

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19184

研究課題名(和文) 抗がん薬による末梢神経障害の対応策確立のための基礎および臨床研究からのアプローチ

研究課題名(英文) Studies on mechanisms and prevention of chemotherapy-induced peripheral neuropathy

研究代表者

川尻 雄大 (Kawashiri, Takehiro)

九州大学・薬学研究院・助教

研究者番号：30621685

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)： プラチナ系・タキサン系などの抗がん剤は有害事象(副作用)として、手足のしびれ・感覚異常などの末梢神経障害を高頻度で起こすが、その対応策は現在のところ確立されていない。

本研究では、抗がん剤によりおこる神経線維変性を治療ターゲットとすることで、細胞を用いたスクリーニングにより抗がん剤による末梢神経障害の改善候補薬の探索を行った。その中でフマル酸ジメチルが抗がん剤であるオキサリプラチンの抗腫瘍効果やほかの有害事象に影響を及ぼさずに末梢神経障害を改善することを細胞レベル・動物レベルで明らかとした。

研究成果の概要(英文)： Chemotherapy agents such as platinum and taxane frequently cause severe peripheral neuropathy and there is currently no effective strategy to prevent this.

In this study, we found a new drug for prevention of the chemotherapy-induced peripheral neuropathy, using screening system targeting nerve fiber degenerations. Dimethyl fumarate attenuates oxaliplatin-induced peripheral neuropathy without affecting both the anti-tumor activity and the other toxicities of oxaliplatin, in culture cells and rodents.

研究分野：臨床薬学

キーワード：抗がん剤 末梢神経障害 オキサリプラチン 大腸がん パクリタキセル シスプラチン ボルテゾミ
フマル酸ジメチル

1. 研究開始当初の背景

プラチナ系抗がん薬(オキサリプラチン、シスプラチン等)、タキサン系抗がん薬(パクリタキセル、ドセタキセル等)、ビンカアルカロイド系抗がん薬(ピンクリスチン等)、プロテオソーム阻害薬(ボルテゾミブ等)は、手足のしびれ・疼痛・感覚異常、運動障害などの症状を呈する末梢神経障害を高頻度に引き起こす。このような末梢神経障害の発現は、患者のQOLを著しく低下させるだけでなく、重篤化した場合には、患者は抗がん薬の使用継続を断念せざるを得ない。治療の完遂ができないために、治癒や延命が困難となるケースも多々あり、末梢神経障害の発現が抗がん薬の治療効果を得る上でも大きな妨げとなっている。

しかし、抗がん薬による末梢神経障害に顕著な効果を示す対策は確立されていない。この背景には、抗がん薬の末梢神経障害の発現メカニズムが明確にされていないことがあり、その解明は急務である。

2. 研究の目的

原因薬物ごとに抗がん薬の末梢神経障害の発現メカニズムを明らかとし、新たな治療ターゲットを探索する。

3. 研究の方法

1) それぞれの抗がん剤による末梢神経障害における組織損傷の解析

Sprague-Dawley系ラット(雄、6週齢)にオキサリプラチン(4 mg/kg、週に2回、4週間)、パクリタキセル(6 mg/kg、週に1回、4週間)、ボルテゾミブ(0.02 mg/kg、週に2回、2週間)をそれぞれ反復投与した。

組織損傷の指標として、神経線維障害を坐骨神経トルイジンブルー染色で評価した。

2) 神経線維障害をターゲットとした神経保護薬の探索

神経モデル細胞であるPC12細胞に、フォルスコリンを処置し、神経様線維を伸展させた。オキサリプラチン3 μMを24時間処置すると、神経線維長が短くなるが、この事象を神経線維障害の指標とした。なお、神経線維長は解析ソフトImage J 1.36(National Institutes of Health, MD, USA)を用いて解析した。神経保護薬の候補として、既に本邦で承認され使用されている神経変性疾患治療薬14剤(パーキンソン病治療薬8剤、アルツハイマー病治療薬3剤、その他3剤)をオキサリプラチンと同時にPC12細胞に処置し、神経線維長の改善効果を評価した。

3) 抗がん剤による末梢神経障害に対するフマル酸ジメチルの抑制効果

A) 培養細胞における神経保護作用の検証

PC12および初代培養脊髄後根神経節(DRG)

細胞にオキサリプラチン、シスプラチン、パクリタキセル、ボルテゾミブ等の抗がん剤を処置すると同時に、フマル酸ジメチル(0.3~10 μM)およびその活性代謝物であるフマル酸モノメチル(0.3~10 μM)を24時間処置し、神経線維長を測定した。

B) 動物における神経障害抑制作用の検証

Sprague-Dawley系ラット(雄、6週齢)にオキサリプラチン(4 mg/kg、週に2回、4週間)およびフマル酸ジメチル(100, 200 mg/kg、週に5回、4週間)を反復投与した。神経障害の行動学的指標として、von Frey試験を行い機械的刺激への逃避反応閾値を測定した。また、反復投与終了後の坐骨神経のトルイジンブルー染色より、神経線維変性への改善作用を病理学的に評価した。

また一方で、フマル酸ジメチルを上記スケジュールで反復投与した際に、抗がん剤の一般毒性が増強しないか検証するため、体重の変化と血球数をそれぞれ評価した。

C) 抗がん剤の抗腫瘍効果に対する影響の有無の検証

ヒト大腸がん細胞株HCT116、マウス大腸がん細胞株C26、ヒト胃がん細胞株MKN45、ヒト膵がん細胞株MIA PaCa2に、オキサリプラチン10 μMとフマル酸ジメチル(0.3~10 μM)またはフマル酸モノメチル(0.3~10 μM)を処置し、24時間後の細胞生存率をWST-8法で評価した。

さらに、C26細胞をBALB/cマウス(6週齢、雄)の右足裏に移入し、オキサリプラチン(6 mg/kg、週に2回、2週間投与)およびフマル酸ジメチル(300 mg/kg、週に5回、2週間投与)を行い、腫瘍の体積を継続的に測定した。

4. 研究成果

1) それぞれの抗がん剤による末梢神経障害における組織損傷の解析

オキサリプラチン、パクリタキセル、ボルテゾミブをそれぞれ反復投与したラットにおいて、いずれの坐骨神経においても、神経軸索(神経線維)の変性が確認された。よって、いずれの抗がん剤においても、神経線維障害が末梢神経障害の共通のメカニズムであると考えられた。

2) 神経線維障害をターゲットとした神経保護薬の探索

神経モデル細胞であるPC12細胞に、既承認の神経変性疾患治療薬14剤(パーキンソン病治療薬8剤、アルツハイマー病治療薬3剤、その他3剤)を処置したところ、新規多発性硬化症治療薬であるフマル酸ジメチルが、オキサリプラチンによる短縮した神経線維長を改善した(図1)。すなわち、フマル酸ジメチルが抗がん剤による神経変性を改善する可能性を持つことが示唆された。

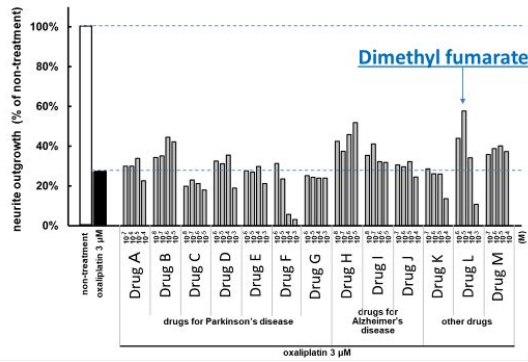


図1 PC12 神経線維変性に対する神経変性疾患治療薬の改善作用（スクリーニング）

3) 抗がん剤による末梢神経障害に対するフマル酸ジメチルの抑制効果

A) 培養細胞における神経保護作用の検証

PC12 および初代培養 DRG 細胞において、フマル酸ジメチルおよびその代謝物フマル酸モノメチルを処置すると、オキサリプラチン、シスプラチン、パクリタキセルによる神経線維の変性(短縮)が有意に改善された。一方で、パクリタキセルによる神経線維変性への効果は他の抗がん剤によるものに比較して弱かった(図2, 3)。

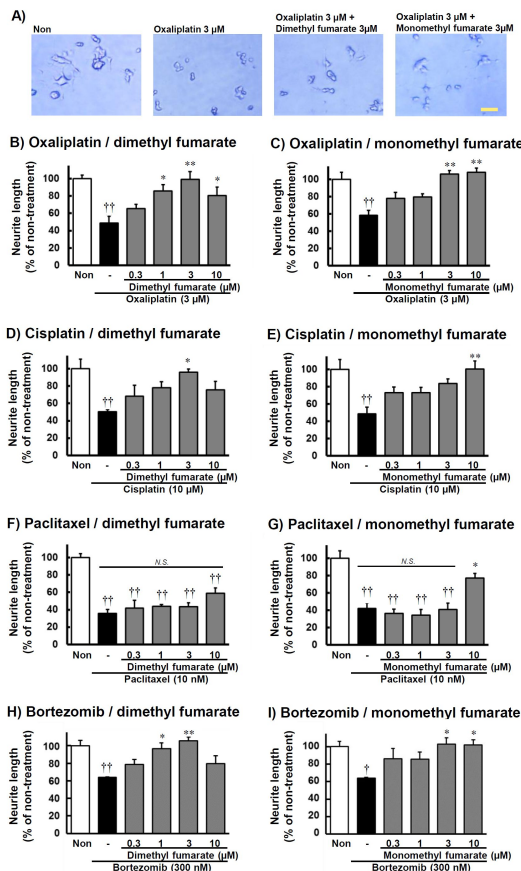


図2 PC12 神経線維変性に対するフマル酸ジメチル・フマル酸モノメチルの改善作用

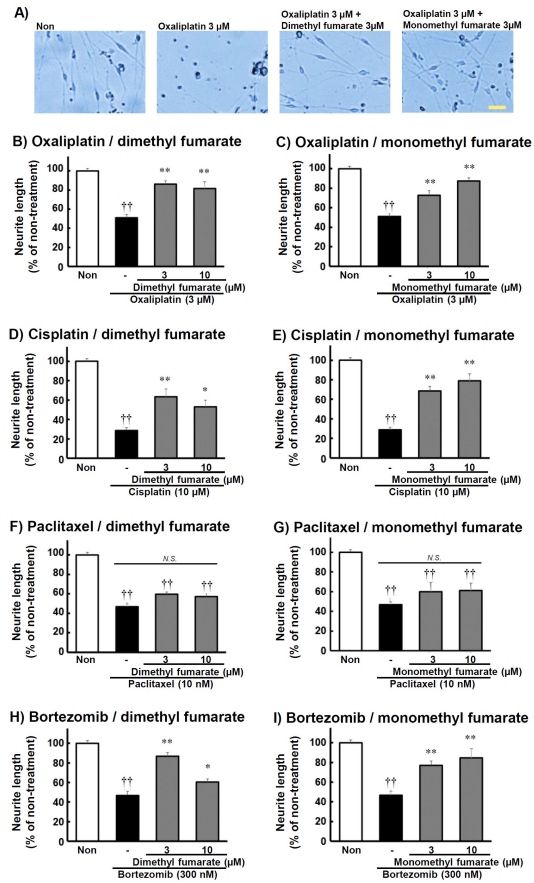


図3 初代培養 DRG 神経線維変性に対するフマル酸ジメチル・フマル酸モノメチルの改善作用

B) 動物における神経障害抑制作用の検証

ラットにおいて、オキサリプラチンの反復投与により機械的刺激への逃避反応閾値の低下がみられるが、フマル酸ジメチルの併用により、閾値の低下が有意に抑制された(図4)。さらに、坐骨神経における組織学的変化(神経線維の変性)もフマル酸ジメチルにより抑制された(図5)。

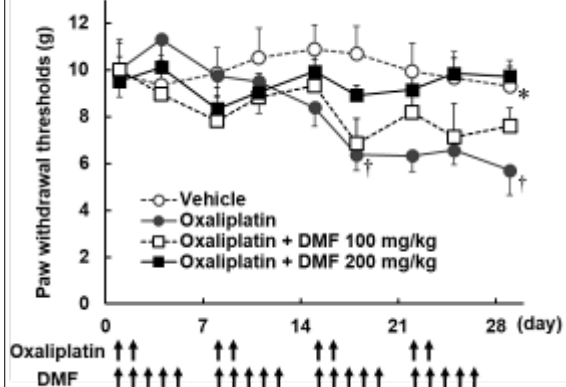


図4 オキサリプラチンによる神経障害症状(機械的アロディニア)に対するフマル酸ジメチル(DMF)の改善作用

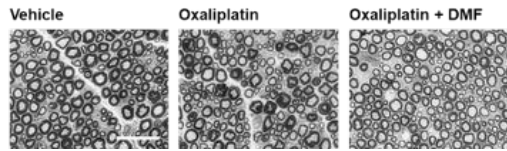


図5 オキサリプラチンによる坐骨神経病理学的変化(神経線維変性)に対するフマル酸ジメチル(DMF)の改善作用

一方で、フマル酸ジメチルはオキサリプラチンによる体重変化や一般毒性に影響をあたえず、増強しなかった。フマル酸ジメチルは臨床でリンパ球減少が報告されているが、ラットにおける本検討において、オキサリプラチンによる骨髄抑制(赤血球数、白血球数、好中球数、リンパ球数の減少)を増強しなかった(図6)。

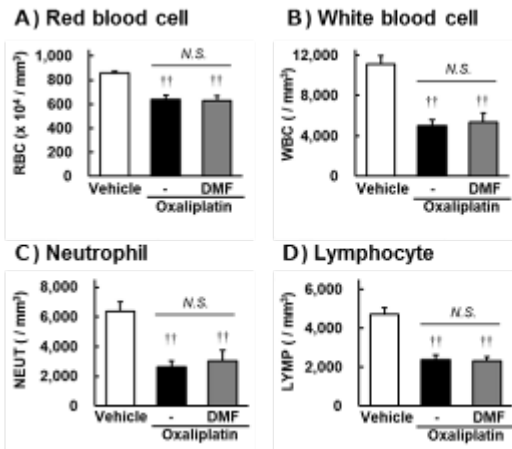


図6 オキサリプラチンによる骨髄抑制に対するフマル酸ジメチル(DMF)の影響

C) 抗がん剤の抗腫瘍効果に対する影響の有無の検証

ヒト大腸がん細胞株 HCT116、マウス大腸がん細胞株 C26、ヒト胃がん細胞株 MKN45、ヒト膵がん細胞株 MIA PaCa2 のいずれにおいても、フマル酸ジメチル(0.3~10 μM)およびフマル酸モノメチル(0.3~10 μM)はオキサリプラチンの腫瘍細胞生存率の低下に影響を与えず、減弱させなかった(図7)。

さらに、C26 担癌マウスにおいて、フマル酸ジメチルの反復投与は、オキサリプラチンにより腫瘍増殖抑制作用に影響を与えず、減弱させなかった(図8)。

したがって、フマル酸ジメチルは、オキサリプラチンの抗腫瘍効果や他の毒性(有害事象)に影響を与えずに、末梢神経障害の発現を抑制することが証明された。

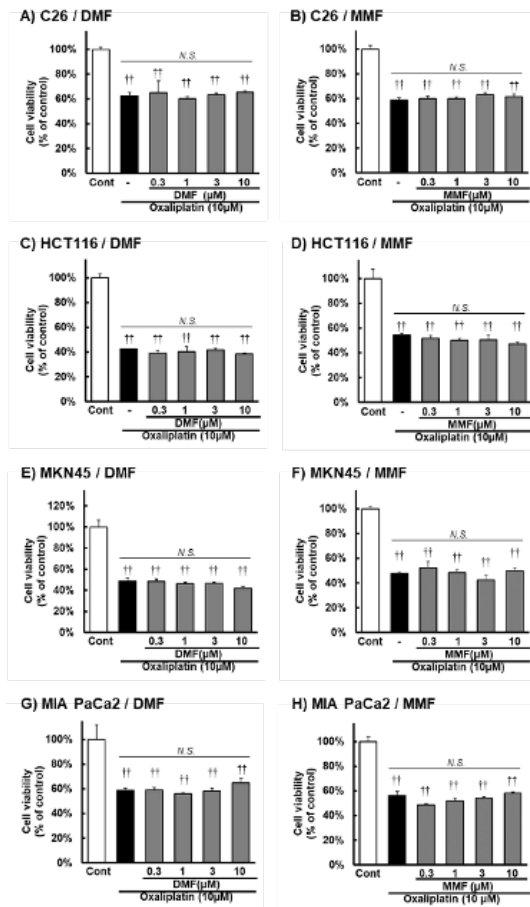


図7 オキサリプラチンによる腫瘍細胞生存率低下に対するフマル酸ジメチル(DMF)の影響

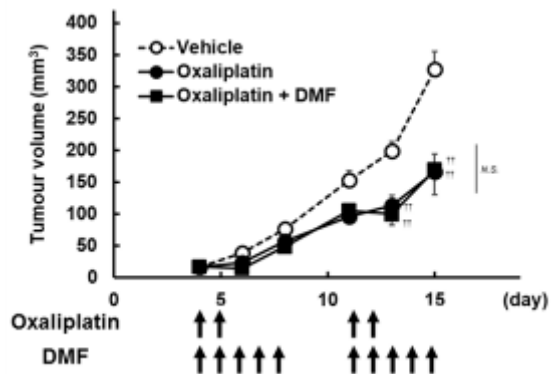


図8 オキサリプラチンによる腫瘍増殖抑制作用に対するフマル酸ジメチル(DMF)の影響(C26 担癌マウス)

本研究では、まず初めに、抗がん剤の末梢神経障害の発現メカニズムの一端として、プラチナ系、タキサン系、プロテアソーム阻害薬いずれの抗がん剤においても神経線維変性が共通して起こることを明らかとした。

また、その神経線維変性を治療ターゲット

とし、PC12細胞を用いた *in vitro* におけるスクリーニングを行うことで、すでに本邦で一般的に使用されている神経変性疾患治療薬（パーキンソン病治療薬、アルツハイマー病治療、多発性硬化症治療薬など）の中から、抗がん剤の神経線維変性に改善効果を示すものを探索し、新規経口多発性硬化症治療薬であるフマル酸ジメチルが抗がん剤による末梢神経障害の改善候補薬として同定された。

さらに、細胞モデル・動物モデルを用いた検討により、フマル酸ジメチルがオキサリプラチンの末梢神経障害を改善すること、オキサリプラチンの毒性

（骨髄抑制等）に影響を与えないこと、抗腫瘍効果に影響を与えないことがそれぞれ証明された。

以上のことより、フマル酸ジメチルが抗がん剤の末梢神経障害の抑制薬となる可能性が示された。臨床応用に向け、さらなる臨床的エビデンスの構築が必要である。一方で、本研究で開発した手法を用いることで他の医薬品群から、新たな末梢神経障害の抑制薬の探索が可能であると考えられる。

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 3 件)

- 1) Kawashiri T, Miyagi A, Shimizu S, Shigematsu N, Kobayashi D, Shimazoe T. Dimethyl fumarate ameliorates chemotherapy agent-induced neurotoxicity in vitro. *J Pharmacol Sci.* in press. (査読あり)
- 2) Yamamoto S, Ushio S, Egashira N, Kawashiri T, Mitsuyasu S, Higuchi H, Ozawa N, Masuguchi K, Ono Y, Masuda S. Excessive spinal glutamate transmission is involved in oxaliplatin-induced mechanical allodynia: a possibility for riluzole as a prophylactic drug. *Sci Rep.* 2017;7:9661. doi: 10.1038/s41598-017-08891-1. (査読あり)
- 3) Tsutsumi K, Kaname T, Shiraishi H, Kawashiri T, Egashira N. Polaprezinc reduces paclitaxel-induced peripheral neuropathy in rats without affecting anti-tumor activity. *J Pharmacol Sci.* 2016;131:146-149. doi: 10.1016/j.jphs.2016.04.019. (査読あり)

〔学会発表〕(計 1 件)

- 1) 宮城 杏奈, 川尻 雄大, 清水 栞, 重松 奈央, 小林 大介, 島添 隆雄, 神経線維の変性を標的とした抗がん剤誘発末梢神経障害の対応策確立を目指した研究, 第28回 霧島神経薬理フォーラム, 2017.08.

〔その他〕

ホームページ等

<http://ikuyaku.phar.kyushu-u.ac.jp/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川尻 雄大 (KAWASHIRI, Takehiro)
九州大学大学院・薬学研究院・助教
研究者番号：30621685