

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 26 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26293344

研究課題名(和文) がんの発育と痛みにおける痛覚神経とがんのクロストークの解明

研究課題名(英文) Involvement of nociceptive afferents in cancer growth and pain

研究代表者

川股 知之(Kawamata, Tomoyuki)

和歌山県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：80336388

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、がん増殖に対する痛覚神経の関与を明らかにすることを目的とした。その結果、知覚神経の除去やCGRPの欠損により、腫瘍の増殖が抑制されることが明らかとなった。CGRP陽性神経は高率にTRPV1が発現することから、TRPV1遺伝子欠損マウスを用いてTRPV1の関与を検討したが、腫瘍増殖に影響はなかった。次に、各種神経毒を用いて、特定の化学的特徴を有する末梢神経の関与を検討したところ、IB4結合神経も有髄神経も腫瘍の増殖に影響しなかった。以上により、IB4非結合、CGRP陽性の無髄神経が腫瘍の増殖を促進することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to clarify the involvement of nociceptive afferents in tumor growth. Deletion of peripheral afferents or deletion of CGRP gene inhibited tumor growth. Deletion of TRPV1, which is highly expressed in the CGRP-positive afferents, did not affect tumor growth. Next, involvement of primary afferents with distinct neurochemical feature was examined using some neurotoxins including IB4-saporin and CTB-saporin. Neither B4-binding nor myelinated afferents were involved in tumor growth. Our study showed that IB4-negative and CGRP-positive unmyelinated afferents facilitated tumor growth.

研究分野：麻酔科学

キーワード：疼痛 がん 末梢神経

1. 研究開始当初の背景

これまでに申請者は、骨がん痛モデル動物を用いて難治性がん痛の研究を行ってきた。その中で、カプサイシン受容体 (transient receptor potential vanilloid 1, TRPV1) ががんの痛みのセンサーであること、そして、がん組織の増殖に伴って、末梢神経で TRPV1 の発現が増加することを見いだした (Niiyama Y, Kawamata T, et al., Neuroscience 2007)。また、難治性がん痛の研究の先駆者である Mantyh らは、がん組織の増殖に伴って、TRPV1 を発現する CGRP 陽性知覚神経ががん組織を取り囲むように hyperinnervation し、神経腫様構造をとることを明らかにした (Jimenez-Andrade JM, Mantyh PW et al., J Neurosci 2010)。これらのがんの進展に伴う神経系の変化は痛みを強める方向に作用すると推測される。なぜ、我々の体は、がんの進展に伴って、わざわざ強い痛みを発生させるような神経系の変化を引き起こすのか? “がんの痛み” を警告信号として捉えるなら、これらの結果は、“がんの進展に対して生体に強い警告信号を発生させるために、がん組織の周りに痛覚神経を hyperinnervation させるとともに痛み受容体である TRPV1 の発現を増加させ、強い痛み発生させる” といった、生体防御機構の強化と考えることができる。一方、最近、一部の知覚神経と自律神経ががんの増大・転移を促進することが報告されている (Toda M et al., PNAS 2008, Magnon C et al., Science 2013)。すなわち、末梢神経は“警告信号” を発するだけでなく、がんの増大・転移を手助けするという“末梢神経系とがん組織のクロストーク” があることが明らかとなった。痛覚神経の hyperinnervation や TRPV1 発現増加の神経系の変化は、生体防御機構の強化というより、むしろ、がんの増殖を促進するため

ある可能性が高い。これらの現象は、痛覚神経が自らがんの増大・転移を促進し痛みの原因を作りし、そして、その痛みを感知・伝達するというまるでマッチポンプのような役割を果たしているかのようである。この末梢神経とがん組織のクロストークは痛覚神経の活動を抑制することによって、痛みを抑制するだけでなく、がん組織の増大・転移を抑制できる可能性を示唆する。

2. 研究の目的

末梢神経とがん組織のクロストークに関する研究は世界的にも緒に就いたばかりである。これまでに、CGRP 陽性神経と自律神経ががんの増殖を促進することが明らかになっているのみで、痛覚神経とがん増殖とのクロストークの詳細、鎮痛・麻酔の影響は明らかになっていない。申請者は麻酔科学・疼痛学の立場から、特に痛覚神経系とがん組織の間のクロストークの詳細を明らかにするとともに、鎮痛・麻酔ががんの発育・進展に及ぼす影響を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 使用動物

雄性 C57BL6 系統マウス、雄性 TRPV1 遺伝子欠損マウス、および雄性 CGRP 遺伝子欠損マウスを使用した。

(2) 坐骨神経切断モデルの作成

全身麻酔下に左側坐骨神経を露出し、坐骨神経を結紮・切断した。結紮 10 日後に実験に使用した。

(3) 神経毒による選択的末梢神経除去モデルの作成

神経毒として IB4-saporin、CTB-saporin を用い、全身麻酔下に左側坐骨神経内に注入した。対照として、saporin のみ注入した。IB4-saporin と CTB-saporin はそれぞれ、ペプチド非含有無髄神経と有髄神経を

選択的に除去する。神経毒投与 10 日後に実験に使用した。

(4) がん細胞移植

Lewis 肺がん細胞 (LLC) を用いる。がん細胞を $5 \times 10^6 / 20 \mu\text{L}$ の濃度に調整し、全身麻酔下に、インスリン注射器を用いてマウスの左大腿皮下に LLC を移植した。対照マウスには細胞培養液のみ $20 \mu\text{L}$ 皮下投与した。

(5) 腫瘍増殖の評価

腫瘍の大きさは、小動物用 MRI、およびノギスを用いて長径を測定した。

(6) 神経毒による選択的末梢神経除去の確認

神経毒投与したマウスは実験終了後、4%PFA でかん流固定し、坐骨神経、後根神経節、または脊髄を採取し、免疫染色法を用いてターゲットとした神経が除去されているか確認した。

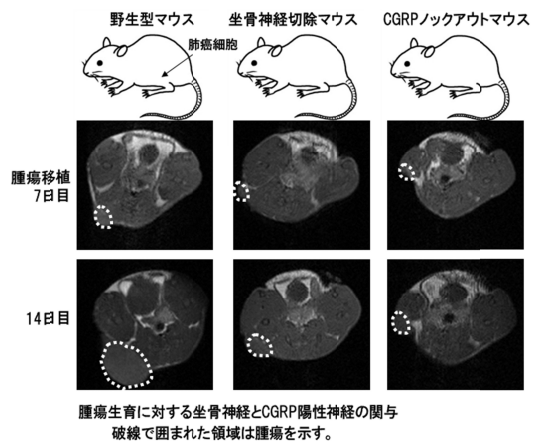
4. 研究成果

(1) 移植された LLC 増殖に関する坐骨神経、CGRP 陽性神経、および TRPV1 の関与

対照マウスでは、移植された LLC は経時的増大した。一方、坐骨神経切断マウスでは、移植された LLC は、対照マウスに比べ、増殖は抑制された (図)。これまでの研究でがん組織の増殖に伴って、CGRP 陽性知覚神経ががん組織を取り囲むように hyperinnervation することが報告されているため、腫瘍増殖に対する CGRP の関与について CGRP 遺伝子欠損マウスを用いて検討した。その結果、CGRP 遺伝子欠損マウスでも、増殖は対照マウスに比べ抑制された (図)。また、腫瘍を採取し腫瘍周囲の血管を CD31 抗体を用いて検討したところ、CGRP 遺伝子欠損マウスに移植された腫瘍では、対照マウスに比べて CD31 陽性が少なかった。

CGRP 陽性神経には高率に TRPV1 が発現しているため、TRPV1 遺伝子欠損マウスを用

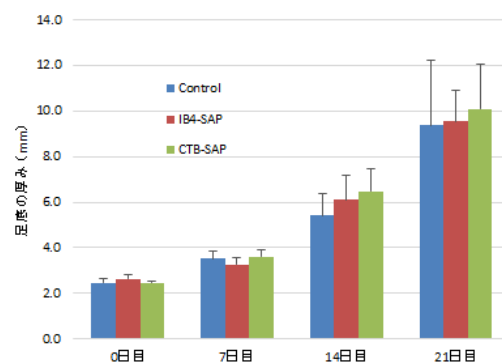
いて TRPV1 の関与を検討した。その結果、TRPV1 は移植された LLC 増殖には影響しなかった。



(2) IB4 結合神経と有髄神経の関与

次に、移植された LLC 増殖を促進する末梢神経の化学的特性を明らかにするために IB4 結合神経と有髄神経の関与を検討した。IB4 結合神経は CGRP などの神経ペプチドを含まない無髄神経である。これらの神経は IB4-saporin と CTB-saporin を用いて、IB4 結合神経と有髄神経をそれぞれ化学的に除去した。その結果、IB4 結合神経も有髄神経も移植された LLC の増殖に関与しないことが明らかとなった。実験終了後に、後根神経節と坐骨神経を採取し、IB4 と NF200 抗体を用いて、IB4 結合神経または有髄神経を確認したところ、IB4-saporin と CTB-saporin により IB4 結合神経と有髄神経が除去されていることを確認した。

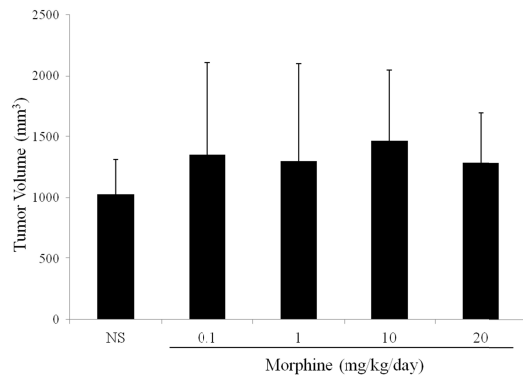
以上により、CGRP 陽性無髄神経が移植された LLC 増殖に関与していることが明らか



となった。

(3) 鎮痛方法と腫瘍増殖

次に鎮痛方法と腫瘍増殖について検討した。99%エタノールによる坐骨神経ブロックは、LLC 増殖を抑制した。次に、モルヒネを 0.1-20 mg/kg/日で 14 日間持続皮下投与した。しかしながら、生食に比べ、すべて



の用量でモルヒネは LLC 増殖に影響しなかった。

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 8 件)

Yoshida A, Kimoto Y, Ejiri K, Yoshimura S, Mitani Y, Kawamata T. Anesthetic management of a patient with Factor VII deficiency undergoing laparoscopic colectomy. JA Clinical Reports 2016;2:30. 査読あり

Fuseya S, Yamamoto K, Minemura H, Yamaori S, Kawamata T, Kawamata M. Systemic QX-314 reduces bone cancer pain through selective inhibition of transient receptor potential vanilloid subfamily 1-expressing primary afferents in mice. Anesthesiology 2016;125:204-18. 査読あり

Tanaka H, Kawamata T, Nose H, Genno H, Kawamata M. Evaluation of physical activity of anesthesiologists in the operating room during daily working using a triaxial accelerometer. Arch Environ Occup

H 2015;70:77-80. 査読あり

Abe Y, Iba K, Sasaki K, Chiba H, Kanaya K, Kawamata T, Oda K, Amizuka N, Sasaki M, Yamashita T. Inhibitory effect of bisphosphonate on osteoclast function contributes to improved skeletal pain in ovariectomized mice. J Bone Miner Res 2015;33:125-34. 査読あり

Hirayama M, Ogata M, Kawamata T, Ishibashi H. Muscarinic receptor-mediated excitation of rat intracardiac ganglion neurons. Neuropharmacology 2015;95:395-404. 査読あり

Ishida M K, Kawamata T, Tanaka S, Shindo, Kawamata M. Calcitonin gene-related peptide is involved in inflammatory pain but not in postoperative pain. Anesthesiology 2014; 121:1068-79 査読あり

川股知之: 骨粗鬆症に伴う痛みのメカニズム. ペインクリニック 2014; 35: 1479-85. 査読あり

川股知之: 骨がん痛のメカニズム. 和歌山医学 2014; 65: 77-83. 査読なし

[学会発表](計 9 件)

Yamazaki A, Higashi S, Miyazaki R, Kawamata T. Comparison of Plasma Concentrations of Levobupivacaine With and Without Epinephrine for Thoracic Paravertebral Block. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists, 2016.10.21-26, Chicago

Nogawa R, Kimoto Y, Maruyama T, Miyazaki R, Kawamata T. Less Leakage With the Catheter-over-needle Compared to the Catheter-through-needle for Continuous Femoral Nerve Block. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists, 2016.10.21-26, Chicago

Tanioku T, Tsuchiyama K, Aratani Y, Kawamata T. IB4-binding Primary Afferents are Selectively Involved in Mechanical Hypersensitivity Observed in an Inflammatory Pain Model but not in a Neuropathic Pain Model. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists , 2016.10.21-26 , Chicago

Kuriyama T, Yuasa K, Kawamata T. Risk Factor for Pregabalin-induced Somnolence and Dizziness in Cancer Patients: A Retrospective Study. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists , 2016.10.21-26 , Chicago

Gotoh S, Yoshiyama Y, Ide S, Kawamata T, Kawamata M: Peripheral Venous Pressure Is Correlated with Central Venous Pressure on Positive-End-Expiratory Pressure Change. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists , 2014.10.11-15 , New Orleans

Kawashima K, Nakahata K, Tanioku T, Kawamata T: The eNOS Gene Polymorphism Is Associated With Ergometrine-Induced Myocardial Ischemia During Cesarean Delivery. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists ,2014.10.11-15 ,New Orleans

Nakahata K, Kurosaki H, Tanioku T, Kanda Y, Kawamata T: The Efficacy of Sugammadex for the Reversal of Rocuronium-induced Neuromuscular Blockade in Women during Cesarean Section. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists , 2014.10.11-15 , New Orleans

Kurosaki H, Kikukawa F, Nakahata K, Doko Y, Soga M, Kawamata T: A Novel Three-Dimensional Guidance System for Neuraxial Block Using Augmented Reality Technology: A Mannequin Study. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists ,2014.10.11-15 ,New Orleans

Yoshimura S, Nakahata K, Kurosaki H, Kawamata T: Fiberoptic Intubation Using JEDTM (Jaw Elevation Device): A Randomized Controlled Trial. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists ,2014.10.11-15 ,New Orleans

〔図書〕(計 8件)

川股知之.TRPV1拮抗薬 治療総論. 痛みの Science & Practice 第8巻 臨床に役立つ神経障害性痛の理解. 井関雅子編. 東京、文光堂、2015、p75-6

川股知之. a抗うつ薬 4鎮痛補助薬 4) オピオイド 身体的苦痛に対する薬物療法 臨床編.誰にでも理解できる緩和ケアの実践書. 花岡一雄編. 東京、克誠堂出版、2015、p100-7

布施谷仁志、川股知之. 表在性疼痛 3原因部位による分類 B痛み発生のメカニズム 総論.メカニズムから読み解く 痛みの臨床テキスト.小川節郎編. 東京、南江堂、2015、p35-9

布施谷仁志、川股知之. 深部の体性痛 3原因部位による分類 B痛み発生のメカニズム 総論.メカニズムから読み解く 痛みの臨床テキスト.小川節郎編. 東京、南江堂、2015、p40-5

川股知之: 骨痛. ペインクリニシヤンのための新キーワード 135. 東京、真興交易(株)医書出版部、2014、pp64-65.

川股知之: 骨転移. 痛みの Science & Practice 第4巻 腰痛のサイエンス. 山本達郎編. 東京, 文光堂, 2014, pp50-55.

川股知之: カンナビノイド 痛みの Science & Practice 第5巻 痛み診療キーポイント. 川真田樹人編. 東京, 文光堂, 2014, pp51.

川股知之: がんによる骨転移痛. 痛みの Science & Practice 第5巻 痛み診療キーポイント. 川真田樹人編. 東京, 文光堂, 2014, pp160.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川股 知之 (KAWAMATA, Tomoyuki)
和歌山県立医科大学・医学部・教授
研究者番号: 8 0 3 3 6 3 8 8

(2) 研究分担者

栗山俊之 (KURIYAMA, Toshiyuki)
和歌山県立医科大学・医学部・講師
研究者番号: 1 0 4 0 5 4 6 7

谷奥 匡 (YANIOKU, Tadashi)
和歌山県立医科大学・医学部・学内助教
研究者番号: 5 0 5 5 4 6 5 6