

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590899

研究課題名(和文) 鍼刺激によるパクリタキセル副作用の軽減効果

研究課題名(英文) Protective efficacy of the acupuncture stimulation for paclitaxel-induced peripheral neuropathy

研究代表者

石川 慎太郎 (Ishikawa, Shintaro)

昭和大学・医学部・助教

研究者番号：70439355

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：Paclitaxel(PTX)などのタキサン系抗癌剤では、手足のしびれをはじめとする末梢神経障害(CIPN)が高頻度に副作用として現れ、有効な治療法の確立が望まれている。そこでPTX投与を用いて末梢神経障害モデルを作製し、鍼刺激による神経症状への影響を検討した。

PTX投与ラットにおいてアロディニア様の症状を呈したが、PTX投薬以前より鍼刺激を開始したモデルのアロディニア症状は軽減されていた。またCIPN完成後に鍼刺激を開始したモデルでは、アロディニア症状の軽減は認めないことが判明した。今回の結果、PTX誘発性CIPNに対して鍼刺激が予防的な効果を有することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Paclitaxel (PTX) is a mitotic inhibitor used in cancer chemotherapy, but it develops chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN). Acupuncture is effective in the pathogenesis of pain. Therefore, we tested the influence of acupuncture stimulation (ACU) with PTX-CIPN model rats. PTX-CIPN model rats produced significant mechano-hypersensitivity in the feet, but acupuncture rats did not show any decrease in the mechanical threshold caused by PTX. In the PTX and A-postPTX, P2Y12 receptor a large amount of microglia appeared. In conclusion, our study indicates that the satellite cells in the dorsal horn of spinal cord cause PTX-CIPN. However, applying ACU stimulation before PTX administration relieves it. Therefore, ACU stimulation is effective in preventing PTX-CIPN, but any delay in the start of ACU treatment may decrease its effect.

研究分野：疼痛学

キーワード：末梢神経障害 しびれ 鍼 アロディニア 神経障害性疼痛 疼痛の非薬物治療 疼痛過敏

1. 研究開始当初の背景

悪性腫瘍に対する治療の柱は、手術・化学療法・放射線治療である。特に、乳ガンや卵巣ガンにおける化学療法(薬物療法)は、なくてはならない大きな治療の柱である。抗癌剤による副作用には、悪心・嘔吐、消化器症状(口内炎・下痢)、倦怠感、アレルギー、神経症状などの自覚的副作用と、骨髄抑制などの他覚的副作用がある。抗癌剤の一つであるパクリタキセル(タキソール)は、微小管に作用して腫瘍細胞の分裂を止めることにより、癌の進行を抑制する。しかし微小管は、腫瘍細胞に限局せず存在し、神経細胞の働きにも重要な役目を負っており、末梢神経障害を含む重篤な副作用を発生させることが知られている。パクリタキセルによって誘発される末梢神経障害は、手足のしびれ感や温度覚過敏などの感覚性のニューロパシーと軽度の運動性ニューロパシーが特徴である。投与量に依存して発症率が高まり、投与方法によっては投薬患者の6割に発症するといわれ、症状がひどい場合には休薬を検討しなければならず、症状は投与終了後2年もの間、続くことがある。このように抗癌作用が期待される反面、強い副作用が問題となり、患者のQOLを損なうことは確実であるが、癌性疼痛などに比べ臨床的に軽視され、確立された治療が存在しないことが懸念される。

「しびれ」は、診察する機会の最も多い神経症候の一つだが、臨床現場では十分な診察が行われておらず、時として精神的なものとして片付けられていることも少なくない。一般に「しびれ」は、「ジンジン」、「ビリビリ」などの自覚的な異常感覚を示すが、感覚がはっきりしなくなる麻痺に近いもの、運動障害である「ふるえ」までもしびれと表現される場合がある。しびれの原因には、神経障害性と非神経障害性が挙げられる。さらに神経障害性はその障害部位により末梢神経、神経根、脊髄、脳幹、大脳障害性に分けられる。非神経障害性は、循環障害、内科疾患、その他筋障害に起因するものが含まれ、しびれが神経障害の分布に一致しないことが特徴とされる。末梢神経障害では、神経の障害に一致した感覚障害を認め、パクリタキセルなど抗癌剤に伴うしびれはこれに属すると考えられる。

現在、頭痛や腰痛、帯状疱疹後神経痛、皮膚の知覚過敏など、鎮痛あるいは知覚異常の改善を目的とした鍼治療は広く行われている。痛みは原因により、侵害受容性疼痛、神経因性疼痛、慢性疼痛、心因性疼痛などに分類される。臨床において、侵害受容性疼痛には低頻度(1-3Hz)の鍼通電刺激が、神経因性疼痛には高頻度(50-100Hz)の鍼通電刺激が有効とされる。また、佐藤優子らは、体性感覚神経の興奮が軸索反射性に、皮膚だけでなく、当該筋と神経に比較的長い血流増加を見だし、この血流反応に calcitonin gene-related

peptide (CGRP) が関与することを示した。また我々は、鍼が血液の粘着性を軽減し、血液流動性を亢進することを報告し、電気生理学的機序以外にも鍼刺激が鎮痛に寄与する可能性を示した(S.Ishikawa,JAMS, 2011 Mar;4(1):44-53.)。このように、痛みの原因に合わせた鍼刺激条件の選択が必要である。抗癌剤の副作用である「しびれや知覚過敏」などに対する鍼治療の臨床報告は、いずれもヒトを対象にしておりビジュアル・アナログ・スケール(VAS)など患者の主観に頼るものであり、客観的指標によって評価したものがなく、生理化学的な見知からの検討は皆無である。また医療機関と連携した治験もほとんど見られない。

2. 研究の目的

パクリタキセル(抗癌剤)は乳ガンなどの悪性腫瘍に対して大変期待されている化学療法の一つである。その一方で、抗癌剤治療の副作用として症状に手足のしびれをはじめとする“末梢神経障害”が高頻度に生じる。この神経症状はきわめて主観的な感覚で患者の訴えに個人差が大きいことから、対応が不十分かつ遅延することが少なく、有効な治療方法の確立が望まれている。

そこで、鎮痛作用や自律神経機能調節作用があるといわれる鍼療法を応用し、抗癌剤による末梢神経障害に対する鍼刺激の効果を生理学的検討手法により解明することを目的として本研究を立案した。

3. 研究の方法

末梢神経障害モデルは、SD系雄ラットを用い、パクリタキセルを隔日4回、腹腔内に注射して作製した。実験群は、1群5匹、パクリタキセル投薬群、パクリタキセル投薬+鍼刺激群、対照群の3群に無作為に分け、週に3回、2-4週間鍼刺激を施行した。観察においては、動物行動試験および免疫組織学的検討により、後肢に出現する末梢神経障害の出現を指標として検討した。詳細については以下に示す。

(1) 化学療法誘発性末梢神経障害モデル(CIPN)の作製

a. 使用動物

パクリタキセル誘発末梢神経障害モデルには、5週齢の雄 Sprague Dawley rat を用いた。実験群は、1群5匹、パクリタキセル投薬群、パクリタキセル投薬+鍼刺激群、対照群の3群とした。

b. 薬(パクリタキセル)投与

パクリタキセル誘発末梢神経障害モデルは、パクリタキセルを、4日隔日、腹腔内注射にて作製した。

(2) 鍼刺激方法

鍼刺激は、週に3回、4週間に渡ってパクリタキセル投与と並行して施行する。鍼刺激条

件は、当研究室の鍼鎮痛や経皮的通電療法の研究で通常用いられる手法を参考として、1回30分、1Hzあるいは100Hz、3-5V、30-200mAで、軽く筋収縮が見られる程度とする。また刺激部位は、当モデルに特有と考えられている四肢の末梢神経障害を考慮して、しびれを発症している下腿の鍼鎮痛に有効とされている部位（足三里：下腿外側全脛骨筋上）を選択した。

(3) 動物行動試験による末梢神経障害の確認

a. 運動協調性の検査

運動協調性検査（Jeljeli法）を採用した。ラットは、暗い環境で木製の平均台（80×40×4cm）を目的のボックスまで進むように訓練し、ラットが平均台を進むことのできる距離を3回計量し、平均値を求めた。

b. 温熱性アロディニアに対する熱痛逃避反応検査

UGO BASILE Plantar Test法により、レーザー光に対する足脱出時間を測定し、熱痛に対する脱出応答とした。

c. 機械的アロディニアに対する逃避反応検査

電子痛覚測定装置 Von Frey 2390を用いて、足底への押圧刺激を加え足を脱出する圧力（g）を測定し、機械的刺激に対する脱出応答とした。

(4) 組織学的検討による末梢神経障害並びに痛みの中樞性感作の確認

a. 微小管のイメージングのための チュープリンの免疫染色（組織学的変化の確認）

後根神経節（DRG）細胞、ラット坐骨神経における、パクリタキセルによって誘発される末梢神経障害のメカニズムの1つと考えられる軸索変性に対する鍼刺激の効果を調べる。

チュープリンを免疫蛍光染色し、損傷の程度（構造学的な変化）を確認した。

b. 損傷神経脊髄レベルでのミクログリアおよびヌクレオチド受容体の観察（組織・機能的変化の確認）

坐骨神経領域に対応した脊髄後角において、末梢神経障害時に出現するミクログリアを免疫組織学染色により同定した。またミクログリアの活性に関わるヌクレオチド受容体（P2Y12受容体）の出現についても確認した。

4. 研究成果

(1) 化学療法誘発性末梢神経障害モデル（CIPN）の作製

パクリタキセルの投与濃度を変えて（1～6mg/kg）CIPNモデルの作製を試みた。その結果、薬剤投与後3週間後より濃度依存性に機械的閾値の低下が当該モデル動物に出現することが確認された。またこのとき高用量モデルにおいては疼痛過敏モデルとなり、低用量モデルにおいてはアロディニア症状を呈することが確認された。

なお、plantar testによる熱刺激での検討ではパクリタキセル濃度に関わらず有意な差は認められなかった。この結果は当モデルの先行研究において熱刺激に対する閾値変化は認められないとの見解と一致し、本検討におけるモデルが当初の目的通りCIPNを呈していることを間接的に支持している。また運動協調性の検査において、低用量パクリタキセル投与群においても途中脱落する確率が上昇することが示された。

(2) パクリタキセル誘発性CIPNへの鍼刺激の影響

動物行動試験における検討

a. 鍼鎮痛法に基づいた検討

当該モデルに対して、パクリタキセル投与前日より1Hzの刺激頻度で鍼刺激を施行したところ、パクリタキセルによる機械的刺激に対する閾値の低下が抑制され、アロディニア症状および疼痛過敏症状に対して鍼刺激の有効性が示された。また100Hzでの高頻度刺激においても、アロディニア症状の抑制は認められたが、疼痛過敏に対する有意な抑制は認めなかった。

b. 運動強調試験に対する検討

パクリタキセル投与前日より1Hzの刺激頻度で鍼刺激を施行したモデルにおいて、強調運動性の低下が抑制された。

c. 鍼刺激開始時期の検討

パクリタキセル投与をCIPN発症後に1Hzの刺激頻度で鍼刺激を施行したモデルにおいては、機械的閾値低下の抑制を認めなかった。

組織学的検討

CIPNモデルの脊髄後角ミクログリアを観察したところ、当該グリアの出現数および当該細胞上のヌクレオチド受容体（P2Y12）の発現の上昇が認められた。パクリタキセル投与前日より1Hzの刺激頻度で鍼刺激を施行したモデルにおいて、それらの出現が抑制されており、末梢神経障害が抑制されていることが示唆された。

これらの結果から鍼刺激は脊髄グリアの活性化を抑制して、パクリタキセル誘発性末梢神経障害（とくにアロディニア症状）を軽減させる可能性が示された。またCIPN発症前の鍼刺激が効果的であったことから、パクリタキセルによる末梢神経障害に対して鍼刺激が予防的な効果を有する可能性が示された。

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）

〔学会発表〕（計4件）

1) S. Ishiakwa, K. Murata, Y. Tawaratsumida, M. Sunagawa, T. Hisamitsu, Efficacy of electrpacupuncture for paclitaxel-induced peripheral neuropathy,

第 91 回 日本生理学会大会 (2014.03.16-18
鹿児島)

2) 石川慎太郎, 福島正也, 砂川正隆, 幸田
るみ子, 石野尚吾, 久光正. 抗癌剤
(Paclitaxel) の副作用 (末梢神経障害) に対
する鍼刺激の影響, 第 63 回 全日本鍼灸学会
学術大会 (2014.05.16-18 愛媛(松山))

3) 石川慎太郎, 福島正也, 砂川正隆, 幸田
るみ子, 石野尚吾, 久光正. 抗癌剤
(Paclitaxel) の副作用 (末梢神経障害) に対
する鍼刺激の影響, 第 65 回 日本東洋医学会
学術総会 (2014.06.27-29 東京)

4) S.Ishikawa. Efficacy of
electro-acupuncture for
paclitaxel-induced peripheral neuropathy,
International Scientific Acupuncture and
Meridian Symposium 2014 (2014. 10, 3-5
Tokyo, Japan) <国際シンポジウム>

5) S.Ishikawa, S.Ishino, M.Takashima, T.
Hisamitsu, Protective efficacy of the
acupuncture stimulation for
paclitaxel-induced peripheral neuropathy,
第 92 回 日本生理学会大会 (2015.03.21-23
神戸)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石川慎太郎 (Ishikawa Shintaro)

昭和大学・医学部・生理学講座・生体制御
学部門・講師

研究者番号：70439355

(2) 研究分担者

久光正 (Hisamitsu Tadashi)

昭和大学・医学部・生理学講座・生体制御
学部門・教授

研究者番号：20167604

砂川正隆 (Sunagawa Masataka)

昭和大学・医学部・生理学講座・生体制御
学部門・准教授

研究者番号：20514467

中西孝子 (Nakanishi Takako)

昭和大学・医学部・生理学講座・生体制御
学部門・准教授

研究者番号：00175499