

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 27 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460335

研究課題名(和文) うつおよび糖尿病を考慮したがん治療における疼痛制御に関する薬理学的研究

研究課題名(英文) Pharmacological study on the pain control in cancer chemotherapy in view of depression and diabetes

研究代表者

江頭 伸昭 (EGASHIRA, NOBUAKI)

九州大学・大学病院・准教授

研究者番号：80352269

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、うつおよび糖尿病を考慮して、抗がん薬による末梢神経障害に対して予防および治療薬として有望な候補薬剤の探索を行った。

その結果、抗うつ薬であるデュロキセチンや抗糖尿病薬であるエキセナチドが、抗がん薬であるオキサリプラチンによる末梢神経障害を改善することを見出した。さらに、胃潰瘍治療薬であるポラプレジンクが、抗がん薬であるパクリタキセルの抗腫瘍効果に影響せずに、パクリタキセルによる末梢神経障害を抑制することも明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In the present study, the promising candidate drugs were explored in view of depression and diabetes as preventive and therapeutic agents on the peripheral neuropathy induced by anti-cancer drugs.

We found that duloxetine and exenatide improved the oxaliplatin-induced peripheral neuropathy. Moreover, we found that polaprezinc reduced the paclitaxel-induced peripheral neuropathy without affecting anti-tumor activity.

研究分野：医歯薬学

キーワード：痛み 末梢神経障害 がん治療 抗うつ薬 抗がん薬 抗糖尿病薬 オキサリプラチン パクリタキセル

1. 研究開始当初の背景

がん治療において抗がん薬は欠かせないものであるが、オキサリプラチンやパクリタキセルなどの抗がん薬では、末梢神経障害を必発し、身体的苦痛から患者のQOLを著しく低下させるだけでなく、がん治療の変更や中止を余儀なくさせることから、臨床上大きな問題となっている。しかし、有効な予防策や治療法も国内外において未だに確立されていない。一方、がん患者は不安やうつ症状などの精神症状や高齢者が多いため糖尿病などの生活習慣病を併発している場合が多い。しかしながら、抗がん剤による身体的苦痛とうつ症状などの精神症状や糖尿病との関わりについてはほとんど科学的な解明は行われていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、がん治療における痛みとうつ症状などの精神症状や糖尿病との関係を解明し、その機序に基づいた予防・治療策を確立することである。

3. 研究の方法

(1) 2型糖尿病ラットを用いた検討

抗がん薬パクリタキセル誘発末梢神経障害モデルラットの作製

6週齢GK/Jcl系ラットおよび6週齢Wistar系ラットにパクリタキセル6 mg/kgを週1回4週間、腹腔内に反復投与した。

血糖値の測定

グルテストNeoアルファおよびグルテストNEOセンサーを用いて、週1回投与前日に血糖値の測定を行った。

行動学的評価

機械的アロディニアの評価

評価には、足裏にフィラメントを押し当て逃避反応閾値を測定する von Frey テストを用いた。試験 30 分前より金網の上に置き、馴化させた。その後、金網の下よりラット後足底を 1.0 - 15 g の von Frey フィラメント (The Touch Test Sensory Evaluator Set; Linton Instrumentation, Norfolk, UK) を用いて刺激した。各フィラメント強度において左右 6 回ずつ、1 回につき 6 秒間刺激し、ラットが逃避反応を起こすフィラメント強度を逃避反応閾値として記録した。

マウスでの評価には、0.02 - 2.0 g の von Frey フィラメントを用いた。Updown 法 ((Chaplan SR et al., J. Neurosci Methods, 1994, 53(1):55-63) に従い 4 回か

ら 9 回の異なった力のフィラメントを負荷する) に従い、その軽度機械刺激に対する動物の後肢逃避行動を観察し疼痛の程度を確認した。逃避反応閾値は下式を用いて算出した。

$$50\% \text{閾値 (Paw withdrawal threshold) (g)} = 10 (X_f + (k \times 0.224)) / 10000$$

X_f : 最後に用いたフィラメントの値
 k : ○と×の順序により決定される値

冷感過敏

冷感過敏の評価は、ラットの足裏にアセトンを噴霧し 40 秒間の逃避反応回数を測定するアセトンテストを用いて評価を行った。試験 30 分前よりラットを金網の上に置き、十分に馴化させた。その後、金網の下よりラット後足底に 50 μ L のアセトン (和光純薬) を噴霧して刺激した。アセトンの噴霧後 40 秒間ラットの行動を観察し、逃避反応の回数を測定した。アセトンの噴霧は左右の足それぞれ 3 回ずつ行い、計 6 回の反応回数の平均を算出し評価した。

強制水泳試験

Porsolt らの方法に従い、無動時間 (うつ様行動) を測定した。測定システムは、MicroAct-FST を使用し、ラットの後肢に特殊マグネットリングを装着し、感応コイルでもがき行動を、MicroAct で解析を行った。測定の前 24 時間前に 15 分間のプレテストを行い、測定日当日は 5 分間強制水泳試験を行った。

オープンフィールドテスト

自発運動量の測定には、直径 60 cm の底面を 19 区画に区切った円形オープンフィールドを使用した。オープンフィールドにおける 5 分間の全区画移動数 (2 番目の円を横切った回数、2 番目の円の内側の線を横切った回数、rearing、grooming、preening、defecation、urination) について 2 名の観測者にて測定を行った。また測定の際は、100 w の白色光を用いて照度を一定に保った。

(2) 2型糖尿病マウスを用いた検討

抗がん薬オキサリプラチン誘発末梢神経障害モデルマウスの作製

6 週齢 BKS.Cg-+Leprdb/+Leprdb/Jcl (dbdb) 系マウスおよび 6 週齢 BKS.Cg-m+/m+/Jcl 系 (Wild) マウスにオキサリプラチン 3 mg/kg を週 5 回 2 週間、腹腔内に反復投与した。

(3) 各種薬剤の効果

ポラプレジンク

抗がん薬パクリタキセル誘発末梢神経障

害モデルラットの作製

6 週齢 SD 系ラットにパクリタキセル 4 mg/kg を隔日で 4 回、腹腔内に反復投与した。また、試験薬としてポラプレジンク 3 mg/kg を 1 日 1 回 7 日間、経口で反復投与した。

抗腫瘍効果の評価

LLC (マウス肺がん細胞) 細胞 1.5×10^6 個を 50 μ L の無血清培地で懸濁し、C57BL/6 系マウス胸部皮下に移入した。マウスへの薬物投与は、LLC 移入後 3 日目から開始した。パクリタキセル 4 mg/kg を腹腔内に、ポラプレジンク 5.25 mg/kg を経口で 1 日 1 回反復投与した。腫瘍体積の測定は LLC 移入後 3 日目から 18 日目まで 3 日ごとに測定した。腫瘍体積は長径 (length) と短径 (width) を測定し、以下の近似式で算出した。

$$\text{Volume (mm}^3\text{)} = \text{length (mm)} \times \text{width (mm)}^2 / 2$$

エキセナチド

抗がん薬オキサリプラチン誘発末梢神経障害モデルラットの作製

6 週齢 SD 系ラットにオキサリプラチン 4 mg/kg を週 2 回 4 週間、静脈内に反復投与した。腹腔内に反復投与した。また、試験薬としてエキセナチド (100 μ g/kg) は徐放性製剤を週 1 回 8 週間皮下投与した。

抗腫瘍効果の評価

C-26 (マウス大腸癌由来細胞) 細胞 1.0×10^6 個を 30 μ L の無血清培地で懸濁し、BALB/c 系マウス足裏に移入した。マウスへの薬物投与は、C-26 移入後 3 日目から開始した。オキサリプラチン 6 mg/kg を腹腔内に週 2 回 2 週間、エキセナチド 150 μ g/kg を皮下に週 1 日 2 週間反復投与した。腫瘍体積の測定は C-26 移入後 3 日目から週 2 回測定した。腫瘍体積は長径 (length) と短径 (width) および厚み (thickness) を測定し、以下の近似式で算出した。

$$\text{Volume (mm}^3\text{)} = \text{Length (mm)} \times \text{Width (mm)} \times \text{Thickness (mm)} / 6$$

デュロキセチン

抗がん薬オキサリプラチン誘発末梢神経障害モデルラットの作製

6 週齢 SD 系ラットにオキサリプラチン 4 mg/kg を週 2 回 4 週間、腹腔内に反復投与した。また、オキサリプラチン投与開始後 28 日目に、試験薬としてデュロキセチン 10

mg/kg および 30 mg/kg を単回経口投与した。

行動学的評価

と同様の方法で行った。

4. 研究成果

(1) 2 型糖尿病ラットを用いた検討

糖尿病ラットおよび正常ラットの体重・血糖値に及ぼすパクリタキセルの影響

投与開始前 (Day 0) における 6 週齢 GK/Jcl 系ラットの体重ならびに血糖値は、6 週齢 Wistar 系ラットと比較して、有意に高値を示した。しかしながら、パクリタキセル投与群とパクリタキセル非投与群では、体重ならびに血糖値に有意な差はみられなかった。

パクリタキセルによる機械的アロディニアに及ぼす糖尿病の影響

Wistar 系ラットは、パクリタキセルの投与によって投与開始 4 週目において有意に機械刺激に対する逃避反応閾値が低下した。一方、GK/Jcl ラットは、パクリタキセルの投与による逃避反応閾値の変化はみられなかった。

パクリタキセルによる冷感過敏に及ぼす糖尿病の影響

Wistar 系ラットは、パクリタキセルの投与によって投与開始 4 週目において有意にアセトンに対する逃避反応回数が増加した。一方、GK/Jcl 系ラットでは、アセトンに対する逃避反応回数にパクリタキセルの投与の影響はみられなかった。

糖尿病およびパクリタキセルによる無動時間・自発運動量の変化

GK/Jcl 系ラットでは、抗がん薬投与の有無にかかわらず、正常ラットと比較して無動時間が有意に延長した。一方、自発運動量に関しては、Wistar 系ラットでは抗がん薬投与による変化はみられなかったが、GK/Jcl 系ラットにおいては、パクリタキセル投与群において有意に自発運動量の減少がみられた。

本研究では、GK/Jcl 系ラット (2 型糖尿病ラット) は、パクリタキセル投与による機械的アロディニアおよび冷感アロディニアが発現しないことが明らかになった。一方、von Frey test において、Wistar 系ラットと比較して GK/Jcl 系ラットでは有意に疼痛閾値が高かったことから、糖尿病患者の主症状である感覚鈍麻が発現していることが考えられた。さらに、強制水泳試験において、GK/Jcl

系では Wistar 系ラットと比較して有意に無動時間が長いことから、うつ様行動が発現していることが考えられた。しかしながら、パクリタキセル投与による症状の悪化は認められなかった。これらのことから、GK/Jcl 系ラットは、2 型糖尿病患者における感覚鈍麻・うつのラットモデルとしては有用であるが、糖尿病患者におけるパクリタキセルによる末梢神経障害の動物モデルとしては適していないことが考えられた。

(2) 2 型糖尿病マウスを用いた検討

糖尿病マウスおよび正常マウスの体重・血糖値に及ぼすオキサリプラチンの影響

投与開始前 (Day 0) における 6 週齢 dbdb マウスの体重は、同週齢の Wild マウスと比較して有意に増加していた。血糖値についても dbdb マウスの方が、7 週齢以降において有意に高値であった。一方、Wild マウスでは、体重および血糖値に及ぼすオキサリプラチンの影響はみられなかったが、dbdb マウスにおいては、オキサリプラチンの投与によって体重および血糖値が増加しなかった。

オキサリプラチンによる機械的アロディニアに及ぼす糖尿病の影響

Wild マウスは、オキサリプラチンによって投与開始 2 週目において有意に機械刺激に対する逃避反応閾値が低下した。一方、dbdb マウスは vehicle 投与群においても逃避反応閾値が低下した。しかしながら、オキサリプラチン投与による機械的アロディニアの悪化は認められなかった。

本研究では、dbdb マウス (2 型糖尿病マウス) は同週齢の Wild マウスと比較して、血糖値と週齢の増加に伴い機械刺激に対する感受性の低下 (機械的アロディニア) が発現することが明らかになった。これらのことから、dbdb マウスは、2 型糖尿病患者における感覚過敏のマウスモデルとして有用であることが示唆された。しかしながら、オキサリプラチン投与により、体重および血糖値の増加が抑制され、さらに機械的アロディニアの悪化も認められないことから、dbdb マウスは、糖尿病患者におけるオキサリプラチンによる末梢神経障害の動物モデルとしては適していないことが示唆された。

(3) 各種薬剤の効果

ポラプレジンク

パクリタキセル誘発末梢神経障害に対するポラプレジンクの効果

パクリタキセル投与は von Frey test にお

いて、4 日目より反応閾値の有意な低下を引き起こした。一方、ポラプレジンクの併用により反応閾値の低下を有意に抑制した (Fig. 1)。

von Frey test (mechanical allodynia)

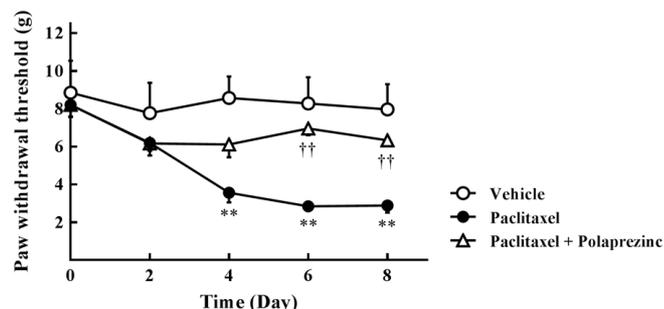


Fig. 1. パクリタキセル誘発機械的アロディニアに対するポラプレジンク反復経口投与の効果

パクリタキセルの抗腫瘍効果に及ぼすポラプレジンク併用の影響

担がんマウスにおける腫瘍体積の増加は、パクリタキセルの投与により有意に抑制され、ポラプレジンクの併用はこのパクリタキセルによる抗腫瘍効果に影響しなかった (Fig. 2)。

Tumor volume (LLC-bearing C57BL mouse)

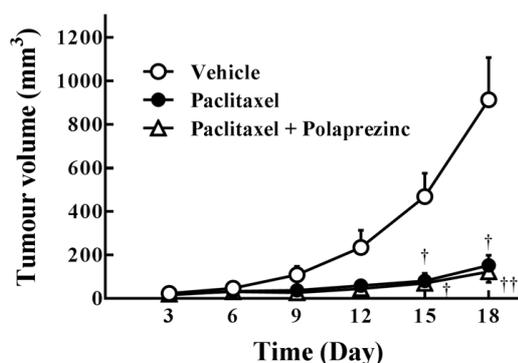


Fig. 2. パクリタキセルの抗腫瘍効果に及ぼすポラプレジンク併用の影響

エキセナチド

オキサリプラチン誘発末梢神経障害に対するエキセナチドの効果

エキセナチドはオキサリプラチンによる機械刺激に対する逃避反応閾値の低下に影響しなかった。しかしながら、エキセナチドの併用群では反応閾値低下からの改善が有意に促進された (Fig. 3)。

von Frey test

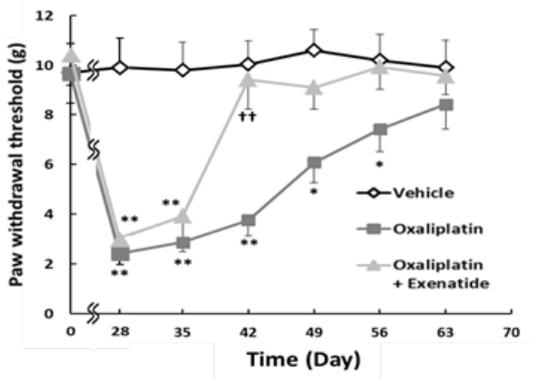


Fig. 3. オキサリプラチン誘発機械的アロディニアに対するエキセナチド反復皮下投与の効果

オキサリプラチンの抗腫瘍効果に及ぼすエキセナチド併用の影響

担がんマウスにおける腫瘍体積の増加は、オキサリプラチンの投与により有意に抑制され、エキセナチドの併用はこのオキサリプラチンによる抗腫瘍効果に影響しなかった (Fig. 4)。

Tumor volume

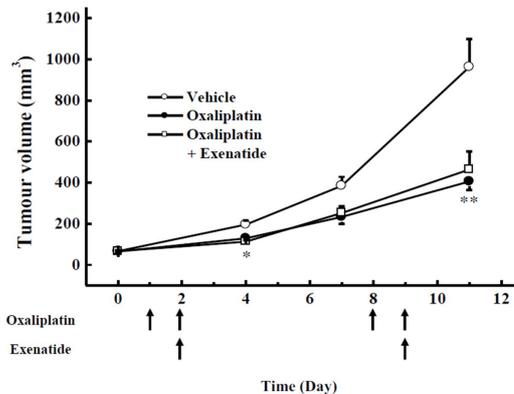


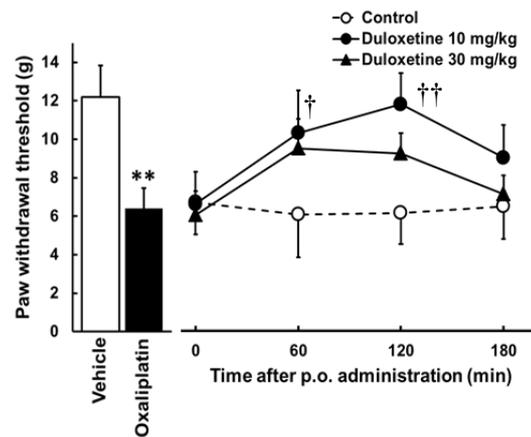
Fig. 4. オキサリプラチンの抗腫瘍効果に及ぼすエキセナチド併用の影響

デュロキセチン

オキサリプラチン誘発末梢神経障害に対するデュロキセチンの効果

オキサリプラチンの投与によって機械刺激および冷感刺激に対する反応性が有意に増加した。これに対して、デュロキセチン 30 mg/kg を単回経口投与すると、機械的アロディニアおよび冷感アロディニアが有意に抑制された (Fig. 5)。

(A) von Frey test



(B) Acetone test

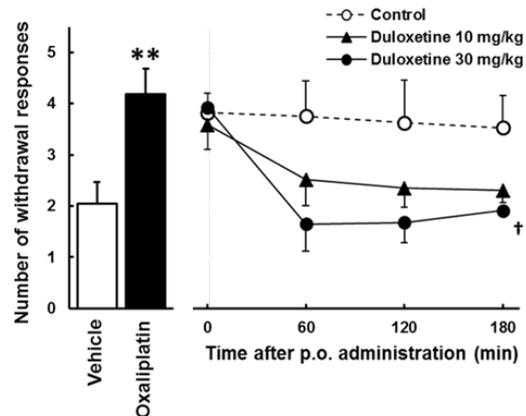


Fig. 5. オキサリプラチン誘発末梢神経障害に対するデュロキセチン単回経口投与の効果

本研究では、うつおよび糖尿病を考慮して、抗がん薬による末梢神経障害に対して、予防および治療薬として有望な候補薬剤の探索を行った。その結果、パクリタキセルおよびオキサリプラチンによる末梢神経障害に対して、胃潰瘍治療薬であるポラプレジック、抗糖尿病薬であるエキセナチド、および抗うつ薬であるデュロキセチンが、それぞれ改善作用あるいは回復促進作用を有することを見出した。さらに、ポラプレジックやエキセナチドが、抗がん薬の抗腫瘍効果に影響しないことも確認した。これらのことから、これらの薬剤が、がん患者の末梢神経障害の改善に有用であることが期待された。

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)

[雑誌論文](計 7件)

Higuchi H, Yamamoto S, Ushio S, Kawashiri T, Egashira N, Goshajinkigan

reduces bortezomib-induced mechanical allodynia in rats: Possible involvement of kappa opioid receptor. J Pharmacol Sci. 2015, 129:196-199. 査読有.

doi: 10.1016/j.jphs.2015.09.004.

Fujita S, Ushio S, Ozawa N, Masuguchi K, Kawashiri T, Oishi R, Egashira N. Exenatide facilitates recovery from oxaliplatin-induced peripheral neuropathy in rats. PLoS One. 2015, 10:(11). 査読有.

doi: 10.1371/journal.pone.0141921.

Yamamoto S, Kawashiri T, Higuchi H, Tsutsumi K, Ushio S, Kaname T, Shirahama M, Egashira N. Behavioral and pharmacological characteristics of bortezomib-induced peripheral neuropathy in rats. J Pharmacol Sci. 2015, 129:43-50. 査読有.

doi: 10.1016/j.jphs.2015.08.006.

Tsutsumi K, Yamashita Y, Ushio S, Kawashiri T, Kaname T, Fujita S, Oishi R, Egashira N. Oxaliplatin induces hypomyelination and reduced neuregulin 1 expression in the rat sciatic nerve. Neurosci Res. 2014, 80:86-90. 査読有.

doi: 10.1016/j.neures.2014.02.004.

Masuguchi K, Watanabe H, Kawashiri T, Ushio S, Ozawa N, Morita H, Oishi R, Egashira N. Neurotrophin[®] relieves oxaliplatin-induced neuropathy via Gi protein-coupled receptors in the monoaminergic descending pain inhibitory system. Life Sci. 2014, 98:49-54. 査読有.

doi: 10.1016/j.lfs.2013.12.229.

江頭伸昭. 抗がん剤による末梢神経障害の発現機序と対策. 医薬ジャーナル. 2014, 50:83-87.

大石了三、江頭伸昭. 抗がん剤による末梢神経障害. 福岡医学雑誌. 2013, 104:171-180.

[学会発表](計9件)

江頭伸昭. 抗がん剤による末梢神経障害の対策研究. 第1回日本医薬品安全性学会学術大会, 福山大学宮地茂記念館(広島県, 福山市), 2015年7月5日

江頭伸昭. 抗がん薬による末梢神経障害に対する予防・治療法の確立を目指した基礎研究. 日本臨床腫瘍薬学会学術大会 2015, みやこめっせ(京都府, 京都市), 2015年3月14日

江頭伸昭. 抗がん剤による末梢神経障害の対策. 第8回日本緩和医療薬学会年会, 愛媛県民文化会館(愛媛県, 松山市), 2014年10月4日

藤田隼輔、牛尾聡一郎、益口 賢、小澤

奈々、小野佑子、馬場美咲、川尻雄大、増田智先、大石了三、江頭伸昭. オキサリプラチン誘発末梢神経障害に対するエキセナチドの効果. 第87回日本薬理学会年会, 仙台国際センター(宮城県, 仙台市), 2014年3月19日

牛尾聡一郎、光安正平、小澤奈々、小野佑子、川尻雄大、増田智先、大石了三、江頭伸昭. オキサリプラチン誘発機械的アロディニアにおける脊髄内グルタミン酸の関与. 第87回日本薬理学会年会, 仙台国際センター(宮城県, 仙台市), 2014年3月19日

光安正平、牛尾聡一郎、川尻雄大、大石了三、江頭伸昭. オキサリプラチン誘発機械的アロディニアにおけるグルタミン酸神経系の関与. 第66回日本薬理学会西南部会, 福岡大学薬学部(福岡県, 福岡市), 2013年11月16日

藤田隼輔、牛尾聡一郎、川尻雄大、森田春香、馬場美咲、江頭伸昭. オキサリプラチンによる神経障害ならびに抗腫瘍効果に対する3-Aminobenzamideの作用. 第66回日本薬理学会西南部会, 福岡大学薬学部(福岡県, 福岡市), 2013年11月16日

江頭伸昭. 抗がん剤による末梢神経障害の発現機序とその対応策. 第7回日本緩和医療薬学会年会, 幕張メッセ国際会議場(千葉県, 千葉市), 2013年9月16日

江頭伸昭、川尻雄大、大石了三. 抗がん剤による末梢神経障害の対策研究. 第40回日本毒性学会学術年会, 幕張メッセ国際会議場(千葉県, 千葉市), 2013年6月18日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

江頭 伸昭 (EGASHIRA, Nobuaki)
九州大学・大学病院・准教授
研究者番号: 80352269

(4) 研究協力者

堤 国章 (TSUTSUMI, Kuniaki)
山本 将大 (YAMAMOTO, Shota)