

令和 3 年 6 月 5 日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16493

研究課題名（和文）新しい鎮痛薬の開発に向けたがん性痛におけるTRPA1の役割の解明

研究課題名（英文）The role of TRPA1 in cancer pain

研究代表者

吉田 朱里（Yoshida, Akari）

和歌山県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：40584777

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）：本研究ではがん性痛におけるTRPA1の役割を解明することを目的とした。雄性C57BL/6マウスの左足底皮下にLewis Lung Carcinomaを移植し作製した足底がん性痛モデルでは、経時的に腫瘍が増大し、自発痛の増強と、機械性および熱性痛覚過敏が生じることが明らかとなった。TRPA1遺伝子欠損マウスで作製した足底がん性痛モデルでは、野生型マウスと比較して腫瘍増殖および自発痛関連行動が有意に抑制された。機械性および熱性痛覚過敏は野生型マウスと同等であった。以上より、TRPA1は腫瘍増殖および腫瘍による自発痛に関連していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、がん性痛の末梢機序についてこれまで研究されていないTRPA1に注目した。結果、TRPA1遺伝子欠損マウスで作製した足底がん性痛モデルでは、野生型マウスと比較して腫瘍増殖および自発痛関連行動が有意に抑制されることが明らかとなった。TRPA1は主に末梢痛覚神経に発現しているため、TRPA1の機能抑制は中枢性の副作用のない鎮痛法開発につながる可能性が高い。TRPA1拮抗薬とオピオイドの併用により、オピオイドの投与量を減じて優れた鎮痛効果が得られ、かつ、オピオイドによる副作用を減じることが可能となりうる。これらはがん患者のQOL向上に大きく貢献すると考えられ、社会的意義は大きい。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to examine the contribution of TRPA1 to cancer-induced pain by using a mouse model of cancer pain. Mice were subcutaneously injected a solution of Lewis lung carcinoma in the left plantar region. In a mouse model of cancer pain, the volumes of inoculated hind paws, spontaneous pain and mechanical and thermal hyperalgesia gradually increased throughout the observation period. Tumor growth and spontaneous pain were significantly suppressed in TRPA1 gene-deficient mice compared with wild-type mice. Mechanical and thermal hyperalgesia were comparable to wild-type mice. This study showed that TRPA1 is involved in tumor growth and spontaneous cancer pain-related behaviors but not in cancer induced mechanical and thermal hyperalgesia.

研究分野：麻酔科学

キーワード：TRPA1 がん性痛

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

がん性痛は身体的苦痛のみならず、精神的・社会的な苦痛をもたらし、患者の QOL を著しく低下させる。がん性痛の標準的治療法として、非オピオイド (NSAIDs、アセトアミノフェン) とオピオイドからなる WHO 方式がん疼痛治療法が普及している。しかし、本法を用いても 20-30% の患者で痛みの緩和が難しいことが示されている。この原因として、本法ががんの痛みの機序に基づいた鎮痛法ではないことが挙げられる。NSAIDs は末梢に作用し痛みの発生を抑制するが、Prostaglandin 以外の痛みの原因を抑制することはできない。オピオイドは末梢での痛み発生メカニズムに依存せず、中枢神経での痛みの伝達を抑制する。そのため、末梢で痛みの発生を制御できなければ中枢で痛みの伝達を十分に抑制することが難しくなる。その結果、オピオイド投与量を増量しなければならず、便秘・嘔気・眠気・ふらつき、さらには呼吸抑制などの重篤な副作用のために鎮痛治療が制限されることもある。もし、がん性痛の機序に基づいた末梢作用性の鎮痛薬が開発されるなら、オピオイドとの相乗作用により、少ないオピオイド投与量で、優れた、副作用の少ない質の高い鎮痛が可能となる。

近年、末梢神経に発現する痛みセンサーとして Transient Receptor Potential (TRP) チャネルが注目されている。TRP チャネルは 6 回の膜貫通領域を有する陽イオンチャネルであり、哺乳類では TRPC、TRPV、TRPM、TRPML、TRPP、TRPA の 6 つのサブファミリーに分類される。この中で、TRPA1 は主に脊髄後根神経節や三叉神経節の末梢感覚神経に存在し、特に TRPV1 陽性神経に特異的に発現する。TRPA1 は、ワサビおよびマスタード成分やシナモン成分、ニコチン、アルデヒド類などの刺激性化学物質のセンサーであるとともに、炎症や神経障害によって惹起される痛みセンサーとして機能していることが明らかとなっており、鎮痛薬の新規ターゲットとして注目されている。しかしながら、がん性痛における TRPA1 の役割についてはこれまで研究されていない。

2. 研究の目的

そこで、本研究では、足底がん性痛モデルを用いて、がん性痛における TRPA1 の役割を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 実験動物

6-8 週齢の雄性 C57BL/6 マウス、TRPA1 遺伝子欠損マウスを使用した。

(2) 足底がん性痛モデルの作製

マウスにセボフルランで全身麻酔を行い、Lewis 肺がん細胞 (LLC) 1×10^6 個/20 μ l をインスリン注射器で左足底皮下に接種した。腫瘍増殖の評価は腫瘍接種前および接種 7、14、21 日後に行った。

(3) 腫瘍増殖の評価

足容積測定装置 (Ugo Basile 37140) を用いて移植側の足容積を経時的に測定した。

(4) 痛みの評価

行動評価

自発痛関連行動 (2分間の観察期間中の足振り行動 (flinching) や足舐め行動 (licking) の回数) および歩行中の患側下肢の使用状態 (limb use) と立位時の患側下肢への加重の状態

(weight-bearing) を経時的に測定した。limb useは0-4の5段階、weight-bearingは0-3の4段階で評価した。侵害刺激に対する反応は、von Frey filamentによる逃避閾値および熱輻射装置 (Ugo Basile 37370) を用いた侵害熱刺激に対する逃避潜時を評価した。行動評価は腫瘍接種前および接種7、14、21日後に行った。侵害刺激に対する反応は腫瘍の中央および辺縁の2カ所で測定した。

組織学的評価

持続的な痛みにより末梢神経細胞体の核に phosphorylated CREB (pCREB) が発現することが知られている。足底がん性痛モデルを用いて、下肢および足底に投射する L3/4/5 後根神経節 (DRG) を摘出し、pCREB の免疫染色を行った。

TRPA1 の発現解析では、野生型マウスの DRG を摘出し切片を作製した。TRPA1 のリボプローブを作製し、Fluorescent in situ hybridization (FISH) で TRPA1 の mRNA を標識した後に、同一切片に対して TRPV1 を標識する抗体を用いて免疫染色を行った。

4. 研究成果

腫瘍増殖の評価

腫瘍接種前における左足の容積は野生型 (WT) マウスと TRPA1 遺伝子欠損 (KO) マウスで差はなかった。腫瘍を接種した左足の容積は両マウスで経時的に増加したが、KO マウスで腫瘍増殖が有意に抑制された (図1)。

行動評価

WT マウスでは KO マウスと比較して、腫瘍接種21日目の limb use および weight-bearing が有意に障害され、flinch 数が有意に多く、自発痛の程度が強かった (図2)。腫瘍辺縁において、両マウスともに経時的な逃避閾値の低下および逃避潜時の短縮が認められ、二次性痛覚過敏をきたしていると考えられた。機械性および熱性痛覚過敏は両マウスで同等であった (図3、4)。

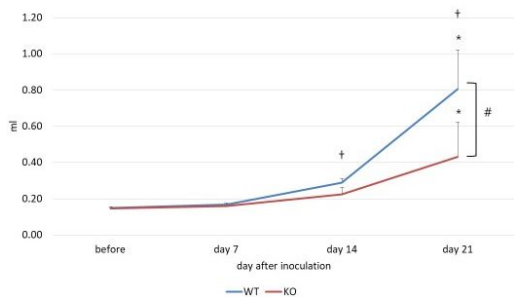


図1 腫瘍増殖

The mean volumes of the inoculated hind paws of KO mice were significantly smaller than those of WT mice at 21 days after inoculation (group: $F_{1,10} = 10.97, P < 0.01$; days: $F_{3,30} = 59.05, P < 0.01$; interaction: $F_{3,30} = 9.49, P < 0.01$). * $P < 0.01$ versus before inoculation (post hoc Dunnett's test). † $P < 0.01$ versus WT (post hoc Bonferroni test).

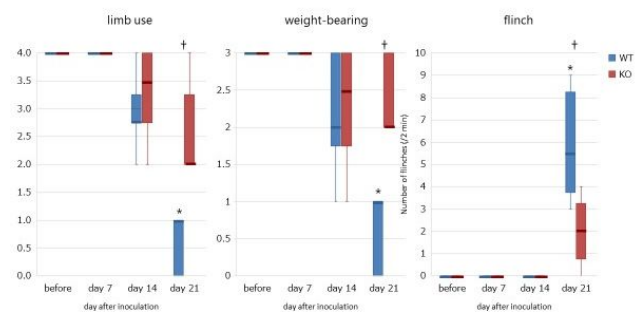


図2 自発痛関連行動

* $P < 0.01$ versus before inoculation (Steel's test).
† $P < 0.01$ versus WT (Mann-Whitney's U test using Bonferroni correction).

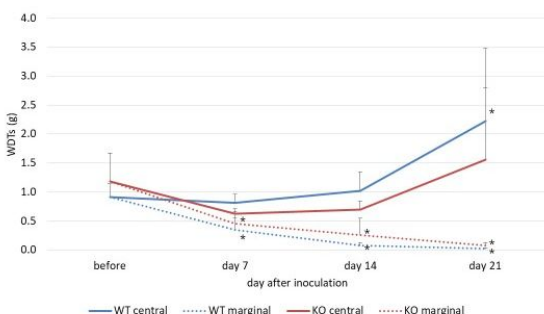


図3 侵害機械刺激に対する反応

* $P < 0.01$ versus before inoculation (post hoc Dunnett's test).

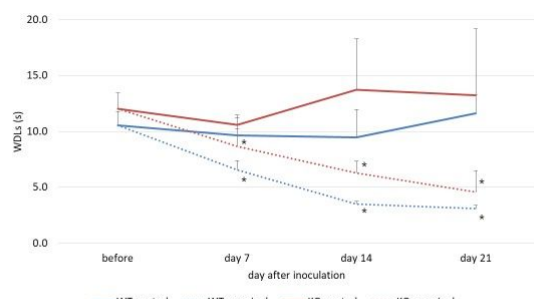


図4 侵害熱刺激に対する反応

* $P < 0.01$ versus before inoculation (post hoc Dunnett's test).

組織学的評価

WT マウスの足底がん性痛モデルでは、腫瘍細胞接種により DRG の TRPV1 陽性神経細胞での pCREB 発現が経時的に増加した(図 5)。WT マウスにおいて TRPV1 の免疫染色と TRPA1 の FISH を同一切片に行ったところ、TRPV1 と TRPA1 の発現は完全に一致しない可能性が示唆された(図 6)。TRPA1 mRNA の発現は KO マウスで認められないことを確認した(図 6)。当初、TRPA1 は TRPV1 陽性神経に特異的に発現しているものと考えており、予想に反した結果が得られた。

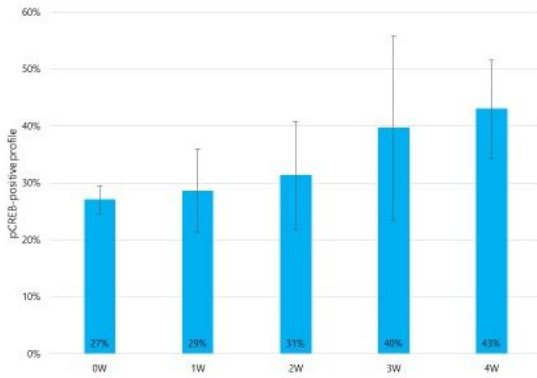


図5 TRPV1陽性神経細胞におけるpCREB発現

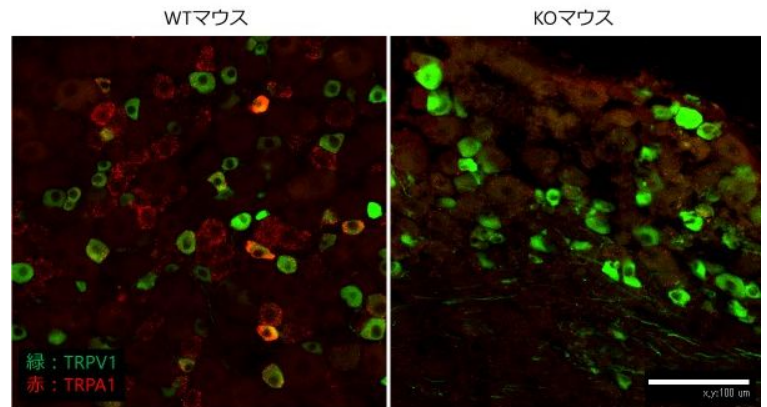


図6 DRGにおけるTRPV1とTRPA1の発現

以上より、足底がん性痛モデルでは、TRPA1 が腫瘍増殖および腫瘍による自発痛に関連していることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Yoshida A, Ogawa S, Tazoe M, Kawamata T
2. 発表標題 TRPA1 is involved in cancer-induced spontaneous pain but not mechanical and thermal hyperalgesia
3. 学会等名 Annual Meeting of the American Society of Anesthesiologists (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉田朱里、谷奥 匡、川股知之
2. 発表標題 TRPA1はがんの増殖を促進する
3. 学会等名 日本神経麻酔集中治療学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshida A, Tanioku T, Aratani Y, Maruyama T, Tsujimoto M, Kawamata T
2. 発表標題 TRPV1 is involved in both tumor growth and cancer-induced pain
3. 学会等名 Annual Meeting of the American Society of Anesthesiologists (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 吉田朱里、川股知之	4. 発行年 2018年
2. 出版社 診断と治療社	5. 総ページ数 764
3. 書名 麻酔科研修ノート改訂第三版	

1. 著者名 吉田朱里、川股知之	4. 発行年 2018年
2. 出版社 克誠堂	5. 総ページ数 239
3. 書名 日めくり麻酔科エビデンスアップデート2	

〔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
---------	---------