

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：82606

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25860432

研究課題名(和文) がんによる神経障害性疼痛の病態生理の解析と治療薬の探索：腹膜播種モデルを用いて

研究課題名(英文) Tumor-induced neural plasticity on the parietal peritoneum in a mouse model of peritoneal dissemination

## 研究代表者

鈴木 雅美 (Suzuki, Masami)

国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・研究員

研究者番号：80434182

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：がんによる神経障害性痛は、腫瘍が脊椎や神経を圧迫・浸潤することにより引き起こされる。この痛みは既存の鎮痛薬が効きにくいことが知られている。本研究では、がんによる神経障害の病態生理を明らかにし、新たな鎮痛薬の探索を行った。神経を可視化することができる遺伝子組換えマウスを用いて膀胱癌の腹膜播種疼痛モデルを作製し、癌と神経の相互作用を解析したところ、癌によるシュワン細胞の脱分化が認められた。そこでシュワン細胞の脱分化を阻害する薬剤を処置したところ、痛みの軽減が認められた。これらのことから、がんによる神経障害性痛に対し、シュワン細胞の脱分化を阻害する薬剤が有用である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Patients with tumors involving bone destruction and nerve damage are particularly likely to experience severe pain. Although guidelines for pain management are available, the routine use of this treatment does not always alleviate this kind of pain. In this study, I developed a mouse model for abdominal pain caused by cancerous peritonitis using SOX10-Venus transgenic mice. Invaded tumor cells directly disrupt Venus-positive (Schwann cells) nerve fibers on the parietal peritoneum. Venus-positive nerve fibers under the tumor nodule express p75, the immature Schwann cell marker, suggesting that Schwann cells were dedifferentiated into immature Schwann cells by tumor-induced nerve injury. c-Jun is a negative regulator of myelination. Treatment of c-jun inhibitor produced a significant reduction in the abdominal pain-like behavior under peritoneal carcinomatosis. These findings suggest that blockade of dedifferentiation of Schwann cells may be useful for the treating this type of pain.

研究分野：薬理学

キーワード：痛み がん 神経障害

### 1. 研究開始当初の背景

がんに伴う神経障害性痛は、腫瘍が脊椎や末梢神経へ圧迫・浸潤することにより生じる痛みであり、この痛みは既存の鎮痛薬が効きにくいことが知られている。これまで、臨床と基礎をつなぐ腹膜播種の痛みの橋渡し研究として、胃がんの腹膜播種モデルを用いて疼痛評価を確立し、腹膜播種病態下では、脊髄後根神経節のオピオイド受容体の発現が減少しているため、モルヒネが効きにくいことを明らかにした。しかしながらその痛みの発現メカニズムはまだ明らかにできていない。

### 2. 研究の目的

本研究では、神経を可視化することができる SOX10-Venus 遺伝子組換え動物 (SOX10 は末梢神経では主にシュワン細胞に発現する) を用いてがんの腹膜播種疼痛モデルを作製し、がんによる神経障害の病態生理を明らかにし、難治性疼痛の治療薬開発の基盤データを蓄積することを目的とした。

### 3. 研究の方法

腹膜播種疼痛モデルは、マウス膵臓癌細胞 Pan02 細胞を SOX10-Venus マウスの腹腔内移植することにより作製した。がんによる神経障害の病態生理の解析は、がんと神経が直接接する部位の凍結切片を作製し、未分化型シュワン細胞のマーカである p75 の特異的抗体を用いて免疫組織染色を行い解析した。成熟型シュワン細胞は、脱分化すると未分化型シュワン細胞のマーカである glial fibrillary acidic protein (GFAP) を発現する。そこで GFAP の発現増加に連動して化学発光する GFAP-Luc マウスを用いて、腹膜播種モデルを作製し、がんによるシュワン細胞の脱分化を GFAP の発現を指標として解析した。がん細胞とシュワン細胞の相互作用を確認する目的で、神経 (PC12 細胞) ・

シュワン細胞 (IFRS1 細胞) / 癌細胞 (CAPAN1 細胞) の共培養系を確立し、動物モデルでみられた現象について検証を行った。

### 4. 研究成果

マウス膵癌細胞株である Pan02 細胞を腹腔内移植し、うずくまり行動を指標とする疼痛評価を行ったところ、対照群と比較して移植後 3 週目において有意な疼痛行動が認められ、Pan02 細胞を用いた腹膜播種疼痛モデルを確立した。そこで神経ネットワークを可視化することができる SOX10-Venus マウスに同様の移植を行い、蛍光顕微鏡下で観察したところ壁側腹膜ならびに後腹膜の一部の結節において、神経線維が腫瘍に連結するように走行していることを明らかにした。さらに壁側腹膜に生着したがん結節と神経が直接接する部分の凍結切片を作製し詳細に観察したところ、正常動物では薄い一層の中皮細胞に沿ってほぼまっすぐに神経線維は走行しているのに対し、がん結節の直下では神経の形態変化が認められ、一部のシュワン細胞が腫瘍内へと遊走していた。一般に末梢神経の髄鞘を形成するシュワン細胞は、神経損傷により脱分化し、未分化型シュワン細胞マーカーである p75 や中枢神経系のアストロサイトの特異的マーカーである GFAP を発現する。そこで、これらの特異的抗体を用いて免疫組織染色を行ったところ、Venus 陽性線維上に p75 と GFAP の共局在が認められた。さらにこれらの現象を *in vitro* で検証する目的で、神経・シュワン細胞/癌細胞の共培養系を作製し、シュワン細胞における p75 の発現について免疫染色法で確認した。その結果、癌細胞が接するシュワン細胞においてのみ、p75 の陽性反応が認められ、*in vitro* でも癌によりシュワン細胞が脱分化する可能性が示唆された。次に GFAP の発現増加に連動して化学発光する GFAP-Luc マウスを用いて同様の方法でモデルを作製し、

吸入麻酔下にて in vivo 生体観察システムで解析したところ、壁側腹膜、後腹膜および腸管膜と腹腔内の広い範囲で著しい化学発光が認められた。シュワン細胞の脱分化には c-jun N-terminal kinase の活性化が関与することが知られている。そこでシュワン細胞の脱分化を抑制する薬剤を、移植後1週目より2週間投与し、がんの腹膜播種による痛みに対する効果を解析したところ、対照群と比較して、薬剤処置群において有意な痛みの改善が認められた。以上のことから、腹膜播種疼痛下では、腹腔内の広範囲でシュワン細胞の脱分化を伴った神経障害が引き起こされていることが明らかとなり、こういった現象ががんの腹膜播種による痛みの発現に関与している可能性が示唆された。

#### 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9件)

上園保仁, 鈴木雅美, 白石成二, オピオイドの効きにくいがん疼痛について: 動物実験で得られたデータを基に. ペインクリニック, 査読無, 2014, 35:1537-1546.

Suzuki M, Chiwaki F, Sawada Y, Ashikawa M, Aoyagi K, Fujita T, Yanagihara K, Komatsu M, Narita M, Suzuki T, Nagase H, Kushima R, Sakamoto H, Fukagawa T, Katai H, Nakagama H, Yoshida T, Uezono Y, Sasaki H, Peripheral opioid antagonist enhances the effect of anti-tumor drug by blocking a cell growth-suppressive pathway in vivo. PLOS ONE, 査読有, 2014, 10:1-18.

鈴木雅美, 川股知之, 成田 年, 上園保仁: がん神経浸潤と痛みにおけるがん細胞と神経のクロストーク. ペインクリニック, 査読無, 2013, 34:625-631.

鈴木雅美, 川股知之, : がんの痛みの分子機構. 薬局, 査読無, 2013, 64:23-27.

〔学会発表〕(計8件)

上園保仁, 鈴木雅美, 白石成二, 宮野加奈子: オピオイドの効きにくいがん性腹膜炎の痛みのメカニズム解明ならびに作用機序に基づく奏功薬の選択. 日本麻酔科学会第61回学術集会(招待講演), 2014年5月15-17日, 横浜.

Ikegami D, Tasaki Y, Suzuki M, Uezono Y, Aoki K, Narita M: Changes in the anti-tumor immune response by controlling the hypothalamic POMC. 第73回日本癌学会, 2014年9月24-27, 横浜.

Suzuki M, Narita M, Kawamata T, Shibata S, Miyano K, Matoba M, Uezono Y: Abdominal pain due to peritoneal carcinomatosis is accompanied by change in the expression of substance P and  $\mu$ -opioid receptors in the dorsal root ganglion. Neuroscience, 2013年11月9-13日, San Diego/USA.

Suzuki M, Chiwaki F, Sawada Y, Yanagihara K, Nakagama H, Uezono Y, Sasaki H, Blockade of opioid growth factor signaling boosts anti-tumor effect of docetaxel via recycling G1-arrested cancer cells. 第72回日本癌学会, 2013年10月3-5日, 横浜.

〔図書〕(計1件)

鈴木雅美, 文光堂, 痛みの science & practice 病態・疾患別がん性痛治療, 2013, 2.

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者:

鈴木 雅美 (SUZUKI MASAMI) 国立研究開発法  
人国立がん研究センター・研究所・研究員  
研究者番号：80434182