

様式 C-19

科学研究費補助金研究成果報告書

平成 23 年 6 月 1 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20390418

研究課題名（和文）：悪性腫瘍化学療法による神経因性疼痛の神経科学基盤の解明

研究課題名（英文）：Clarification of mechanisms of antineoplastic drug-induced painful peripheral neuropathy in human patients with cancer

研究代表者

並木 昭義（NAMIKI AKIYOSHI）

札幌医科大学・名誉教授

研究者番号：00136954

研究成果の概要（和文）：

パクリタキセルは、がんの化学療法にしばしば用いられる抗がん剤であるが、痛みを伴った末梢神経障害を惹起しやすい薬剤としても知られている。しかしながらその発生機序は不明であり、治療に難渋する事も多い。われわれはパクリタキセルによる末梢神経障害発現機序におけるL-セリンを目的として研究した。その結果、パクリタキセルによる末梢神経障害は後根神経節細胞でのL-serineの産生低下が原因となっており、L-セリンによりその発症を予防することが可能であることが明らかとなった。この発見により新たな治療戦略が可能となる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：

Paclitaxel is one of the most commonly used antineoplastic drugs for the treatment of solid tumors. It is often associated with painful peripheral neuropathy. However, the mechanisms have been elucidated. In this study, we examined the involvement of L-serine in paclitaxel-induced peripheral neuropathy. This study suggests that a decrease in satellite cell-derived in the dorsal root ganglion contributed to paclitaxel-induced painful peripheral neuropathy. And intraperitoneal administration of L-serine improved both paclitaxel-induced mechanical allodynia/hyperalgesia. The findings of this study may lead to novel strategies for the treatment of paclitaxel-induced painful peripheral neuropathy in human patients with cancer.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	8,300,000	2,490,000	10,790,000
2009 年度	3,200,000	960,000	4,160,000
2010 年度	2,500,000	750,000	3,250,000
総計	14,000,000	4,200,000	18,200,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：悪性腫瘍，疼痛，化学療法，L-セリン

1. 研究開始当初の背景

がん治療の進歩に伴い、癌患者の生命予後が延長し、がん患者の生活の質 (Quality of life; QOL) の改善にも注意が向けられるようになってきた。パクリタキセル (タキソール[®]) は最も広く用いられている抗癌剤の一つであるが、その使用により痛みを伴う末梢神経障害を引き起こされることが知られている。しかしながらこの末梢神経障害の発症機序は未だ明らかになっておらず、効果的な治療法が存在しない。そのため末梢神経障害はパクリタキセル投与の用量規制因子となっており化学療法での減量や中止の原因となることも少なくない。その結果、患者の生命予後ならびに QOL の低下の原因となっている。

非必須アミノ酸の一種である L-セリンは蛋白質の構成成分となるだけでなく、ホスファチジル-L-セリンやスフィンゴ脂質、ヌクレオチド、そして神経調節因子の一つである D-セリンやグリシンの前駆体としても働き、神経の成長と機能においては必須の役割を果たしている。L-セリンの合成酵素である 3-phosphoglycerate dehydrogenase (3PGDH) はグリア細胞に局在し、神経細胞は L-セリンの供給をグリア細胞に依存している。

現在までパクリタキセルに誘起する末梢神経障害における L-セリンの役割については明らかになっていない。

2. 研究の目的

抗がん剤パクリタキセルによる誘起末梢神経障害動物モデルを用いて、抗がん剤による末梢神経障害発現機序における L-セリンの関与を解明する。

3. 研究の方法

Polomano らの方法に従い、6 週齢の雄性 SD ラットにパクリタキセル 2mg/kg を隔日で 4 日間腹腔内投与し、化学療法誘起末梢神経障害モデルを作成した。対照群には vehicle (50% Cremophor EL, 50% エタノール) を投与して以下の評価を行った。

1) 行動学的評価

von Frey filament (4g, 8g, 15g) 刺激に対する逃避行動回数を投与前日、投与終了後、その後 1 週間間隔で終了 5 週間後まで計測、

評価した。

2) 感覚神経伝導速度 (sensory nerve conduction velocity; SNCV) 測定

神経機能評価として尾部における感覚神経伝導速度 (SNCV) を、ペントバルビタール腹腔内投与による全身麻酔下に投与前日、投与終了後、その後 1 週間間隔で終了 5 週間後まで計測、評価した。

3) L-セリン濃度測定

ウレタン腹腔内投与により深麻酔状態にした後、断頭し速やかに坐骨神経・脊髄・後根神経節 (dorsal root ganglion; DRG) を採取し、高速液体クロマトグラフィー法を用いて L-セリンの組織内濃度を継時的に測定・記録した。

4) 3PGDH 発現量の測定

Western blot 法により DRG での 3PGDH の発現を継時的に測定した。また免疫染色法を用いて 3PGDH の局在を観察した。

5) L-セリン投与の影響

L-セリン (0.01・0.03・0.1 mmol/kg) をパクリタキセル投与開始日より投与終了 2 週間後まで連日腹腔内投与し、行動学的評価および SNCV 測定を行った。

また、DRG においては L-serine の合成酵素である 3-phosphoglycerate dehydrogenase (3PGDH) の発現もウエスタンブロット法を用いて測定した。

4. 研究成果

1) 行動学的評価

パクリタキセル投与群は vehicle 投与群と比較し、von Frey 刺激に対する逃避行動が有意に増加し、機械的アロディニア・感覚過敏状態を示した。これらはパクリタキセル投与終了 2 週間後に最大反応を示した。5 週間後には vehicle 群と同程度まで回復した。

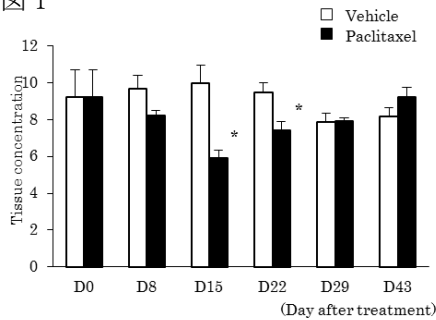
2) SNCV 測定

パクリタキセル投与群、vehicle 投与群ともに SNCV は成長に伴って増加した。パクリタキセル投与群は vehicle 投与群と比し有意に SNCV の低下が認められた。パクリタキセル投与終了 5 週間後には vehicle 群と同程度まで回復した。

3) L-セリン濃度

両群ともに脊髄・坐骨神経における L-セリン濃度は経過を通じて変化しなかったが、パクリタキセル投与群の DRG における L-セリン濃度は投与終了 1 週間後・2 週間後に vehicle 群と比し有意に減少した。3 週間後には vehicle 群と同程度まで回復した (図 1)。

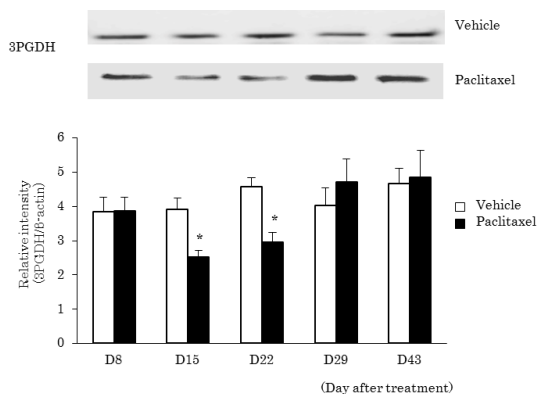
図 1



4) 3PGDH 発現量の変化

パクリタキセル投与群で L-セリンの濃度変化が DRG において観察されたため、DRG における 3PGDH 発現量を調査した。パクリタキセル投与群では投与終了 1 週間後・2 週間後に vehicle 群と比し有意に発現が減少した。投与終了 3 週間後には vehicle 群と同程度まで回復した。この変化は DRG における L-セリン濃度の変化と一致した (図 2)。

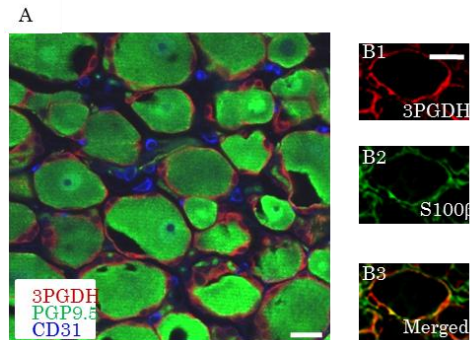
図 2



免疫染色法により 3PGDH の発現を観察したところ、DRG における 3PGDH の発現はニューロンを取り囲むように存在し、ニューロンと血管の間に存在している外套細胞に局在していた (図 3)。

- A. 赤: 3PGDH, 緑: PGP9.5 (ニューロン), 青: CD31 (血管)
 B. B1: 3PGDH, B2: S100β (外套細胞), B3: B1+B2

図 3



5) L-セリン投与の効果

L-セリン 0.1 mmol/kg の投与により vehicle 投与群と同程度まで機械刺激に対する逃避行動を減弱するとともに、SNCV を回復した。L-セリン 0.03 mmol/kg 投与ではパクリタキセル投与終了 2 週間後の von Frey 刺激 (4 g) に対する逃避行動を減弱させるとともに SNCV を回復した。L-セリン 0.01 mmol/kg 投与では機械刺激に対する逃避行動には影響を与えなかったが、パクリタキセル投与終了 2 週間後の SNCV を回復させた。

以上本研究では、パクリタキセル誘起末梢神経障害モデルにおいて L-セリン濃度が脊髄や坐骨神経ではなく DRG で低下すること、また DRG で外套細胞に局在している L-セリン合成酵素 3PGDH の発現が低下することを見出した。さらに L-セリン投与によりパクリタキセル投与による機械刺激に対するアロディニア・痛覚過敏、感覚神経伝導速度の低下を改善することを見出した。したがって、パクリタキセル誘起末梢神経障害の機序の一つとして外套細胞から末梢感覚神経細胞体への L-セリン供給低下が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

Kiya T, Kawamarta T, Namiki A, Yamakage M: Role of satellite cell-derived L-serine in dorsal root ganglion in paclitaxel-induced painful peripheral neuropathy. *Neuroscience* 2011; 174:190-199 (査読あり)

[学会発表] (計 1 件)

Kiya T, Kawamarta T, Yamakage M: Role of satellite cell-derived L-serine in dorsal root ganglion in paclitaxel-induced painful peripheral neuropathy. The 2010 ASA Annual Meeting, San Diego, USA. Oct.16-20, 2011.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

並木 昭義 (NAMIKI AKIYOSHI)
札幌医科大学・名誉教授
研究者番号：00136954

(2) 研究分担者

川股 知之 (KAWAMATA TOMOYUKI)
信州大学・医学部・准教授
研究者番号：80336388

木谷 友洋 (KIYA TOMOHIRO)
札幌医科大学・医学部・研究員
研究者番号：10438046

新山 幸俊 (NIIYAMA YUKITOSHI)
札幌医科大学・医学部・講師
研究者番号：90423764

澤田 敦史 (SAWADA ATSUSHI)
札幌医科大学・医学部・研究員
研究者番号：10551492