抗がん薬による末梢神経障害の発現機序解明とその対応策の探索

堤, 国章

抗がん薬による末梢神経障害の機序解明とその対応策の探索

臨床薬物治療学分野　3PS12030N　堤　国章

【序論】

現在臨床の現場では数多くの種類の抗がん薬が使用されている。その中でも白金系，タキサン系，ビンカアルカロイド系抗がん薬およびプロテアソーム阻害薬はその副作用として手足のしびれを主症状とする末梢神経障害を高頻度に引き起こすことが知られている。この末梢神経障害は重篤な骨髄抑制などの副作用とは異なり生命予後に直接影響を及ぼすことはないものの，治療の延期や中止，Quality of Life の低下につながるため臨床上大きな問題となっている。しかしながら，その発現機序は明らかになっておらず，有効な予防策や治療法が確立していないため十分な対策が取られていない。

これまでに当研究室ではオキサリプラチンおよびパクリタキセル誘発末梢神経障害モデル動物を用いた検討により，オキサリプラチン誘発末梢神経障害には NMDA 受容体 NR2B サブユニットが関与すること [Mihara et al., 2011]，パクリタキセル誘発末梢神経障害には後根神経節 (dorsal root ganglion: DRG) におけるサブスタンス P の増加が関与していることを報告している [Tatsushima et al., 2011]。しかしながら，オキサリプラチンやパクリタキセルによる末梢神経障害の発現機序はいまだ不明な点が多いのが現状である。そこで，本件研究ではオキサリプラチンおよびパクリタキセル誘発末梢神経障害の発現機序解明とその保護薬の探索を目的に研究を行った。

【方法】

<u>オキサリプラチンによる坐骨神経の脱髄における neuregulin 1 (NRG1) の関与</u>

雄性 Sprague-Dawley 系ラット (200-250 g) にオキサリプラチン 4mg/kg を週 2 回 4 週間腹腔内投与を行うことにより機械的アロディニアを発現したラットを作成し検討を行った。坐骨神経の形態学的評価は toluidine blue 染色で，DRG における NRG1 の発現変化は real-time PCR 法により評価した。

<u>パクリタキセル誘発末梢神経障害における toll-like receptor 4 (TLR4) の関与</u>

雄性 Sprague-Dawley 系ラット (200-250 g) にパクリタキセル 4 mg/kg を隔日で 4 回腹腔内投与することで機械的アロディニアを発現したラットを作製し検討を行った。DRG へのマクロファージの浸潤は免疫染色で，ケモカイン CCL3 および CCL4 の発現変化は real-time PCR 法により評価した。また，パクリタキセル投与前に TLR4 阻害剤である VIPER を 0.1 mg/kg で静脈内投与し，機械的アロディニア，DRG へのマクロファージの浸潤および CCL3, CCL4 の発現変化に対する効果を検討した。

<u>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保護効果</u>

パクリタキセル投与開始日よりポラプレジンクを 3 または 30 mg/kg で 7 日間経口投与した。機械的アロディニアは von Frey test で，DRG へのマクロファージの浸潤は免疫染色で評価を行った。また，パクリタキセルの抗腫瘍効果に対するポラプレジンクの影響について Lewis lung carcinoma (LLC; マウス肺がん細胞) を用いて担癌マウスを作製し検討を行った。

【結果】

<u>オキサリプラチンによる坐骨神経の脱髄における **NRG1** の関与</u>

オキサリプラチンの投与開始後 25 日目において坐骨神経における髄鞘の傷害が確認された (Fig. 1A)。また，このとき DRG における NRG1 mRNA の発現も有意に低下していた (Fig. 1B)。

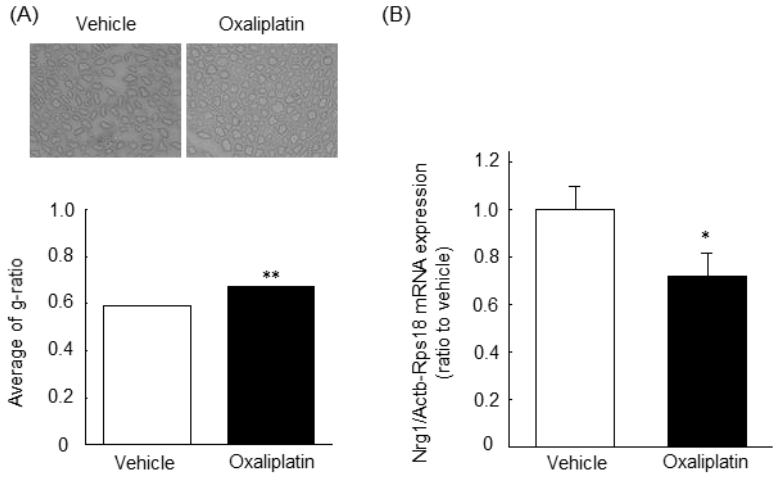

Fig. 2. オキサリプラチンによる坐骨神経の脱髄および NRG1 の発現変化

(A) 坐骨神経の顕微鏡写真および g-ratio の変化 (B) オキサリプラチンによる NRG1 の発現変化 *P < 0.05, **P < 0.01 compared with vehicle.

<u>パクリタキセル誘発末梢神経障害における **TLR4** の関与</u>

パクリタキセルの投与により機械的アロディニアのピークである投与開始後 8 日目において DRG へのマクロファージの浸潤が引き起こされた (Fig. 2A)。また，投与開始後 2 日目において DRG のケモカイン CCL3, CCL4 の発現が有意に増加した(Fig. 2B, C)。

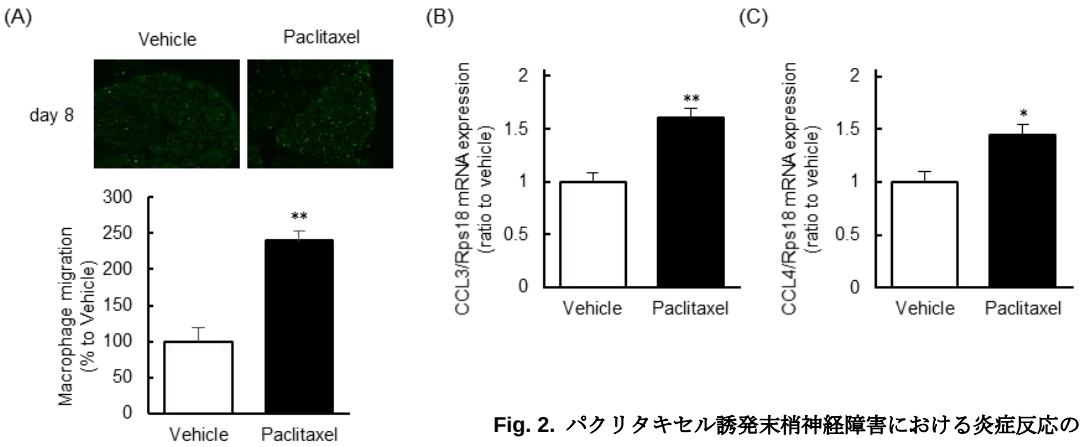

Fig. 2. パクリタキセル誘発末梢神経障害における炎症反応の関与

(A) パクリタキセルによる DRG へのマクロファージの浸潤 (B) パクリタキセルによる CCL3 mRNA の発現変化 (C) パクリタキセルによる CCL4 mRNA の発現変化 *P < 0.05, **P < 0.01 compared with vehicle.

TLR4 阻害剤である VIPER の投与により，パクリタキセル誘発機械的アロディニアの発現は有意に抑制された (Fig. 3A)。さらに，DRG へのマクロファージの浸潤およびケモカイン CCL3, CCL4 の発現増加も有意に抑制された (Fig. 3B, C)。

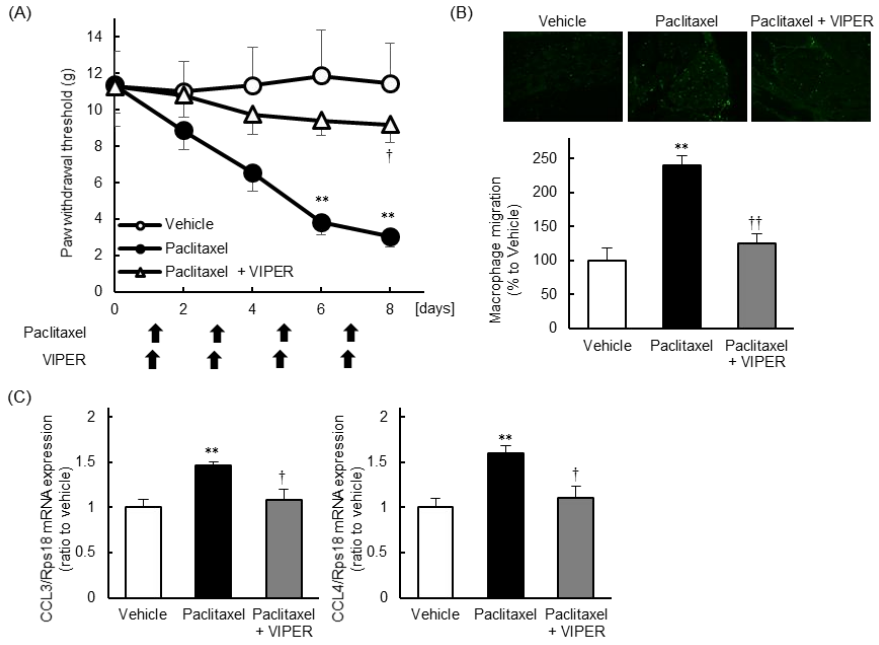

Fig. 3. パクリタキセル誘発末梢神経障害における TLR4 の関与

パクリタキセルによる機械的アロディニア (A)，マクロファージの浸潤 (B)，CCL3, CCL4 mRNA の発現変化 (C) に対する TLR4 阻害剤の効果 ***P* < 0.01 compared with vehicle, †*P* < 0.05, ††*P* < 0.01 compared with paclitaxel.

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保護効果

ポラプレジンクはパクリタキセルの von Frey test における後肢逃避閾値の低下を有意に抑制した (Fig. 4A)。さらに，パクリタキセルによる DRG へのマクロファージの浸潤も有意に抑制した (Fig. 4B)。また，ポラプレジンクはパクリタキセルの腫瘍増大の抑制効果には影響しなかった (Fig. 4C)。

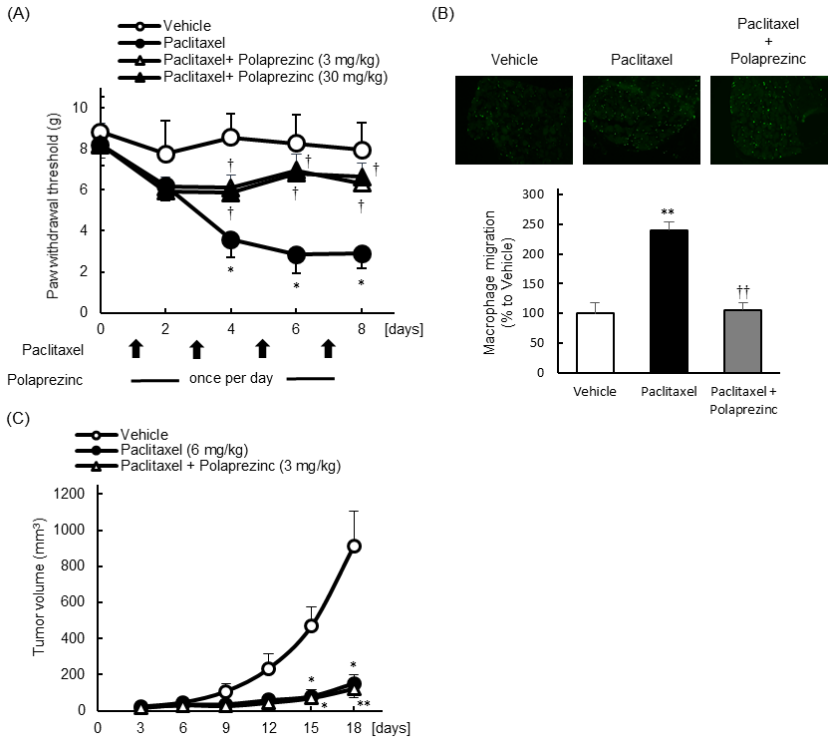

Fig. 4. パクリタキセル誘発末梢神経障害に対するポラプレジンクの効果

(A) 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の効果 (B) DRG へのマクロファージの浸潤に対するポラプレジンクの効果 (C) パクリタキセルの抗腫瘍効果に対するポラプレジンクの影響 **P* < 0.05, ***P* < 0.01 compared with vehicle, †*P* < 0.05, ††*P* < 0.01 compared with paclitaxel.

【考察】

オキサリプラチンおよびパクリタキセル誘発末梢神経障害のモデルラットを作成し発現機序の解析を行った。オキサリプラチン誘発末梢神経障害モデルにおいて坐骨神経における脱髄が引き起こされていることが g-ratio の増加により明らかとなった。そして，この脱髄に関与する因子についてマイクロアレイ解析を用いることで DRG における NRG1 を特定した。NRG1 は坐骨神経に分布する ErbB 受容体に作用することでその下流で髄鞘タンパク質を誘導し，schwann 細胞への髄鞘形成シグナルを伝えている。オキサリプラチンが NRG1 を減少させることにより，個のシグナルが抑制され，髄鞘の形成障害を引き起こしているものと考えられる。また，パクリタキセルによる機械的アロディニアを発現したラットにおいて，障害のピークである パクリタキセル投与開始後 8 日目において DRG へのマクロファージの浸潤が確認された。さらに，それに先立ちマクロファージの遊走に関与するケモカインである CCL3, CCL4 の DRG における発現が有意に増加しており，これらがマクロファージにおける CCR5 に作用することでマクロファージの浸潤を促しているものと考えられる。また，パクリタキセルは TLR4 に結合することが知られており [Byrd-Leifer et al., 2001]，その TLR4 下流のシグナルは NF-κB を介して炎症反応に関与する。よって，TLR4 阻害剤である VIPER を用いてパクリタキセル誘発末梢神経障害への TLR4 の関与を検討した。その結果，パクリタキセルによって引き起こされるマクロファージの遊走，ケモカインの発現増加は抑制され，さらに機械的アロディニアも抑制された。したがって，パクリタキセル誘発末梢神経障害には TLR4 を介した炎症反応が関与していることが明らかとなった。また，糖尿病性末梢神経障害に効果が報告されている亜鉛含有製剤であるポラプレジンクのパクリタキセル誘発末梢神経障害への効果の評価を行った。亜鉛は zinc finger protein のひとつである A20 を活性化することで NF-κB を抑制することが報告されており [Prasad et al., 2011]，TLR4 下流の NF-κB を抑制することによる抗炎症作用が期待できる。今回の検討において，ポラプレジンクはパクリタキセル誘発末梢神経障害を有意に抑制しており，さらにパクリタキセルによる DRG へのマクロファージの浸潤も抑制した。よって，ポラプレジンクは炎症を抑制することでパクリタキセル誘発末梢神経障害を抑制することが示唆された (Fig. 5)。その一方で，ポラプレジンクはパクリタキセルの抗腫瘍効果に影響を及ぼさず，副作用も引き起こしにくいことからパクリタキセル誘発末梢神経障害の予防策として有効な薬剤と考えられる。

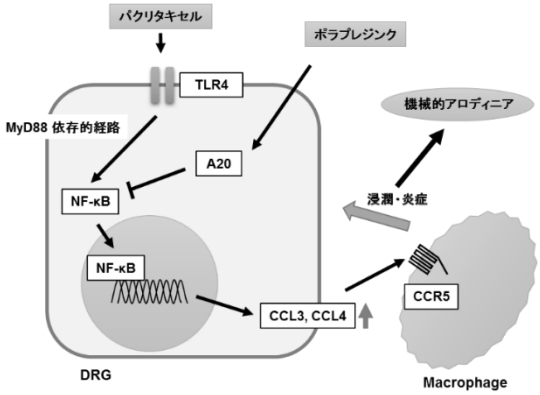

Fig. 5. パクリタキセル誘発末梢神経障害における炎症反応の関与とポラプレジンクの効果

本研究より，抗がん薬の種類ごとに異なる発現機序で末梢神経障害を引き起こしうることが明らかになり，それぞれの発現機序に応じた保護薬の使用が必要である。今回明らかとなった炎症を抑制することでパクリタキセル誘発末梢神経障害を抑制するポラプレジンクが，新たな末梢神経障害の予防薬として今後臨床の現場に反映されることを期待する。

【引用文献】

Byrd-Leifer CA, Block EF, Takeda K, Akira S, Ding A. *Eur J Immunol.* 2001;31:2448-57.

Prasad AS, Bao B, Beck FW, Sarkar FH. *Nutrition.* 2011;27:816-23.

Mihara Y, Egashira N, Sada H, Kawashiri T, Ushio S, Yano T, Ikesue H, Oishi R. Mol Pain. 2011;7:8.

Tatsushima Y, Egashira N, Kawashiri T, Mihara Y, Yano T, Mishima K, Oishi R. J Pharmacol Exp Ther. 2011; 337:226-35.