

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22706

研究課題名(和文)末梢血流/末梢温調節機構に着目したオキサリプラチン誘発末梢神経障害の解明

研究課題名(英文)Elucidation of oxaliplatin-induced peripheral neuropathy focusing on peripheral blood flow / peripheral temperature regulation mechanism

研究代表者

荻原 孝史(Ogihara, Takashi)

京都大学・薬学研究科・特定助教

研究者番号：00883612

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：白金系抗がん剤であるオキサリプラチン(L-OHP)は副作用として高頻度に末梢神経障害を発現する。これまでL-OHPによる末梢血流障害が、末梢神経障害の進展に関与することを明らかにしてきた。本研究では、感覚神経と血管との機能連関に着目した検討を行い、L-OHPにより感覚神経性の血管応答に異常が生じることを明らかにした。これら一連の結果は、L-OHPが末梢神経を直接障害するだけでなく、感覚神経による血管応答性にも異常をもたらし、そのことが末梢血流低下、さらに末梢神経障害の増悪につながると考えられ、末梢感覚神経-血管連関の異常が末梢神経障害に関与していることを示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん化学療法で用いられる抗がん剤は、様々な副作用が出現するが、なかでも末梢神経障害は、比較的多くの患者が経験するにもかかわらず、対応が遅れている副作用の1つである。末梢神経障害は、しびれ、感覚障害、痛みなどの感覚異常が生じ、患者の日常生活動作や生活の質を低下させる。さらには、重症化すれば、抗がん剤の減量や休薬を余儀なくさせ、がん治療成績に影響を与えることもあるが、その詳細な機序は不明な点が多い。今回得られた研究成果は末梢神経障害の発症機序の一部を解明したものであり、新たな予防/治療法の開発へとつながるものである。

研究成果の概要(英文)：Oxaliplatin (L-OHP), a platinum-based chemotherapeutic drug used as first line chemotherapy, induces peripheral neuropathy. So far, it has been clarified that peripheral blood flow dysfunction induced by L-OHP is involved in the development of peripheral neuropathy. In this study, we focused on the functional relationship between sensory nerves and blood vessels, and clarified that L-OHP causes abnormalities in sensory nerve vascular responses. Our results suggest that L-OHP not only directly damages peripheral nerves, but also causes abnormalities in vascular responsiveness due to sensory nerves, which leads to decreased peripheral blood flow and exacerbation of peripheral neuropathy. It is suggested that abnormalities in the peripheral sensory nerve-vascular relationship are involved in peripheral neuropathy.

研究分野：医療薬学

キーワード：オキサリプラチン 末梢神経障害 末梢血流障害 疼痛モデル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

がん化学療法で用いられる抗がん剤は、様々な副作用が出現するが、なかでも抗がん剤誘発性末梢神経障害 (chemotherapy induced peripheral neuropathy : CIPN) は、比較的多くの患者が経験するにもかかわらず、対応が遅れている副作用の1つである。CIPN は、しびれ、感覚障害、痛みなどの感覚異常が生じるほか、場合によっては運動神経障害や自律神経障害が出現することもある。CIPN は、患者の日常生活動作 (activities of daily living : ADL) や生活の質 (quality of life : QOL) を低下させるだけでなく、重症化すれば、抗がん剤の減量や休薬を余儀なくさせ、がん治療成績に影響を与えることもあるが、その詳細な機序は不明な点が多い。特に大腸癌、胃癌などの治療に広く使用される白金系抗がん剤の L-OHP は、CIPN を高率に誘発し、治療継続上問題となることが多く、京都大学医学部附属病院の電子カルテ調査により、L-OHP 投与患者の 24% が CIPN によってレジメンが中止または変更されていたことが確認されている。研究代表者もこれまで、CIPN の予防/治療薬開発を目指し、グルコン酸カルシウム/硫酸マグネシウム製剤、牛車腎気丸、グルタチオン、活性酸素種 (ROS) スカベンジャー、各種イオンチャネル阻害薬などが基礎および臨床研究双方から探索されてきたが、今なお、有効な予防/治療法は確立されていない。ガイドライン等で推奨されるデュロキセチンも、CIPN の痛みにはある程度有効性が示されているものの、しびれや感覚異常には対応できずアンメットニーズの高い領域となっている。

2. 研究の目的

本研究では、これまで研究代表者が CIPN 予防/治療候補薬として検討してきた PDE 阻害薬について、その作用機序を解明し、さらに L-OHP による末梢血流障害の発生機序や、末梢神経と末梢血管との機能的相互連関という観点から CIPN の発症機序を明らかにする。これまで、CIPN と末梢血流障害の関連を示唆する報告は少ないが、CIPN の症状緩和に、末梢循環改善薬や血流を改善する漢方薬、温熱療法などが用いられることがあるように、末梢血流と末梢神経障害は密に関係していることが予想される。CIPN における末梢神経と末梢血管との相互機能連関を明らかにするため、CIPN モデルを用いて末梢血流量/末梢温低下を評価することにより末梢血流/末梢温調節機構の異常を検討する。

3. 研究の方法

研究代表者らはこれまで、CIPN モデルマウスの四肢に局所的な冷負荷を与え、末梢温や末梢血流の測定を行い、L-OHP 投与により冷負荷後の末梢温度や末梢血流回復が遅延することを明らかにしている。四肢末端の末梢温は末梢血流量に依存し、末梢血管は自律神経のみならず様々な神経由来因子によっても調整されるため、CIPN モデルにおいて、末梢温度や血流の変化が見られた際の血液や神経組織を回収し、末梢血流/末梢温調節機構異常に関与する因子 (ROS/サブスタンス P/CGRP) の遊離量や発現量への影響を検討する。マウス後肢の血流をレーザー血流計により測定し、マウス後肢冷却あるいは薬物投与後の変化を評価した。

4. 研究成果

1) 後肢冷却による血流低下からの回復への L-OHP 反復投与の影響

四肢冷却後の血流低下とその回復には、感覚神経性の血管調節機構が機能していることが知られている。まず、L-OHP 反復投与により感覚神経-血管連関に異常が生じているかを検討するため、マウス後肢冷却による血流低下からの回復に対する L-OHP 反復投与の影響を検討した。L-OHP の投与開始前 (0 week) マウス後肢冷却により血流量が一過性に低下した後、徐々に回復し、3~4 分後には冷却前のレベルにまで回復した。L-OHP 投与 4、8 週間後、vehicle 投与群と比較して L-OHP 投与群の血流量 pre 値は徐々に低下した。後肢冷却により、L-OHP 投与群においても血流量の低下が認められたが、回復が認められず (図 1A) vehicle 投与群と比較して冷却 3~4 分後の AUC が低下し (図 1B) また、pre 値の低下を加味するため、冷却前 1 分間の AUC を 1 としたときの冷却 3~4 分後の AUC の比も、L-OHP 投与により低下し、4 週後に有意に低下した (図 1C)。

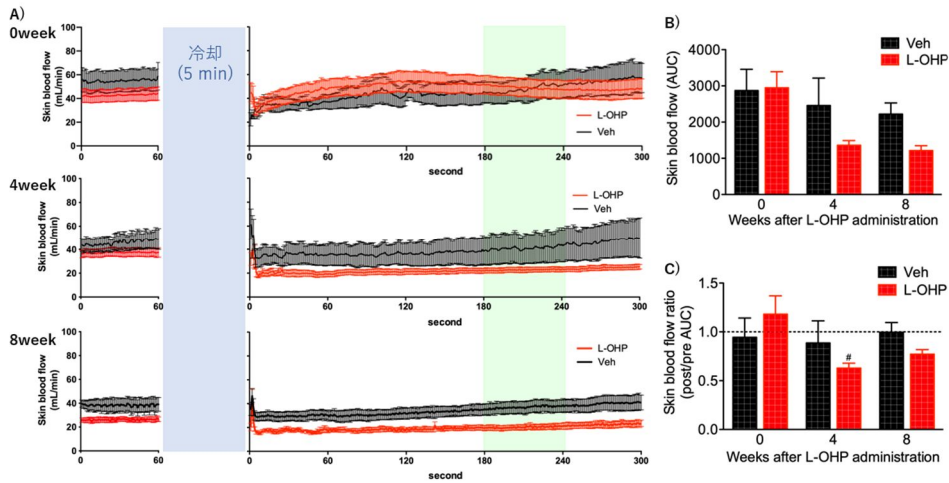


図 1. 冷却後の後肢血流低下からの回復に対する L-OHP 反復投与の影響.

2) CGRP による血流増加に対する L-OHP 反復投与の影響

まず、L-OHP 反復投与により感覚神経における CGRP 発現量に変化が生じるかを検討するため、L-OHP 投与開始 4 週後のマウスを用いて、DRG での CGRP の発現を蛍光免疫染色および real-time PCR 法により確認した。しかしながら、L-OHP 投与後でも、DRG における CGRP の発現変化は観察できなかった (図 2)。

次に、CGRP に対する血管応答性に変化が生じるかを検討するため、L-OHP の反復投与後に CGRP を眼窩静脈叢より静脈内投与し、その後の血流変化を測定した。その結果、vehicle 投与群では、CGRP 投与後に血流が徐々に増加したにもかかわらず、L-OHP 投与群では投与 2~8 週間にかけていずれも CGRP による血流増加が認められなかった (図 3A)。CGRP 投与 3~4 分後の AUC は、vehicle 投与群と比較して 6 および 8 週後に有意な低下が認められ (図 3B)、CGRP 投与前 1 分間の AUC を 1 とした比も投与 2 および 8 週間後において有意に低下した (Fig. 3C)。

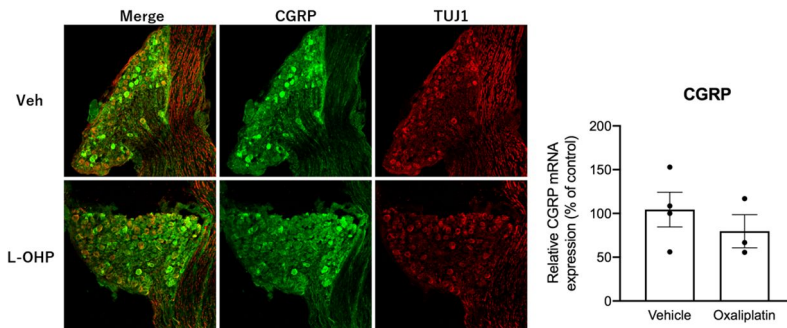


図 2. DRG における CGRP 発現に対する L-OHP 反復投与の影響.

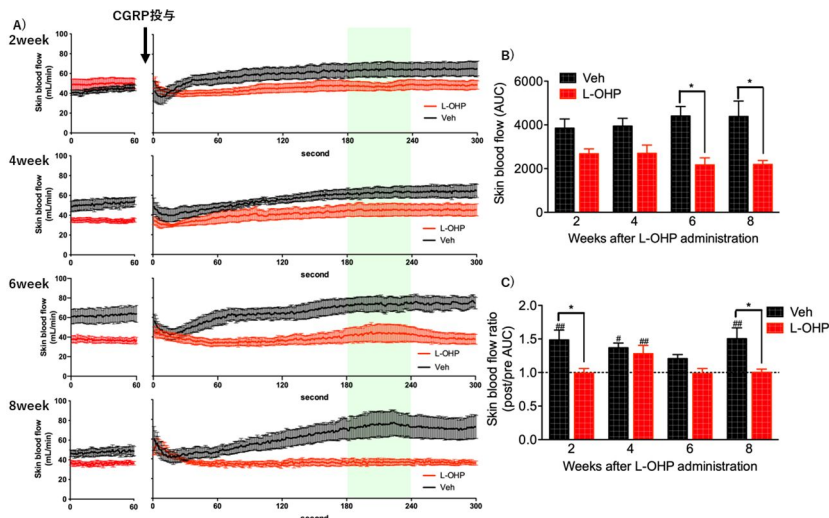


図 3. CGRP による血流増加に対する L-OHP 反復投与の影響.

3) AITC による血流増加に対する L-OHP 反復投与の影響

TRPA1 刺激により、感覚神経終末から CGRP などの血管拡張因子が遊離され、末梢血管が拡張することが知られている。そこで、L-OHP 反復投与により、感覚神経刺激による血管拡張に変化が生じるかを検討するため、TRPA1 刺激薬 AITC を足底内投与し、その後の血流変化を測定した。通常のマウスに AITC を足底内投与すると、足底内投与の手技によると思われる一過性の血流低下が認められた後、血流が増加した。この血流増加は、CGRP 受容体アンタゴニスト CGRP 8-37 (400 ng/kg) を AITC 投与の 30 分前に静脈内投与することにより消失した (data not shown)。また L-OHP 反復投与 4、6、8 週後では、予想に反して、AITC による血流増加作用が増強された (図 4A)。AITC 投与 3~4 分後の AUC は、vehicle 投与群と比較して 8 週後に有意に増強され (図 4B)、AITC 投与前 1 分間の AUC を 1 とした比も投与 6 および 8 週間後に有意に増強された (図 4C)。

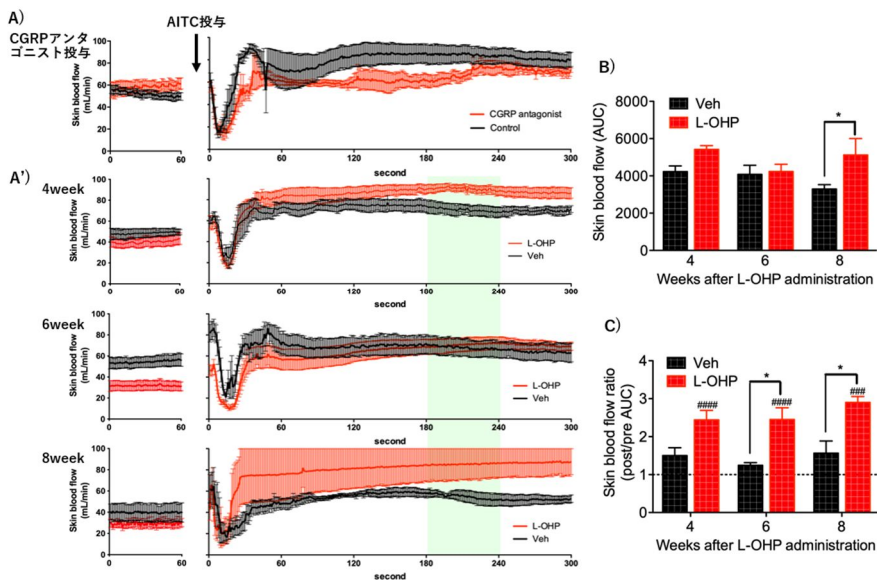


図 4. AITC による血流増加に対する L-OHP 反復投与の影響。

4) 考察

L-OHP 反復投与による末梢血流の低下や、本研究によって認められた血管応答の異常は、いずれも L-OHP の反復投与開始少なくとも 2~4 週間後には発生している。本動物モデルで、L-OHP 反復投与によって生じる CIPN の症状/所見のうち、機械刺激や冷刺激に対する過敏応答 (痛み) は投与開始 1~2 週間後には発生するが、熱刺激や触覚刺激に対する感覚障害 (感覚鈍磨) や軸索変性、神経終末の退縮といった神経障害は、L-OHP 投与開始 6~8 週間後に生じる (data not shown)。これらの時間経過から、末梢血流の低下や血管応答の異常は、痛み以外の末梢神経の障害に起因する症状や所見に先行して生じ、これらの進展の原因となっている可能性も考えられる。

マウス後肢の冷却実験において、L-OHP 投与マウスで冷却後の血流回復が遅くなる現象が認められた。しかしながら、冷却後の血流回復遅延が十分に認められる L-OHP 投与開始 4 週間後においても、DRG における CGRP 発現量に変化は認められず、感覚神経末端における CGRP 蓄積量が低下している可能性は否めないものの、少なくとも CGRP 産生量の低下が原因ではないと考えられた。一方、CGRP 投与実験において、L-OHP 投与マウスで CGRP 投与後の血流増加が見られなかったことから、血管の CGRP に対する応答性が低下していると考えられる。L-OHP による末梢血管の CGRP 応答性の低下の原因は、本研究では明らかにできなかったが、血中の L-OHP による血管内皮細胞への直接的な障害、あるいは CGRP 受容体発現量の低下などの可能性が考えられる。

AITC 投与実験において、当初の仮説では、TRPA1 刺激により遊離された CGRP による血管拡張作用が減弱することを予測していたが、実際には L-OHP 投与マウスで血流増加がさらに増強された。以前の研究から、L-OHP 投与により感覚神経の TRPA1 が過敏化されることが報告されており、TRPA1 を介した血流増加作用がさらに増強されたと考えられる。少なくとも、通常状態のマウスにおいて CGRP 受容体アンタゴニストを用いた検討から、AITC は CGRP を介して血流を増加させていると考えられるが、血管の CGRP に対する応答性が低下していることを考慮すると、L-OHP 投与マウスにおいて AITC による血流増加作用の増強は CGRP を介した反応ではない可能性がある。一方、本研究結果から、L-OHP 反復投与後であっても血管の全ての機能が低下しているわけではないことも示しており、L-OHP 投与後の感覚神経-血管連関の複雑な異常を表している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Koyanagi Madoka, Imai Satoshi, Iwamitsu Yuki, Matsumoto Mayuna, Saigo Mamiko, Moriya Akari, Ogiwara Takashi, Nakazato Yui, Yonezawa Atsushi, Nakagawa Shunsaku, Nakagawa Takayuki, Matsubara Kazuo	4. 巻 188
2. 論文標題 Cilostazol is an effective causal therapy for preventing paclitaxel-induced peripheral neuropathy by suppression of Schwann cell dedifferentiation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuropharmacology	6. 最初と最後の頁 108514 ~ 108514
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuropharm.2021.108514	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 Koyanagi Madoka, Imai Satoshi, Matsumoto Mayuna, Iguma Yoko, Kawaguchi-Sakita Nobuko, Kotake Takeshi, Iwamitsu Yuki, Ntogwa Mpumelelo, Hiraiwa Ren, Nagayasu Kazuki, Saigo Mamiko, Ogiwara Takashi, Yonezawa Atsushi, Omura Tomohiro, Nakagawa Shunsaku, Nakagawa Takayuki, Matsubara Kazuo	4. 巻 81
2. 論文標題 Pronociceptive Roles of Schwann Cell-Derived Galectin-3 in Taxane-Induced Peripheral Neuropathy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Research	6. 最初と最後の頁 2207 ~ 2219
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.CAN-20-2799	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔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
---------	---------