

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月1日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590242

研究課題名（和文）

がん治療における痛みと情動・ストレスに関する薬理学的研究

研究課題名（英文）

Pharmacological study on the association between pain and emotional stress in cancer chemotherapy

研究代表者

江頭伸昭（EGASHIRA NOBUAKI）

九州大学・大学病院・准教授

研究者番号：80352269

研究成果の概要（和文）：

動物実験において、ストレスの負荷は抗がん剤（オキサリプラチン）投与によって副作用として起こる末梢神経障害性疼痛を増強することが明らかとなった。つまり、がん患者における精神的な苦痛は抗がん剤治療による疼痛を増強することが動物レベルで証明された。また、抗うつ薬アミトリプチリンや向精神病薬トリフロペラジンは、抗がん剤による末梢神経障害の発現に関わる因子を抑制することにより、疼痛を抑制することが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

The emotional stress enhanced the peripheral neuropathic pain induced by oxaliplatin, a chemotherapeutic agent, in this study. Therefore, psychological pressure may enhance the anticancer drugs-induced pain in cancer patients. We also found that both antidepressant amitriptyline and antipsychotic drug trifluoperazine alleviate anticancer drugs-induced pain by the attenuation of factors related to the onset of neuropathic pain in animal model.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・薬理学一般

キーワード：ストレス・オキサリプラチン・末梢神経障害・機械的アロディニア

1. 研究開始当初の背景

がん治療において抗がん剤は欠かせない

ものである。しかし、抗がん剤の種類によっては、高頻度で末梢神経障害を引き起こす。この末梢神経障害は身体的苦痛から患者の

QOL を著しく低下させるだけではなく、がん治療の中止や他の治療法への変更を余儀なくさせることから、臨床上大きな問題となっている。しかし、その発現機序は明らかとなっておらず、有効な予防・治療法も国内外において確立されていない。

一方、がん患者不安やうつ症状、ストレスなどにより精神的な痛みを伴うことが多い。このようにがん患者では、がん治療による精神的な痛みと精神的な痛みを伴うため、包括的な痛みへの対応が非常に重要である。しかしながら、抗がん剤による身体的苦痛と情動・ストレスなどの精神的な痛みやその変化との関わりについては、ほとんど科学的な解明は行われていない。

2. 研究の目的

がん患者の痛みと情動・ストレスの関係を解明し、その機序に基づいた予防・治療策を確立する。

3. 研究の方法

(1) 抗がん剤オキサリプラチンによる末梢神経障害性疼痛を発現する動物モデルの作成

Sprague-Dawley 系ラットにオキサリプラチン (L-OHP) 2-4 mg/kg を週に 2 回、4 週間連続で腹腔内投与した。疼痛（機械的アロディニア）の評価には足裏にフィラメントを押し当て逃避反応閾値を測定する von Frey テストを用いた。また、低温知覚異常はラット足裏にアセトンを噴霧し 40 秒間の逃避反応回数を測定するアセトンテストで評価した。

(2) ストレスの負荷

① アイソレーションストレス負荷

ラットをアイソレーションケージにて 1 ヶ月間個別飼育し、ストレスを負荷した。

② 拘束ストレス負荷

ラットを金網にて 30 分または 120 分間拘束し、ストレスを負荷した。

③ ストレスの評価

ラットの鼻先に棒を差出した時の棒に対する攻撃性をストレススコアとして評価した。

(3) 抗うつ薬、抗精神病薬の疼痛抑制効果およびその機序に関する検討

アミトリプチリンはオキサリプラチンを投与開始すると同時に 1 日 1 回 5-10 mg/kg を 27 日間連続で経口投与した。また、トリフロペラジンは、オキサリプラチン反復投与後に疼痛が発現したラットに、0.05-0.3 mg/kg を単回経口投与した。

また、薬物投与後のラットの脊髄において CaMKII および NR2B に関してウエスタンブ

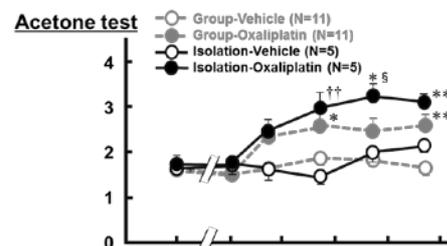
ロット、RT-PCR を用い、その発現量を解析した。

4. 研究成果

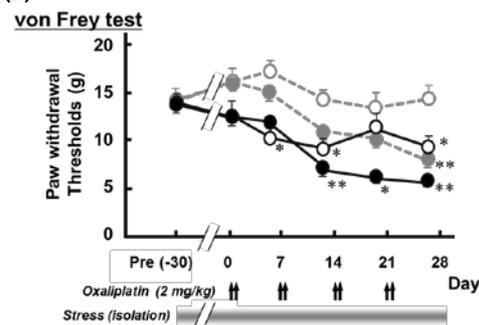
(1) ストレス負荷による抗がん剤末梢神経障害性疼痛の増強モデルの確立に関する検討

アイソレーションストレス負荷群において、オキサリプラチンによるアセトンテストでの逃避反応回数の増加および von Frey テストでの逃避反応閾値の低下がそれぞれ有意に増強していた (図 1)。

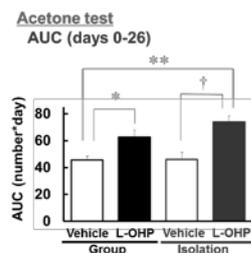
(A)



(B)



(C)



(D)

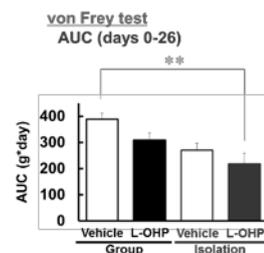


図 1. アイソレーションストレス負荷によるオキサリプラチン誘発末梢神経障害の増強

(A) アセトンテスト - 逃避反応回数, (B) von Frey テスト - 逃避反応閾値, (C) アセトンテスト - AUC (反応回数×日), (D) von Frey テスト - AUC (反応閾値×日)

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with Group-Vehicle

† $P < 0.05$, †† $P < 0.01$ compared with Isolation-Vehicle

§ $P < 0.05$ compared with Group-Oxaliplatin

また、ストレススコアはアイソレーションストレスを負荷した Vehicle 群と Oxaliplatin 群の間およびアイソレーション

ストレスを負荷していない Vehicle 群と Oxaliplatin 群の間で、それぞれ有意な変化は見られなかった (図 2)。

以上のことより、このモデルはストレス負荷により抗がん剤による疼痛が増強される一方で、抗がん剤による疼痛でストレス自体は増強しないモデルであると考察された。つまり、ストレス負荷により抗がん剤による疼痛が増強されるメカニズムを検討する上で有用なモデルであると言える。

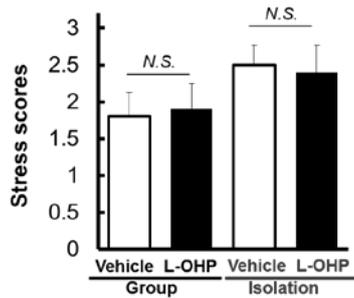


図 2. オキサリプラチン誘発末梢神経障害によるストレススコアの不変性

一方、抗がん剤により末梢神経障害が発現した後に、拘束ストレスを負荷する検討では、ストレス負荷による疼痛の増強は見られなかった (図 3)。

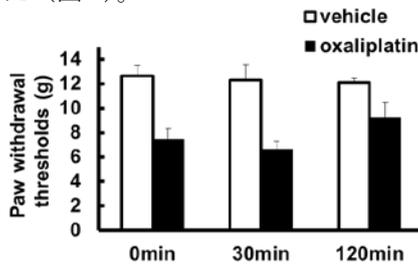


図 3. 拘束ストレス負荷 (神経障害発現後に 30 または 120 分負荷) によるオキサリプラチン誘発末梢神経障害 (von Frey テストにおける逃避反応閾値の低下) への影響

(2) 抗がん剤による末梢神経障害の発現機序に基づいた抗うつ薬および抗精神病薬の疼痛抑制効果

臨床現場において、抗がん剤投与による末梢神経障害性疼痛に対して、抗うつ薬や抗てんかん薬、抗精神病薬が用いられることがしばしばある。しかし、その作用機序は十分に解明されておらず、その効果についても基礎研究および臨床研究において十分には検討されていない。そこで、初めに抗がん剤、とくにオキサリプラチンによる疼痛の発現機

序を明らかとし、その発現機序に基づいた抗うつ薬や抗精神病薬の効果を検証した。

オキサリプラチンを反復投与し、機械的アロディニアが発現したラットでは、脊髄後角における NMDA 受容体 NR2B サブユニットの発現や CaMKII (カルモジュリンキナーゼ II) のリン酸化体が有意に上昇していた。また、NR2B サブユニット阻害薬である Ro25-6981 (300 nmol) や CaMKII 阻害薬 KN-93 (50 nmol) の髄腔内投与により一時的に改善された。

以上の結果より、慢性的なオキサリプラチン投与による疼痛には、NMDA 受容体 NR2B サブユニットの増加とその下流シグナルである CaMKII のリン酸化が重要であることが示された。

三環系抗うつ薬は、モノアミン再取り込み作用とは別に多面的な作用が知られている。NMDA 受容体にも作用することが知られており、一部の三環系抗うつ薬の連投が中枢神経系において NR2B サブユニットの発現を抑制することも報告されている。そこで、三環系抗うつ薬であるアミトリプチンを反復投与したところ、オキサリプラチンによる脊髄の NR2B サブユニットの発現増加が有意に抑制され、疼痛閾値の低下も有意に抑制された (図 4)。

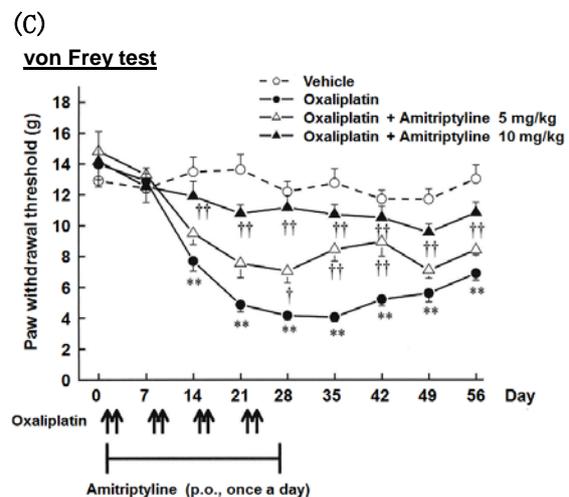
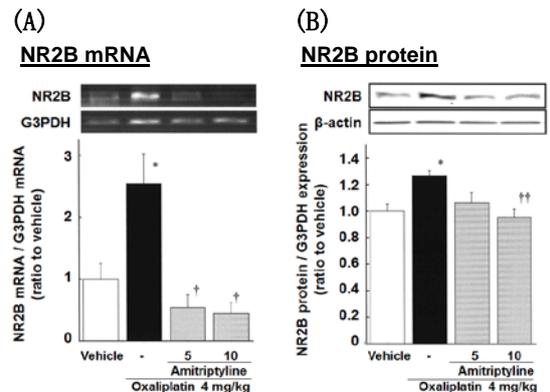


図4. アミトリプチリン反復投与によるオキサリプラチン誘発末梢神経障害の抑制

(A) NR2B mRNA - RT-PCR, (B) NR2B タンパク質 - ウェスタンブロット法, (C) von Frey テスト - 反応閾値
 ** $P < 0.01$ compared with Vehicle
 † $P < 0.05$, †† $P < 0.01$ compared with Oxaliplatin

また、抗精神病薬であるトリフロペラジンは CaMKII を活性化するのに必要な CaM を阻害する作用がある。オキサリプラチンにより疼痛を引き起こしたラットにトリフロペラジンを単回投与すると、脊髄における CaMKII のリン酸化が抑制され、疼痛も一時的に改善された (図5)。

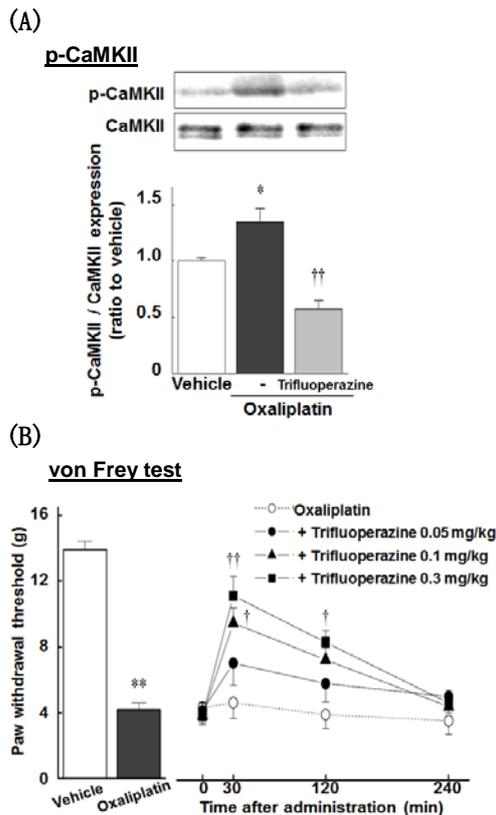


図5. トリフロペラジン単回投与によるオキサリプラチン誘発末梢神経障害の抑制

(A) リン酸化 CaMKII タンパク質 - ウェスタンブロット法, (B) von Frey テスト - 反応閾値
 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with Vehicle
 † $P < 0.05$, †† $P < 0.01$ compared with Oxaliplatin

以上、本研究の結果より、ラットにおいてアイソレーションストレス負荷により、抗がん剤の末梢神経障害性疼痛が増悪することが明らかとなった。これは臨床でがん患者の痛みがストレスや不安で悪化する事象を反映しており、この事象を解析する上で有用なモデルであると考えられる。また、抗うつ薬

アミトリプチリンおよび抗精神病薬トリフロペラジンは、オキサリプラチンによる疼痛の原因である脊髄の NR2B や CaMKII にそれぞれ作用し、疼痛を抑制することが明らかとなった。

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 11 件)

- (1) 江頭伸昭, 川尻雄大, 大石了三. オキサリプラチンによる末梢神経障害の発現機序と治療薬の基礎的エビデンス. 日本薬理学雑誌, 2013, 141:66-70. 査読有
- (2) Shirahama M, Ushio S, Egashira N, Yamamoto S, Sada H, Masuguchi K, Kawashiri T, Oishi R. Inhibition of Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II reverses oxaliplatin-induced mechanical allodynia in rats. *Mol Pain*. 2012, 8:26. 査読有, doi: 10.1186/1744-8069-8-26.
- (3) Tatsushima Y, Egashira N, Narishige Y, Fukui S, Kawashiri T, Yamauchi Y, Oishi R. Calcium channel blockers reduce oxaliplatin-induced acute neuropathy: a retrospective study of 69 male patients receiving modified FOLFOX6 therapy. *Biomed Pharmacother*. 2013, 67:39-42. 査読有, doi: 10.1016/j.biopha.2012.10.006.
- (4) Ushio S, Egashira N, Sada H, Kawashiri T, Shirahama M, Masuguchi K, Oishi R. Goshajinkigan reduces oxaliplatin-induced peripheral neuropathy without affecting anti-tumour efficacy in rodents. *Eur J Cancer*. 2012, 48:1407-1413. 査読有, doi: 10.1016/j.ejca.2011.08.009.
- (5) Kawashiri T, Egashira N, Kurobe K, Tsutsumi K, Yamashita Y, Ushio S, Yano T, Oishi R. L type Ca^{2+} channel blockers prevent oxaliplatin-induced cold hyperalgesia and TRPM8 overexpression in rats. *Mol Pain*. 2012, 8:7. 査読有, doi: 10.1186/1744-8069-8-7.
- (6) Sada H, Egashira N, Ushio S, Kawashiri T, Shirahama M, Oishi R. Repeated

administration of amitriptyline reduces oxaliplatin-induced mechanical allodynia in rats. *J Pharmacol Sci.* 2012, 118:547-551. 査読有.

- (7) Yamashita Y, Egashira N, Masuguchi K, Ushio S, Kawashiri T, Oishi R. Comparison of peripheral neuropathy induced by standard and nanoparticle albumin-bound paclitaxel in rats. *J Pharmacol Sci.* 2011, 117:116-120. 査読有.
- (8) Mihara Y, Egashira N, Sada H, Kawashiri T, Ushio S, Yano T, Ikesue H, Oishi R. Involvement of spinal NR2B-containing NMDA receptors in oxaliplatin-induced mechanical allodynia in rats. *Mol Pain.* 2011, 7:8. 査読有, doi: 10.1186/1744-8069-7-8.
- (9) 江頭伸昭, 川尻雄大, 大石了三. 抗がん剤による末梢神経障害の治療薬の現状. *日本薬理学雑誌.* 2010, 136:275-279, 査読有.
- (10) Egashira N, Hirakawa S, Kawashiri T, Yano T, Ikesue H, Oishi R. Mexiletine reverses oxaliplatin-induced neuropathic pain in rats. *J Pharmacol Sci.* 2010, 112:473-476. 査読有.
- (11) Kawashiri T, Egashira N, Watanabe H, Ikegami Y, Hirakawa S, Mihara Y, Yano T, Ikesue H, Oishi R. Prevention of oxaliplatin-induced mechanical allodynia and neurodegeneration by neurotrophin in the rat model. *Eur J Pain.* 2011, 15:344-350. 査読有, doi: 10.1016/j.ejpain.2010.08.006.

[学会発表] (計 13 件)

- (1) 牛尾聡一郎, 江頭伸昭, 堤国章, 川尻雄大, 大石了三. オキサリプラチンによる末梢神経障害に対する牛車腎気丸の効果に関する基礎的エビデンス, 第 86 回日本薬理学会年会, 福岡, 2013 年 3 月
- (2) 堤国章, 山下祐二, 川尻雄大, 江頭伸昭, 要幸典, 牛尾聡一郎, 大石了三. オキサリプラチン誘発末梢神経障害における坐骨神経の髄鞘形成障害と Neuregulin 1 の発現低下の関与, 第 65 回日本薬理学会西南部会, 熊本, 2012 年 11 月

- (3) 益口賢, 江頭伸昭, 渡部仁美, 川尻雄大, 牛尾聡一郎, 小澤奈々, 森田春香, 大石了三. オキサリプラチン誘発末梢神経障害に対するノイロトロピン単回投与の改善機序の解明, 第 65 回日本薬理学会年会西南部会, 熊本, 2012 年 11 月
- (4) 牛尾聡一郎, 江頭伸昭, 白濱雅史, 山本将大, 益口賢, 佐田光, 川尻雄大, 大石了三. CaMK II 阻害によるオキサリプラチン誘発機械的アロディニアの抑制効果, 第 85 回日本薬理学会年会, 京都, 2012 年 3 月
- (5) 江頭伸昭, 川尻雄大, 大石了三. オキサリプラチンによる末梢神経障害の発現機序と治療薬の基礎的エビデンス, 第 85 回日本薬理学会年会, 京都, 2012 年 3 月
- (6) 白濱雅史, 江頭伸昭, 牛尾聡一郎, 佐田光, 川尻雄大, 山本将大, 益口賢, 大石了三. オキサリプラチン誘発機械的アロディニアにおける CaMK II の関与, 第 64 回日本薬理学会西南部会, 福岡, 2011 年 11 月
- (7) 川尻雄大, 辰島瑤子, 江頭伸昭, 大石了三. 抗がん剤による末梢神経障害の発現機序と対応策, 第 84 回日本薬理学会年会, 誌上開催, 2011 年 3 月
- (8) 黒部健太郎, 川尻雄大, 江頭伸昭, 山下祐二, 堤国章, 矢野貴久, 池末裕明, 大石了三. オキサリプラチン誘発低温知覚異常における Ca²⁺チャネル/NFAT 経路を介した TRPM8 活性化の関与, 第 84 回日本薬理学会年会, 誌上開催, 2011 年 3 月
- (9) 渡部仁美, 川尻雄大, 江頭伸昭, 益口賢, 辰島瑤子, 矢野貴久, 池末裕明, 大石了三. オキサリプラチン誘発末梢神経障害に対するノイロトロピンの鎮痛作用とノルアドレナリン, セロトニンの関与, 第 84 回日本薬理学会年会, 誌上開催, 2011 年 3 月
- (10) 佐田光, 江頭伸昭, 三原由記, 川尻雄大, 牛尾聡一郎, 白濱雅史, 矢野貴久, 池末裕明, 大石了三. オキサリプラチン誘発末梢神経障害に対する NR2B 拮抗薬とアミトリプチリンの効果, 第 84 回日本薬理学会年会, 誌上開催, 2011 年 3 月
- (11) 江頭伸昭, 川尻雄大, 大石了三. 抗がん剤による末梢神経障害の発現機序と対

策, 第 4 回日本緩和医療薬学会年会,
鹿児島, 2010 年 9 月

(12) 川尻雄大, 江頭伸昭, 三原由記, 佐田光,
矢野貴久, 池末裕明, 大石了三. オキサ
リプラチン誘発末梢神経障害ラットモ
デルにおける NMDA 受容体の関与, 第 4
回日本緩和医療薬学会年会, 鹿児島,
2010 年 9 月

(13) Egashira N, Kawashiri T, Watanabe H,
Ikegami Y, Yanao T, Ikesue H, Oishi R.
Neurotropin relieves the oxaliplatin-
induced peripheral neuropathy by
inhibiting neurodegeneration. World
Pharma 2010 (16th World Congress on
Basic and Clinical Pharmacology),
Copenhagen, 2010 年 7 月

6. 研究組織

(1) 研究代表者

江頭 伸昭 (EGASHIRA NOBUAKI)
九州大学・大学病院・准教授
研究者番号: 80352269

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし