

令和 5 年 5 月 23 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2022

課題番号：16K10985

研究課題名(和文) ミトコンドリア障害が関与する対称性遠位末梢神経障害の治療法の検討

研究課題名(英文) Developing treatment of symmetrical peripheral neuropathy involving mitochondrial injury

研究代表者

下山 恵美 (Shimoyama, Megumi)

東京慈恵会医科大学・医学部・非常勤講師

研究者番号：10206253

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：新しく開発されたミトコンドリアに集積するミトコンドリア保護薬であるSS-20がマウスにおいてパクリタキセルとオキサリプラチンによる化学療法惹起性神経障害を予防すること示した。このことは複数の化学療法薬による化学療法惹起性神経障害はミトコンドリア障害という共通の発症機序を有する可能性があることを示唆している。そしてSS-20は化学療法薬による重大な副作用であるCIPNの予防薬の候補として有望であると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん治療で広く用いられているオキサリプラチンやパクリタキセルの重大な副作用である末梢神経障害は予防法が確立されておらず、症状緩和も困難で、がん治療を困難にする要因となっている。本研究の成果はミトコンドリア障害に焦点を当て、化学療法惹起性末梢神経障害の予防法の開発に貢献するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：We showed that SS-20, a newly developed compound that possesses mitochondrial protective properties, can prevent the development of peripheral neuropathies in mice induced by oxaliplatin and paclitaxel, both widely used chemotherapy agents to treat cancer patients. These results suggest that peripheral neuropathies induced by multiple chemotherapy agents likely possess a common mechanism, i.e. mitochondrial injury. Furthermore, these results suggest that SS-20 may be a promising candidate for the prevention of chemotherapy-induced peripheral neuropathy.

研究分野：Pain research

キーワード：化学療法惹起性神経障害 ミトコンドリア障害 オキサリプラチン パクリタキセル SS-20

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

がん治療における化学療法薬やHIV治療薬に惹起される末梢神経障害、糖尿病性末梢神経障害など、対称性遠位末梢神経障害の共通の原因がミトコンドリア障害であるという考えが近年浮上してきている。いずれの末梢神経障害も強い痛みを伴い、特に化学療法薬など治療薬で惹起される場合は、治療薬の減量や中止の原因となり、患者のQOLのみならず生命予後にも重大な影響を及ぼす。The American Society of Clinical Oncology (ASCO)では化学療法惹起性末梢神経障害の症状緩和にセロトニン・ノルエピネフリン取込み阻害薬であるデュロキセチンを唯一の推奨薬剤として挙げている(引用文献)が、その効果は必ずしも十分でない。さらに化学療法惹起性末梢神経障害の予防に推奨される薬剤はなく、化学療法惹起性末梢神経障害を予防する有効な方法の開発が望まれている。

2. 研究の目的

本研究では、広く用いられている化学療法薬であるオキサリプラチンとパクリタキセルによる化学療法惹起性末梢神経障害の動物モデルを作成し、新しく開発されたミトコンドリアに集積するミトコンドリア保護薬であるSS-20(引用文献)の投与により、これらの末梢神経障害の予防あるいは治療が可能であるかを検討する。

3. 研究の方法

(1) 化学療法惹起性末梢神経障害モデルの作成

最初の薬物投与時に9週齢のBALB/c雄性マウスを使用した。

オキサリプラチン惹起性末梢神経障害モデル

オキサリプラチンの投与量は以前のわれわれの報告(引用文献)に基づき抗腫瘍効果が認められ、体重減少がみられない10mg/kgを1週間に1回3回繰り返し、最終投与後5日目に行動試験を行った。

パクリタキセルは新たなモデル作成としてItouらの報告を参考にして10mg/kg, or 20mg/kgまたは生理食塩水を隔日で2週間投与した(day 1, 3, 5, 7, 9, 11, and 13)。行動試験はパクリタキセル初回投与前(baseline)とパクリタキセル初回投与後週1回、8週間(day 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, and 57)施行した。

(2) 行動試験

末梢神経障害の存在は機械的刺激に対する過敏性(mechanical allodynia)の出現により判定した(10, 11)。機械的刺激に対する過敏性はvon Frey testを使用した後脚のwithdrawal mechanical thresholdsの低下で評価した。テストの際はvon Freyフィラメントを後脚の足底に接触させ、Chaplanらが報告しているup-down法を用いて50% withdrawal mechanical thresholdsを決定した。von Freyフィラメントは対数的に硬さが増加するフィラメント10本(0.005-3.630 g)を使用し、テストは0.407 gから開始した。

(3) 末梢神経障害に対するSS-20持続投与の効果

オキサリプラチンもしくはパクリタキセル誘発性末梢神経障害に対するSS-20の予防効果を検討するため、オキサリプラチンもしくはパクリタキセルを繰り返し投与しているマウスに対してSS-20(SS-20投与群)もしくは生理食塩水(コントロール群)の持続皮下投与を行った。投与にはAlzet Micro-Osmotic Pump(model 1004, Alzet, Cupertino, CA; pumping rate of 0.11 μ L/h for 28 days)をセボフルラン麻酔下でマウスの背部の皮下に2つ埋め込んだ。ポンプの注入速度を安定させるため、ポンプの埋め込みはオキサリプラチンもしくはパクリタキセル初回投与の2日前に行った。SS-20の投与量はわれわれの以前の報告から8.5mg/kg/日とした(11)。パクリタキセルの投与量は上記のパクリタキセル誘発性末梢神経障害モデルの実験で得られたデータを踏まえて20mg/kgとし、隔日で2週間投与した(day 1, 3, 5, 7, 9, 11, and 13)。行動試験はポンプ植え込み前(baseline)とパクリタキセル投与開始後週1回、3週間(day 7, 14, and 21)施行した。全ての薬剤投与に関して盲検化された状況で行動試験を行った。

(4) IENFの定量化

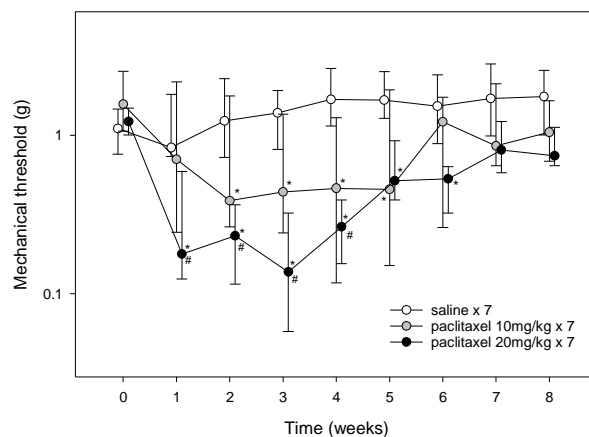
前述のSS-20投与実験後一部のマウスからセボフルラン麻酔下に後肢足底の皮膚標本を採取した。また、naïve mouseからも同様に皮膚標本を採取した。標本は直ちに4% paraformaldehydeに浸し4で一晩固定して、30% sucroseに移し4で一晩浸した。その後、TissueTek OCT compound (Sakura Finetek Europe B.V., Zouterwoude)で包埋し凍結して、クライオスタットで25 μ mの切片にスライスした。切片を0.01 M phosphate buffer saline (PBS)の中に集めてfree-floating protocolで処理した。PBSに溶解した0.5% normal goat serumと0.3% Triton-X100から構成されるblocking solutionに切片を室温で30分浸した後、blocking solutionに一次抗体を追加し4で一晩浸した。一次抗体はRabbit anti-protein gene product 9.5 (PGP9.5) antibody (GeneTex, Irvine, CA, USA)を使用した。その後、biotinylated goat anti-

rabbit IgG (Vector Laboratories, Belmont, CA, USA)を追加し室温で90分浸し、Alexa Fluor 488 streptavidin conjugate (Molecular Probes, Eugene, OR, USA)を追加し室温で60分浸した。各操作の間には切片をPBSで3回リンスした。切片は蛍光顕微鏡で観察した。各マウスの切片を無作為に3つ選択し、表皮境界部1mmあたりのintraepidermal nerve fiber (IENF)の数を数えマウス毎に平均した。薬剤投与に関して盲検化された状況でIENFの定量を行った。

4. 研究成果

(1) マウスにおけるパクリタキセル惹起性末梢神経障害モデルの作成

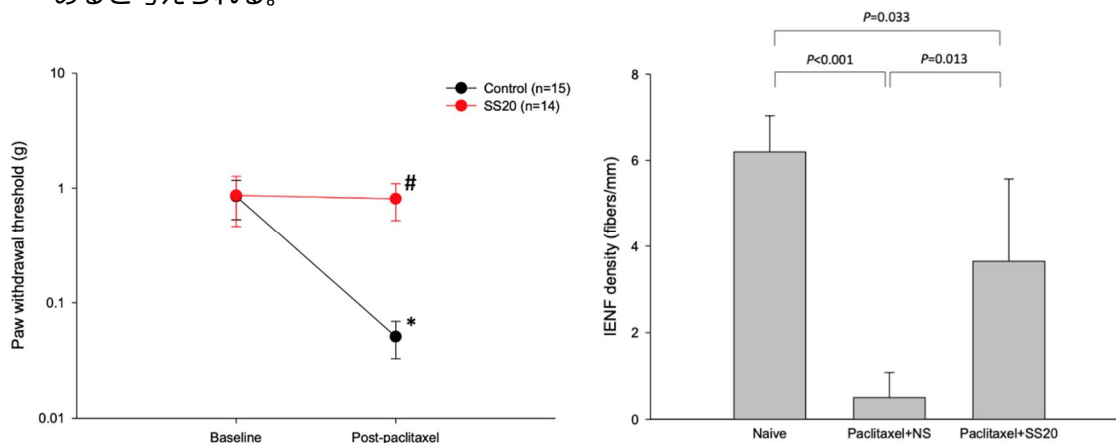
パクリタキセルを7回繰り返し投与したところ、mechanical thresholdはベースラインと比較し10mg/kg群、20mg/kg群とも有意に低下したが、生食群との比較では20mg/kg群のみで有意な低下を認めた。ベースラインとの比較で withdrawal mechanical thresholdsの有意な低下を認めた期間は10mg/kg群はパクリタキセルの投与開始2週間後から5週間後まで、20mg/kg群は1週間後から6週間後までだった。生食群との比較では20mg/kg群はパクリタキセル投与開始1週間後から4週間後に有意な低下を認めた。以上よりパクリタキセルの繰り返し投与は用量依存性に機械的閾値を低下させ、末梢神経障害の特徴である機械的アロディニアを惹起することが示された。また、パクリタキセル繰り返し投与はオキサリプラチン繰り返し投与と同様にIENF密度を低下させた。本モデルはパクリタキセル惹起性末梢神経障害のモデルとして有用と考えられた。



(2) 化学療法惹起性末梢神経障害によるに対するSS-20の効果

オキサリプラチンおよびパクリタキセルのいずれのモデルでもSS-20を同時に投与することにより機械的アロディニアが有意に提言した。また、いずれのモデルでもSS-20を同時に投与することによりIENF密度を低下が减弱した。

SS-20がパクリタキセルとオキサリプラチンによるCIPNを予防することは、複数の化学療法薬によるCIPNはミトコンドリア障害という共通の発症機序を有する可能性があることを示唆している。そしてSS-20は化学療法薬による重大な副作用であるCIPNの予防薬の候補として有望であると考えられる。



< 引用文献 >

Charles L Loprinzi, Christina Lacchetti, Jonathan Bleeker, Guido Cavaletti, Cynthia Chauhan, Daniel L Hertz, Mark R Kelley, Antoinette Lavino, Maryam B Lustberg, Judith A Paice, Bryan P Schneider, Ellen M Lavoie Smith, Mary Lou Smith, Thomas J Smith, Nina Wagner-Johnston, Dawn L Hershman, Prevention and Management of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy in Survivors of Adult Cancers: ASCO Guideline Update. *J Clin Oncol.* 2020 Oct 1; 38(28): 3325-3348.

Kesheng Zhao, Guo-Min Zhao, Dunli Wu, Yi Soong, Alex V Birk, Peter W Schiller, Hazel H Szeto, Cell-permeable peptide antioxidants targeted to inner mitochondrial membrane inhibit mitochondrial swelling, oxidative cell death, and reperfusion injury. *Biol Chem.* 2004 Aug 13; 279(33): 34682-90.

Satoshi Toyama, Naohito Shimoyama, Yasuo Ishida, Takayoshi Koyasu, Hazel H Szeto, Megumi Shimoyama, Characterization of acute and chronic neuropathies induced by oxaliplatin in mice and differential effects of a novel mitochondria-targeted antioxidant on the neuropathies. *Anesthesiology.* 2014 Feb; 120(2): 459-73.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Itoh Kensaku, Shimoyama Megumi, Schiller Peter W., Toyama Satoshi	4. 巻 101
2. 論文標題 Protective effect of a mitochondria targeting peptide against paclitaxel induced peripheral neuropathy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemical Biology & Drug Design	6. 最初と最後の頁 1012 ~ 1018
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cbdd.14192	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 下山恵美	4. 巻 26
2. 論文標題 臨床のニーズに基づく緩和ケアの基礎研究の紹介 がん患者における神経障害性疼痛とオピオイドの眠気	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本ペインクリニック学会誌	6. 最初と最後の頁 85
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Toyama Satoshi, Shimoyama Naohito, Szeto Hazel H., Schiller Peter W., Shimoyama Megumi	4. 巻 9
2. 論文標題 Protective Effect of a Mitochondria-Targeted Peptide against the Development of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy in Mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ACS Chemical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1566 ~ 1571
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscemneuro.8b00013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Toyama Satoshi, Shimoyama Naohito, Tagaito Yugo, Nagase Hiroshi, Saitoh Tsuyoshi, Yanagisawa Masashi, Shimoyama Megumi	4. 巻 128
2. 論文標題 Nonpeptide Orexin-2 Receptor Agonist Attenuates Morphine-induced Sedative Effects in Rats	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Anesthesiology	6. 最初と最後の頁 992 ~ 1003
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/ALN.0000000000002161	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 下山恵美	4. 巻 39
2. 論文標題 化学療法惹起性末梢神経障害の基礎研究	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ペインクリニック	6. 最初と最後の頁 160-168
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 下山恵美、伊藤健作、布間寛章、下山直人	4. 巻 38
2. 論文標題 オピオイド鎮痛薬による便秘・悪心・眠気対策の現状と新たな展開	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 ペインクリニック	6. 最初と最後の頁 S81 - S91
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Toyama Satoshi, Shimoyama Naohito, Shimoyama Megumi	4. 巻 61
2. 論文標題 The analgesic effect of orexin-A in a murine model of chemotherapy-induced neuropathic pain	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neuropeptides	6. 最初と最後の頁 95 ~ 100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.npep.2016.12.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 下山恵美、吉村萌子、久保田敬乃、下山直人	4. 巻 59
2. 論文標題 頭頸部がん患者への緩和ケアの問題点	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 耳鼻咽喉科展望	6. 最初と最後の頁 306-311
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 下山恵美、下山直人	4. 巻 65
2. 論文標題 オピオイドを慢性投与されている患者の周術期管理	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 麻酔	6. 最初と最後の頁 1112-1118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 下山恵美
2. 発表標題 臨床のニーズに基づく緩和ケアの基礎研究の紹介 がん患者における神経障害性疼痛とオピオイドの眠気。
3. 学会等名 第34回北海道ペインクリニック学会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 下山恵美
2. 発表標題 マウスにおけるオキサリプラチン惹起性末梢神経障害の検討
3. 学会等名 第37回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 下山恵美
2. 発表標題 がん患者における神経障害性痛の動物モデル
3. 学会等名 日本ペインクリニック学会第51回大会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 下山恵美
2. 発表標題 がん患者の疼痛治療におけるオレキシン受容体アゴニストの可能性
3. 学会等名 睡眠学会第41回定期学術集会（招待講演）
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 下山恵美	4. 発行年 2017年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 8
3. 書名 動物ノ疾患モデルの作成技術・病態解析・評価手法	

1. 著者名 下山直人、下山恵美	4. 発行年 2016年
2. 出版社 医薬ジャーナル社	5. 総ページ数 6
3. 書名 みんなに役立つ造血幹細胞移植の基礎と臨床 改訂3版	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------

カナダ	Montreal Clinical Research Institute			
-----	---	--	--	--