

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25460908

研究課題名(和文) タキサン系抗癌剤による末梢神経障害性疼痛の予防・治療法の開発

研究課題名(英文) Development of prevention and treatment of peripheral neuropathic pain due to taxane-based anticancer agent

研究代表者

上野 博司 (Ueno, Hiroshi)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：20381965

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：パクリタキセルによる神経障害性疼痛のモデル動物の作成に難渋したため、神経学的に類似した糖尿病性神経障害性痛モデルの解析を中心に行った。ストレプトゾトシン投与による糖尿病モデルをラットおよびマウスに作成、ストレプトゾトシン投与後に機械刺激に対して逃避反応を示す閾値の低下が認められ、痛覚過敏が生じることが示された。小胞体ストレスマーカーであるGRP78の発現は上昇する傾向を示したが、GRP78およびCHOPの遺伝子発現は不変または減少する傾向があり、一定の結論は得られなかった。また、臨床データではタキサン系薬剤の末梢神経障害のしびれと痛みにはデュロキセチンの効果が弱いことが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：We could not establish stable animal model for the paclitaxel-induced neuropathic pain. We therefore focused on the establishment of the animal model for the diabetic neuropathy and analysis of functional alteration of the primary afferent neurons. We confirmed increase in the blood glucose level in streptozotocin-treated animals. Behavior experiments using von Frey filament showed reduction of mechanical threshold 2-3 weeks after the streptozotocin treatment. We investigated the expression of ER stress marker GRP78 and CHOP after the streptozotocin treatment. While immunohistochemistry against GRP78 slightly increased after the treatment, real time PCR could not demonstrate increase of GRP78 and CHOP mRNA after the streptozotocin treatment. On the other hand, we confirmed that duloxetine was not so effective for pain and numbness due to taxanes-induced peripheral neuropathy in our patient data.

研究分野：緩和医療学

キーワード：神経障害性疼痛 末梢神経障害 タキサン系抗癌剤 化学療法 鎮痛補助薬 光線療法 糖尿病性神経障害 小胞体ストレス

## 1. 研究開始当初の背景

癌に伴う疼痛は患者の QOL を低下させるばかりでなく、患者の免疫能を低下させ癌治療に悪影響をおよぼす。

癌患者の疼痛は、癌自体が原因となるもの（癌の浸潤、転移によるものも含む）、癌の治療が原因となるもの（手術、放射線療法、化学療法によるもの）、癌と無関係な疼痛（主に既往疾患によるもの）の3つに分類されて論じられることが多い。

癌自体が原因となるものに関しては、WHO による3段階ラダーによる疼痛治療指針に基づいてNSAIDs、麻薬性鎮痛薬が使用され、侵害受容性疼痛の多くはコントロールが可能となる。しかし、癌の神経浸潤や中枢神経・脊髄への転移は、難治性の神経障害性疼痛を生じさせる。そのメカニズムとしては癌の神経への直接浸潤による機械的刺激のほか、腫瘍細胞由来の生理活性物質の神経への作用、COX-2 依存性プロスタグランジンや神経成長因子による末梢神経への TRPV1 の発現が考えられている。麻薬性鎮痛薬ではほとんど除痛が得られず、鎮痛補助薬を使用しても満足のいく疼痛コントロールが得られないのが現状である。

癌の治療が原因となるものに関しては、癌治療を支援するサポータティブケアとして最近その重要性が高まっている。個々の疼痛に応じて薬物療法、神経ブロック等を併用して対応するが、特に抗癌剤による末梢神経障害は深刻である。症状が重篤になれば治療の継続が不可になる場合あり、患者の QOL と予後を著しく低下させる。末梢神経障害を来す抗癌剤は多数あるが、中でも植物アルカロイドのタキサン系薬剤（パクリタキセル、ドセタキセル）での頻度が高い。末梢神経障害の症状は主として四肢末梢のしびれ、知覚低下、持続痛である。神経学的には、侵害冷刺激閾値の上昇、触・機械刺激受容の低下、神経伝達速度の遅延、複合活動電位の減少が認められる。患者の具体的な主訴としては、四肢末梢の持続的なしびれ・疼痛によって、字が書けない、箸・スプーン・フォークが使えない、靴を履いている感覚がなく歩行に際して違和感が強いなどが挙げられる。これら末梢神経障害性疼痛は治療抵抗性であり難治性となる症例が多い。臨床的には抗癌剤の投与量に比例して症状が増悪するという報告もある。現状では症状緩和のために IASP、日本ペインクリニック学会の神経障害性疼痛薬物療法ガイドラインに沿って鎮痛補助薬を使用することになるが、症状コントロールに難渋することが多い。この分野の研究は米国では 1990 年代から行われており、臨床的にも様々な薬剤に対する臨床試験が行われているが、決定的な治療薬の開発には至っていない。また、欧米諸国に比べても日本は癌患者

全体に占める化学療法の割合が非常に高く、根治目的のみならず症状緩和目的にも化学療法が行われているのが現状である。そのため、化学療法の副作用緩和は必須命題である。癌患者が増加の一途をたどる現在では、抗癌剤による末梢神経障害は早急に解決策が必要となっている。上述のように、癌患者の抱える痛みのうち、神経障害性疼痛は難治性であり、有効な治療手段がないのが現状である。癌患者の増加とともに緩和医療の必要性が認識され、様々な側面から患者の QOL を改善する試みがなされているが、その中でも疼痛緩和は大きなウエイトを占めている。本研究の目的は癌患者の抱える神経障害性疼痛のうち、タキサン系薬剤による末梢神経障害を実際に臨床使用できる薬物により予防・治療する手法の開発である。

タキサン系抗癌剤による末梢神経障害性疼痛の予防法・治療法の開発は、ペインクリニック・緩和医療の分野において必須命題である。動物実験を行い基礎的なメカニズムを解析することも重要ではあるが、その結果をもとに新薬が開発され、さらに治験を経て、臨床現場で実際に使用できるようになるまでにはかなりの時間を要する。現在、既に抗癌剤による末梢神経障害性疼痛に苦しんでいる患者にできるだけ早く還元できる方法を考えなくてはならない。この条件を満たすためには、現在臨床使用できる薬剤の効果を検証するのが、最速の方法であると考えられる。Bennett らによって開発されたラットのパクリタキセルによる末梢神経障害モデルを用いて、末梢神経障害性疼痛に改善効果が高いと考えられる上記の薬剤の効果を検証し、その結果を受けて臨床でのトライアルを行うことが本研究の大きな流れである。この研究の特色は、これまで海外で行われた臨床試験と異なり、効果が期待できる薬剤を、各抗癌剤による治療の開始前もしくは開始時より予防的に投与することである。また、効果予測となる動物実験も短時間で結果を出せるよう、確立されたモデルと解析法を用いた内容としたことも本研究の特徴である。予測される結果としては、動物実験の段階で末梢神経障害性疼痛予防効果の高い薬剤がリストアップされるので、臨床トライアルもスムーズに実施できる。臨床症例の選択も末梢神経障害の発症リスクの高い症例を対象とするため、有効性を検討する価値が高い。その結果、末梢神経障害性疼痛予防・治療のためのスタンダード薬剤と投与方法（タイミング、投与量）が決定できる。つまり研究終了時には、実際に予防・治療法が確立できることが、本研究の大きな意義である。

## 2. 研究の目的

(1) 薬剤誘発性末梢神経障害性疼痛モデルを作成し、痛覚過敏状態を行動解析法によって明らかにする。

(2) モデル動物から末梢知覚神経・後根神経節・脊髄を採取し、形態学的解析を行う。  
 (3) 現在臨床使用できる鎮痛補助薬のうち、IASP のガイドラインにおいて神経障害性疼痛に治療効果が高いとされる抗けいれん薬 (プレガバリン、ガバペンチン)、抗うつ薬 (アミトリプチリン、デュロキセチン)、各種オピオイド (モルヒネ、オキシコドン、フェンタニル) また、実際に有効性が報告されている塩化リチウム、カンナビノイドについて、モデル作成前 (前投与)、モデル作成時 (同時投与) に投与し、行動解析上痛覚過敏が予防・緩和されるか、組織形態的に末梢神経障害が抑制されるかを検討する。  
 (4) タキサン系抗癌剤を使用した過去症例データの多変量解析によって、末梢神経障害性疼痛の発症危険因子の抽出を行い、予防法開発の一助とする。  
 (5) 動物モデルの解析で有効性が確認された薬剤を、タキサン系抗癌剤を使用予定で、かつ末梢神経障害の危険性が高い患者に対して、十分なインフォームド・コンセントを得た後、臨床で実際に使用し、前向き研究でその有効性の検討を行う。

### 3. 研究の方法

雄性 SD ラット (200g) および ICR マウス (25g) を実験に用いた。

#### (1) 行動解析

von Frey フィラメントを使用し、ラット、マウス足底部に与えた機械的な刺激に対する逃避行動を観察し、逃避行動を引き起こすために必要な刺激の強さを決定する手法を用いて痛覚閾値の測定を行った。

#### (2) モデル作成

パクリタキセルをラットおよびマウスに投与し、行動解析を行って痛覚閾値を測定した。また、同様に代謝性近く神経障害を引き起こす糖尿病性神経障害に着目し、ストレプトゾトシン (STZ) 投与による糖尿病モデルをラットおよびマウスに作成した。STZ は齧歯類に投与することで膵ランゲルハンス細胞を破壊し、1 型糖尿病に類似した高血糖・低インスリン血症を誘発する薬剤である。

#### (3) 免疫組織化学

STZ マウスとコントロールマウスをセボフルラン深麻酔下に灌流した。第 4、第 5 腰髄神経の後根神経節 (Dorsal root ganglion; DRG) を採取し、ホルマリンによる固定を行った。シュクロースに置換後、凍結切片 (10 $\mu$ m) をクライオスタットにより作成した。作成した切片を用いて免疫組織化学を行った。一次抗体として NeuN、TRPV1、IB4、CGRP、GRP78 など、神経細胞や痛覚受容ニューロンのマーカー、そして小胞体ストレスマーカーに対する抗体を用いた。二次抗体には蛍光標識二次抗体を反応させ、蛍光顕微鏡で切片を観察、デジタルカメラで組織写真を撮影した。

#### (4) 鎮痛薬の投与

STZ マウスとコントロールマウスに対して塩酸モルヒネの投与を行った。投与経路としては髄腔内投与を検討し、髄腔内カテーテルの留置を試みたが、カテーテル留置後の下肢の運動障害を認めたため全身投与を行うこととした。

モルヒネを腹腔内投与し、投与前後の痛覚閾値を測定、モルヒネの鎮痛効果を評価した。

#### (5) リアルタイム PCR

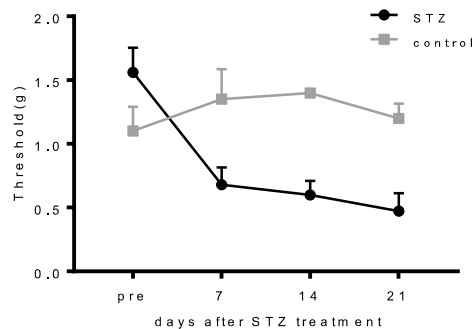
小胞体ストレスマーカーである GRP78、CHOP の発現をリアルタイム PCR 法で調査した。STZ を投与したラットおよびコントロールラットから第 4 第 5 腰髄の DRG を採取、mRNA を抽出した。mRNA を鋳型として逆転写酵素により cDNA を作成、これをもとに CybrGreen PCR master mixture キットを用いてリアルタイム PCR を行った。

### 4. 研究成果

パクリタキセルをマウスに投与し、行動解析を行って痛覚閾値を測定したが、我々の実験系では十分な痛覚閾値の低下を認めなかった。

一方、STZ 投与による糖尿病の誘発については、STZ (5mg/Kg) の腹腔内投与を行った後、血液を採取し血糖を測定したところ、投与したラット・マウスにおいて血糖値の優位な上昇を認め、8 割程度の動物では血糖値が 400mg/dl を超えることが確認できた。

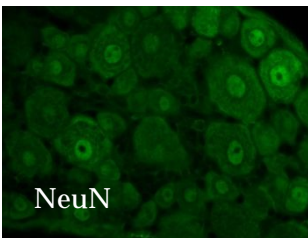
次に、STZ 投与前後における痛覚閾値の変化を評価するため、von Frey 刺激による機械刺激に対する逃避反応を観察した。STZ 投与後



図：STZ 投与後の痛覚閾値の低下

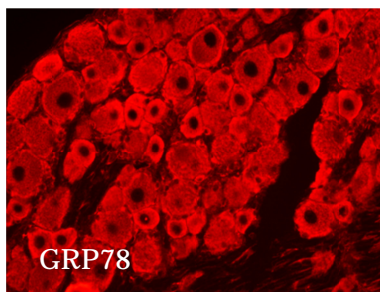
2~3 週で痛覚閾値が低下することを観察した。痛覚閾値の低下は、少なくとも投与後 5 週間は持続した。

STZ で誘発された痛覚過敏状態において、一次知覚神経にどのような変化が生じているかを調査するため、免疫組織化学を行った。知覚神経のマーカーである NeuN、疼痛ニューロンのマーカーである TRPV1 および IB4 で染色したところ、



NeuN

STZ マウスにおける知覚神経数はコントロールに比べて有意な変化を示さな



った。また、高血糖や抗がん剤は神経細胞に対し小胞体ストレスを引き起こすことが示さ

れている。そこで我々は、高血糖状態における痛覚過敏と一次知覚神経における小胞体ストレスの関係を調査した。GRP78 の発現は上昇する傾向を示した。一方、リアルタイムPCRによるGRP78およびCHOPの遺伝子発現は不変または減少する傾向があり、一定の結論を得ることができなかった。

また、STZ モデルマウスに対して塩酸モルヒネの腹腔内投与を行い、投与前後に行動解析を行ったが、マウス間の痛覚閾値にばらつきが大きく、モルヒネの痛覚過敏緩和効果の有無について一定の結論を得るには至らなかった。

一方、動物実験に難渋したため、並行して、臨床データで化学療法による末梢神経障害を生じた患者で、現在最も効果があるとされるデュロキセチンを使用した患者のデータを収集し、後方視的に検討を行った。検討内容としては、末梢神経障害の原因薬剤、患者の年齢、性別、身長、体重、BMI、糖尿病の既往の有無、症状(しびれ、痛み、両者)、症状発現部位、デュロキセチンの投与量、併用治療薬とその効果などである。

その結果、原因薬剤では、パクリタキセル、シスプラチン、オキサリプラチン、ドセタキセル、ピンクリスチン、ボルテゾミブの順に患者が多く、前2者の薬剤で70%以上を占めた。

また、しびれ・痛みの症状はいずれも約半数で上下肢両方に生じていた。

また、約3割の患者で、プレガバリン/ガバペンチン、約2割の患者で牛車腎気丸、オピオイド鎮痛薬が併用されていた。

デュロキセチンは約38%の患者で末梢神経障害の症状を緩和する効果を認めたが、タキサン系薬剤での末梢神経障害では効果が弱かった。また、デュロキセチンと併用薬を使用することで、有効な症状緩和効果が得られるという結論には至らなかった。

今後、化学療法誘発性神経障害の症状の予防・緩和に有効な薬剤の特定・開発を進めるためには、さらに動物実験による神経障害、痛み、しびれの発症メカニズムを解明が必要である。

<参考文献>

Smith EM, Pang H, Cirrincione C, Fleishman S, Paskett ED, Ahles T, Bressler LR, Fadul CE, Knox C, Le-Lindqwister N, Gilman PB, Shapiro CL; Alliance for Clinical Trials in Oncology. Effect of duloxetine on pain, function, and quality of life among patients with chemotherapy-induced painful peripheral neuropathy: a randomized clinical trial. JAMA. 2013 Apr 3;309(13):1359-67. DOI:10.1001/jama.2013.2813.

## 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6件)

Kanbayashi Y, Matsumoto Y, Kuroda J, Kobayashi T, Horiike S, Hosokawa T, Taniwaki M. Predicting risk factors for varicella zoster virus infection and postherpetic neuralgia after hematopoietic cell transplantation using ordered logistic regression analysis. Ann Hematol. 2017;96(2):311-315. (査読有) DOI:10.1007/s00277-016-2883-8.

Kanbayashi Y, Hosokawa T. Predictors of the Usefulness of Corticosteroids for Cancer-Related Fatigue in End-of-Life Patients. Clin Drug Investig. 2017;37(4):387-392. (査読有) DOI: 10.1007/s40261-017-0493-4.

上野博司、藤本早和子、細川豊史、緩和ケアとインフォームドコンセント、京都府立医科大学雑誌、査読有、125巻、2016、549-557 <http://www.f.kpu-m.ac.jp/k/jkpum/pdf/125/125-8/ueno12508.pdf>

Amaya F, Hosokawa T, et al. Can acute pain treatment reduce postsurgical comorbidity after breast cancer surgery?

A literature review. Biomed Res Int.

2015;2015:641508. (査読有)

DOI:10.1155/2015/641508

Fukazawa K, Matsuki Y, Ueno H, Hosokawa I, Hirose M. Risk factors related to accidental intravascular injection during caudal anesthesia. J Anesth.

2014;28(6):940-3. (査読有)

DOI: 10.1007/s00540-014-1840-8

上野博司、深澤圭太、細川豊史ほか、糖尿病性神経障害に対する低反応レベルレーザー照射治療の効果、日本レーザー医学会誌、査読有、34巻、2014、406-412

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jslsm/34/4/34\\_406/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jslsm/34/4/34_406/_pdf)

〔学会発表〕(計5件)

上野博司、細川豊史、緩和ケア病棟・チームでの麻酔科医としての活躍、シンポジウム緩和医療：麻酔科医ができること・求められること、日本麻酔科学会第63回学術集会、2016.5.28.福岡国際会議場(福岡県・福岡市)

上野博司、がん疼痛に対する薬物療法 持続痛～WHO方式がん疼痛治療法を使いこなす～、日本臨床麻酔学会第35回大会、2015.10.23.パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

上野博司、オールペインクリニックで運営する緩和ケア病棟、日本ペインクリニック学会第49回大会、2015.7.25.グランフロント大阪(大阪府・大阪市)

上野博司、エピドラスコピーの現状と今後の展望、シンポジウム：難治性腰下肢痛に対する低侵襲治療の今、第44回日本ペインクリニック学会関西支部学術集会、2014.6.7.大阪国際交流センター(大阪府・大阪市)

上野博司、肩関節手術の麻酔と術後疼痛管理、第40回日本肩関節学会、2013.9.28.ウエスティン都ホテル京都(京都府・京都市)

〔図書〕(計2件)

森崎浩 編、上野博司(分担著) 秀潤社、麻酔科学文献レビュー2015～2016、2015、239

細川豊史 編、上野博司(分担著) 医薬ジャーナル社、慢性疼痛治療～現場で役立つオピオイド鎮痛薬の必須知識～、2015、275

〔産業財産権〕

該当なし

〔その他〕

該当なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

上野 博司 (UENO, Hiroshi)

京都府立医科大学医学研究科・講師

研究者番号：20381965

(2)研究分担者

細川 豊史 (HOSOKAWA, Toyoshi)

京都府立医科大学医学研究科・教授

研究者番号：80165555

(3)連携研究者

該当なし

(4)研究協力者

該当なし