

令和元年6月11日現在

機関番号：10107

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16717

研究課題名(和文) 抗癌剤による末梢神経障害に対する漢方治療の基礎的検討

研究課題名(英文) Basic research of Kampo treatment for peripheral neuropathy by anticancer drug

研究代表者

佐藤 泉 (Sato, Izumi)

旭川医科大学・大学病院・医員

研究者番号：70624196

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：HIV関連神経障害性疼痛ラットモデルを用いて、HIV誘発性アロディニアに対する牛車腎気丸(GJG)の効果を調べた。神経因性疼痛は、組み換えHIV-1エンベロープタンパク質であるgp120を坐骨神経に巻き付けることによって誘発された。機械的閾値は、von Frey filamentsを用いて調べた。ラットを無作為にgp120群、GJG投与gp120群、偽手術群、およびGJG投与偽手術群の4群のうち一つに割り当てた。GJG投与gp120群はgp120群と比較してアロディニアの改善を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々のデータは、HIV関連神経障害性疼痛ラットモデルにおいて牛車腎気丸がHIV誘発性アロディニアを抑制することを示した。これにより牛車腎気丸がHIV関連神経障害性疼痛に有効である可能性が示唆された。現在、HIV関連神経障害性疼痛に対して牛車腎気丸が作用する機序について、分子生物学的検討を行っている。

研究成果の概要(英文)：We studied the effect of Go-sha-jinki-Gan (GJG) on HIV-induced allodynia using a rat model of HIV-related neuropathic pain. Neuropathic pain was induced by the application of recombinant HIV-1 envelope protein gp120 into the sciatic nerve. Mechanical threshold was tested using the von Frey filaments. Rats were randomly assigned to one of the following four groups: gp120 group, GJG-treated gp120 group, Sham group, and GJG-treated Sham group. The GJG-treated gp120 group showed improvement of allodynia as compared to the gp120 group.

研究分野：麻酔科学

キーワード：神経障害性疼痛 漢方治療

## 1. 研究開始当初の背景

### （1）神経障害性疼痛の現状と機序についてのこれまでの報告

神経障害性疼痛は、抗癌剤などの副作用によるものや糖尿病などの疾患に伴うものから原因不明のものまで様々な原因で起こるが、難治性の疼痛であり治療に難渋することも多く、様々な治療が試みられているがいまだに有効な方法は確立されていない。本邦においては人口の高齢化に伴い、その罹患数は増加の一途を辿ることが予想され、治療法の確立は急務である。

その一つである抗癌剤による末梢神経障害は進行すると日常生活での大きな障壁となるだけでなく、使用できる抗癌剤の種類も量も制限される重要な副作用の一つであり、有効な予防法や治療法の確立はきわめて重要である。抗癌剤ではオキサリプラチンに代表される白金製剤、パクリタキセルなどタキサン製剤などが高頻度に末梢神経障害を発生させる。神経障害性疼痛の発現には、一次感覚神経と中枢神経系（特に脊髄後角）における TRP (Transient Receptor Potential)チャネルの関与が明らかにされ、現在までに TRPM8, TRPA1, TRPV4, TRPV1 の4 つについて神経障害性疼痛への関与が報告されており、鎮痛薬開発の有望な標的として期待されている。

また、活性酸素が神経障害性疼痛の持続に関連することが報告されており、HIV 関連神経障害性疼痛モデルラットにおいて脊髄後角神経細胞内の活性酸素が有意に増加することを研究分担者が海外留学施設での研究で証明している<sup>①</sup>。さらに、神経障害性疼痛には TNF $\alpha$  等の炎症性サイトカインが関連しており、過去には脊髄損傷モデル<sup>②</sup>等で脊髄の TNF $\alpha$  が増加することが報告されている。他にも神経障害性疼痛の機序が少しずつ解明されつつはあるが、いまだ不明な点は多い。

### （2）神経障害性疼痛と漢方薬

一方、神経障害性疼痛に対し、漢方薬の有用性が報告されている。中でも効果のある漢方薬として牛車腎気丸の有用性がいくつかの臨床試験で示され、実臨床でも頻用されており、基礎研究においても作用機序の一部が解明されている。パクリタキセル投与による末梢神経障害においては、牛車腎気丸が一次感覚神経の TRPV4 発現増加を抑制することにより、疼痛閾値を改善させ痛覚過敏を抑制することが報告されている<sup>③</sup>。オキサリプラチン投与による末梢神経障害の急性症状においては、牛車腎気丸が一次感覚神経の TRPA1 および TRPM8 の発現増加を抑制することにより、冷刺激による疼痛閾値を改善させ痛覚過敏を抑制し、慢性毒性に関してはオキサリプラチンが神経細胞のミトコンドリアを中心とした活性酸素の過剰産生し、神経細胞障害を誘発していることが示唆されているが、牛車腎気丸は活性酸素の産生を抑制することが報告されている<sup>④</sup>。

牛車腎気丸の他にも末梢神経障害に有効な漢方薬の報告はあるが、十分なエビデンスは確立していない。西洋医学的治療で対応できない様々な神経障害性疼痛に対し、漢方治療が有効であったという報告は多く、今後のエビデンスの確立が期待される。

## 2. 研究の目的

本研究はラットの末梢神経障害モデルに漢方薬を投与することで疼痛閾値の改善を確認し、脊髄での分子生物学的検討を行うことで末梢神経障害に対する漢方薬の有効性の検討を行うとともに、末梢神経障害に対する機序の解明を目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 実験動物

動物実験は旭川医科大学の動物実験委員会によって承認された。生後 11 週のおスの Sprague Dawley ラット (200~250 g) を使用した。手術の前に 1 週間、環境に慣らした。食事と水分は自由に摂取可能とし、7:00-19:00 の 12 時間サイクルでライトコントロールを行った。

#### (2) 疼痛モデルの作成

疼痛モデルの作成は生後 12 週目に行った。麻酔下で左坐骨神経を露出させ、酸化再生セルロースの薄片を、gp120 群では 40ng の gp120(Immunodiagnotics, Bedfoed, MA) を入れた 0.1% ウシ血清アルブミン(BSA)を含む生理食塩水、Sham 群では 0.1%BSA を含む生理食塩水の中に予め浸した。坐骨神経をセルロースの薄片でゆるく包み、4/0 縫合糸で閉創した。

#### (3) 漢方薬の投与

ラットを最初に無作為に gp120 (HIV 関連神経因性疼痛) 群、牛車腎気丸 (GJG) 投与 gp120 群、偽手術群、および GJG 投与偽手術群の 4 群のうちの 1 つに割り当てた。手術当日より GJG 群には 4% (w/w) 牛車腎気丸を含む食餌を与え、GJG 非投与群には通常の食餌を与えた。

#### (4) 動物行動学的試験

手術の前日、手術日、手術の 7、14、21、28、35、42、49、および 56 日後に、全ラットの摂餌量および体重を記録した。機械的アロディニアは、von Frey フィラメントを用いた段階的機械的刺激に対する足引っ込め反応の閾値を調べる上下法を用いて、手術の前日、手術日、手術の 7、14、21、28、35、42、49、56 日後に評価した。

#### (5) 統計処理

実験結果は、二元配置反復測定分散分析 (ANOVA) を用いて評価した。群間の差異は、Bonferroni 事後検定でさらに分析した。P 値 < 0.05 を統計的に有意とした。

### 4. 研究成果

最初は広く神経障害性疼痛の研究分野で用いられている絞扼性神経損傷モデルに漢方薬を投与し、Von Frey フィラメントによる疼痛閾値評価で、コントロール群と比較して漢方薬投与群で機械的閾値が有意に改善することを確認した。漢方薬は、抗癌剤による末梢神経障害をはじめ、様々な神経障害性疼痛に対して有用性が示されている牛車腎気丸を用いた。次に当初の予定では神経障害性疼痛モデルとして抗癌剤による末梢神経障害のモデルラットを用いる予定であったが、モデル作成が安定しないため HIV 関連神経障害性疼痛モデルを用いることとした。ラットを無作為に HIV 関連神経障害性疼痛モデル群、牛車腎気丸投与 HIV 関連神経障害性疼痛モデル群、偽手術群、牛車腎気丸投与偽手術群の 4 群に割り当て、牛車腎気丸投与 HIV 関連神経障害性疼痛モデル群、牛車腎気丸投与偽手術群には手術当日より牛車腎気丸の投与を行った。Von Frey フィラメントによる疼痛閾値評価では、HIV 関連神経障害性疼痛モデル群と比較して牛車腎気丸投与 HIV 関連神経障害性疼痛モデル群で機械的閾値が有意に改善することが確認された (図 1)。これにより牛車腎気丸が HIV 関連神経障害性疼痛に有効である可能性が示唆された。本研究の成果は臨床で問題となっている神経障害性疼痛の機序を解明する糸口となり、効果的な治療法の解明につながるものである。

さらに現在、HIV 関連神経障害性疼痛に対して牛車腎気丸が作用する機序について、脊髄における分子生物学的検討を行っている。

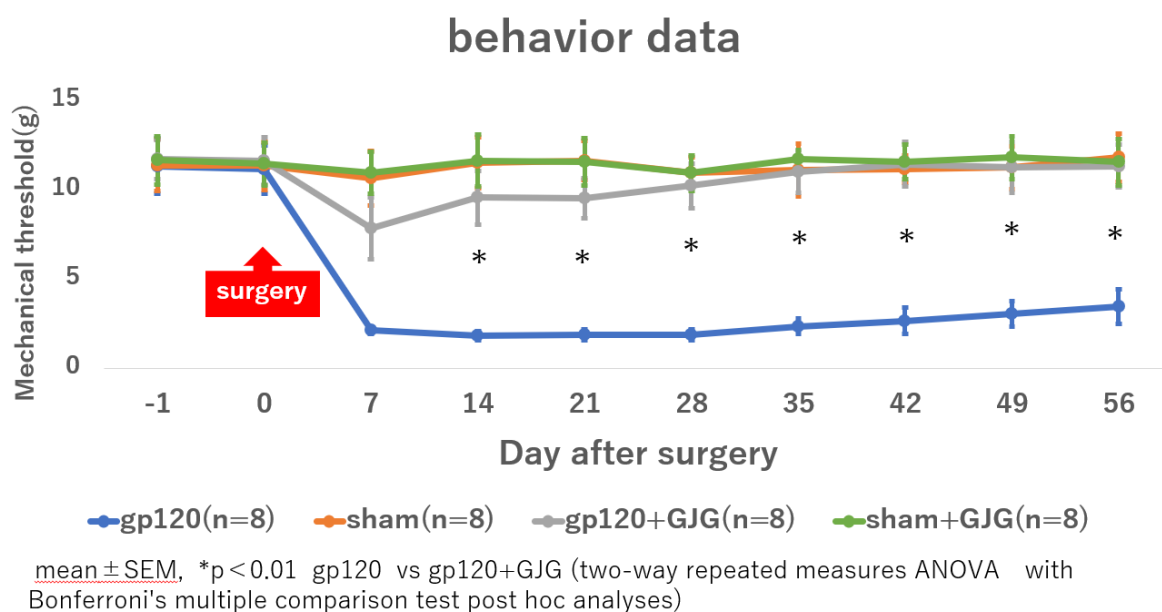


図 1. ラット HIV 関連神経障害性疼痛モデルに対する牛車腎気丸の効果

<引用文献>

- ① Anesth and Analg 2015;120:1394-404.
- ② Ann Neurol 2006;59:843-51.
- ③ Mol Pain 2014;10:61
- ④ PLoS One, 2013 Jun 27;8(6)

## 5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 1 件)

佐藤 泉、神田 恵、安濃 英里、小野寺 美子、神田 浩嗣、国沢 卓之  
HIV 関連神経障害性疼痛に対する牛車腎気丸の効果  
日本ペインクリニック学会 第 53 回大会、2019 年

## 6. 研究組織

(1) 研究協力者

研究協力者氏名：神田 恵

ローマ字氏名：(KANDA, megumi)

研究協力者氏名：神田 浩嗣

ローマ字氏名：(KANDA, hirotsugu)

研究協力者氏名：小野寺 美子

ローマ字氏名：(ONODERA, yoshiko)

研究協力者氏名：安濃 英里

ローマ字氏名：(ANNO, eri)

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。