774-020-01087-0.	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 1. Takeuchi T, Tanaka Y, Soen S, Yamanaka H, Yoneda T, Tanaka S, Nitta T, Okubo N, Genant H, van der Heijde D	4. 巻 78
2. 論文標題 Effects of the anti-RANKL antibody denosumab on joint structural damage in patients with rheumatoid arthritis treated with conventional synthetic disease-modifying anti-rheumatic drugs (DESIRABLE study): a randomized, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. Annal Rheumat Dis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annal Rheumat Dis	6. 最初と最後の頁 899-907/141-144
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/annrheumdis-2018-214827	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 該当する
1. 著者名 Yoneda T, Hiasa M, Okui T	4. 巻 4(2)
2. 論文標題 Bone pain associated with acidic cancer microenvironment.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Curr Mol Biol Rep	6. 最初と最後の頁 59-68
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s40610-018-0089-7	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 Yoneda T, Hiasa M, Okui T.	4. 巻 16(6)
2. 論文標題 Crosstalk between sensory nerves and cancer in bone.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Curr Osteopor Rep	6. 最初と最後の頁 648-656
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11914-018-0489-x.	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 Takahashi S, Kinuya S, Nonomura N, Shinohara N, Suzuki K, Suzuki H, Nakamura K, Satoh T, Tateishi U, Yoneda T, Horikoshi H, Igawa T, Kamai T, Koizumi M, Kosaka T, Matsubara N, Miyake H, Mizokami A, Mizowaki T, Nakamura N, Nozawa M, Takahashi T, Uemura H, Uemura M, Yokomizo A, Yoshimura M, Takehi Y.	4. 巻 6
2. 論文標題 Japanese expert panel meeting for the management of prostate cancer with bone metastases.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncol Therap	6. 最初と最後の頁 157-171
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 0.1007/s40487-018-0088-0.	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 Wakabayashi H, Wakisaka S, Hiraga T, Hata K, Nishimura R, Tominaga M, Yoneda T.	4. 巻 36(3)
2. 論文標題 Decreased sensory nerve excitation and bone pain associated with mouse Lewis lung cancer in TRPV1-deficient mice.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Bone Miner Metab	6. 最初と最後の頁 274-285
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00774-017-0842-7.	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 Davis HM, Pacheco-Costa R, Atkinson EG, Brun LR, Gortazar AR, Harris J, Hiasa M, Bolarinwa SA, Yoneda T, Ivan M, Bruzzaniti A, Bellido T, Plotkin LI.	4. 巻 16(3)
2. 論文標題 Disruption of the Cx43/miR21 pathway leads to osteocyte apoptosis and increased osteoclastogenesis with aging	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Aging Cell	6. 最初と最後の頁 551-563
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ace1.12586	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 該当する

1. 著者名 Hiasa M, Okui T, Allette YM, Ripsch MS, Sun-Wada GH, Wakabayashi H, Roodman GD, White FA, Yoneda T	4. 巻 77(6)
2. 論文標題 Bone Pain Induced by Multiple Myeloma Is Reduced by Targeting V-ATPase and ASIC3	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cancer Res	6. 最初と最後の頁 1283-1295
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.CAN-15-3545	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 該当する

1. 著者名 Japanese Allied Committee on Osteonecrosis of the Jaw, Yoneda T, Hagino H, Sugimoto T, Ohta H, Takahashi S, Soen S, Taguchi A, Nagata T, Urade M, Shibahara T, Toyosawa S.	4. 巻 35(1)
2. 論文標題 Antiresorptive agent-related osteonecrosis of the jaw: Position Paper 2017 of the Japanese Allied Committee on Osteonecrosis of the Jaw.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Bone Miner Metab	6. 最初と最後の頁 6-19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00774-016-0810-7	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 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 奥井達雄 日浅雅博 米田俊之
2. 発表標題 骨転移における知覚神経とがんのクロストーク
3. 学会等名 第37回日本骨代謝学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoneda T
2. 発表標題 Bone pain associated with acidic cancer microenvironment.
3. 学会等名 The International Association for the Study of Pain World Congress of Pain（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 奥井達雄、日浅雅弘、米田俊之.
2. 発表標題 知覚神経による骨痛とがんの増大、転移の制御.
3. 学会等名 第36回日本骨代謝学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 米田俊之
2. 発表標題 顎骨壊死最近の動向.
3. 学会等名 第63回日本口腔外科学会総会・学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takeuchi T, Tanaka Y, Soen S, Yamanaka H, Yoneda T, Tanaka S, Nitta T, Okubo N, Genant H, van der Heijde D.
2. 発表標題 Effects of denosumab, a subcutaneous RANKL inhibitor, on the progression of structural damage in Japanese patients with rheumatoid arthritis treated with csDMARDs: Result from the long-term treatment of phase 3, DESIRABLE study.
3. 学会等名 Annual European Congress of Rheumatology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiasa M, Okui T, Delgado-Calle J, Bellido T, Roodman GD, Plotkin L, White FA, Yoneda T
2. 発表標題 Bone pain-modifying actions of osteocytes via Connexin43-mediated communications with sensory nerves
3. 学会等名 44th European Calcified Tissue Society Congress (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Okui T, Hiasa M, White FA, Roodman GD, Yoneda T
2. 発表標題 Neuronal HGF regulates breast cancer progression and bone pain induction
3. 学会等名 44th European Calcified Tissue Society Congress (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 日浅雅博、奥井達雄、米田俊之
2. 発表標題 V-ATPaseプロトンポンプおよび酸感受性イオンチャンネルASIC3阻害は多発性骨髄腫の骨痛を緩和する
3. 学会等名 第35回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 奥井 達雄, 日浅 雅博, 志茂 剛, 佐々木 朗, 米田 俊之
2. 発表標題 TRPV1を通じて興奮した知覚神経はHGF産生により骨内でのがんの進展および骨からの二次転移を促進する
3. 学会等名 第35回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔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
研究 分 担 者	波多 賢二  (Hata Kenji)  (80444496)	大阪大学・歯学研究科・准教授    (14401)	