

骨がんモデルマウスを用いたがん増殖とがん性疼痛の機序の解明

大阪医科薬科大学 医学部 麻酔科学教室

藤原 淳

1. 諸言

骨に転移したがんは、難治性の体動時痛や突発痛を生じさせることで患者の quality-of-life (QOL) を低下させる。がん増殖における血管新生の役割はよく知られているが、神経系の役割は不明である。しかし、骨がん患者の骨に投射された神経の一次求心性線維の変性は、疼痛を引き起こすだけでなくがん増殖に関与している可能性がある。一方、がん患者に対して早期から疼痛コントロールを行うことは、がん患者の生存期間を延長させることが臨床データで明らかになっている。われわれは、骨がんモデルマウスを用いて、種々の薬剤を投与することによりがん性疼痛が緩和されることや生存率が延長することを見出してきた。そこで、がんの血管新生と神経系の2つの役割に着目し研究を行うこととした。一次求心性線維を破壊させたマウスを用いて体性痛の機序を調べた研究は多数報告されているが、骨がんモデルによるがん性疼痛に対して調べた研究はない。また、がん組織の低酸素化は血管新生を誘導し、浸潤や転移性を高める。そのため有酸素運動が発がん予防や再発予防に効果があることが多数の研究で明らかになっているが、がんの治療における効果は明らかになっていない。本研究ではこの一次求心性線維ががんの増殖に関与するのか、またがん性疼痛に対してどのような役割をするのか、さらに有酸素運動を行うことによりがん増殖を抑制し疼痛制御に効果があるかを解明する。

2. 方法

2.1 実験動物

BALB/c 妊娠マウスを購入し、妊娠マウスから出生した雄の新生マウスを用いた。新生マウスの生後 2 日目と 5 日目にカプサイシン 5 mg/kg を皮下投与し、C 繊維を破壊したマウスを作製した。8 週齢時に右脛骨内に 30 G 注射針付きシリンジを用いて 4T1 乳がん細胞 1×10^4 個/10 μ L を移植した骨がんモデルマウスを作製した (図 1)。また、有酸素運動を行う実験に対しては、6 週

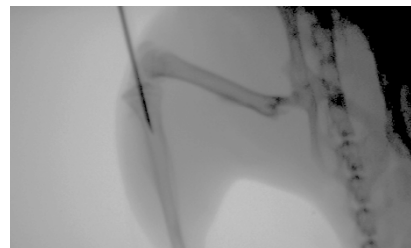


図1 がん細胞脛骨内注入のX線

齢の BALB/c マウスを購入し、2 週間トレッドミルによる順化走を行い、8 週齢時に 4T1 細胞 1×10^4 個/10 μ L を移植した骨がんモデルマウスを使用した。

2.2 行動学的評価

カプサイシン処置により C 繊維を破壊することでがん性疼痛を抑制されるかどうかについて、体重負荷試験装置（dynamic weight bearing : DWB）を用いて肢にかかる重量と接地面積の評価を行った。また、有酸素運動を行うことでがん性疼痛が抑制されるかどうかについて、von Frey フィラメントを用いた機械的刺激による疼痛評価を行った。さらに、カプサイシン処置および有酸素運動による骨がんモデルマウスの生存率についても評価を行った。

2.3 有酸素運動

トレッドミル走行の速度は 7 m/min で設定し、低強度の有酸素運動を目標とした¹⁾。がん細胞移植 14 日前より 1 日あたり 10 分間を 5 日間、7 日前より 1 日あたり 20~60 分間を 5 日間、がん細胞移植後 2 日目から 1 日あたり 60 分間を 5 日間、その後 7 日間のうち 5 日間の走行を繰り返し行った（図 2）。

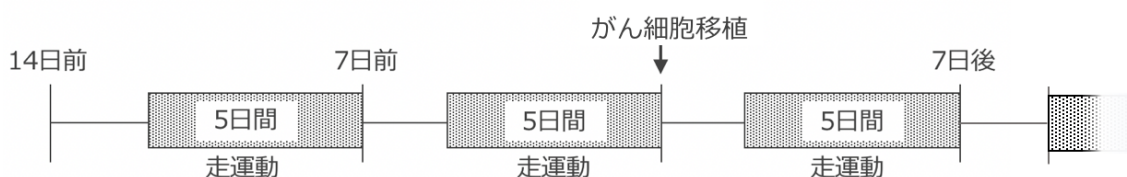


図 2 有酸素運動のプロトコール

3.結果

3.1 骨がんモデル

骨がんモデルの腫瘍増殖を X 線により継時的に観察したところ、骨がんモデル作製後 14 日目から骨溶解を認めた。21 日目より多発性に骨溶解病変を認め、28 日目より骨折を認めた（図 3）。有酸素運動群と非有酸素運動群の骨破壊の進展程度を比較したが、X 線では明らかな差は認めなかった。

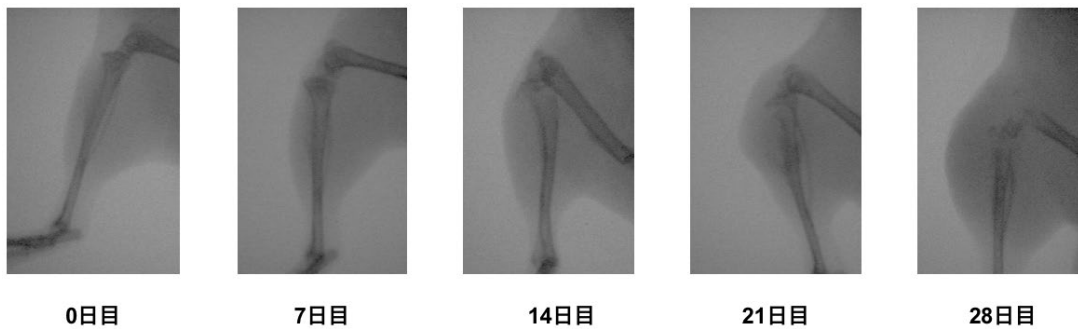


図3 骨破壊進展のX線

3.2 がん性疼痛に対するカプサイシン処置の効果

カプサイシン処置を行った群と無処置の群にそれぞれがん細胞を移植し、その後の疼痛閾値の変化をDWBで測定したところ、2群間に有意差は認められなかった（各群 n = 5）（図4）。

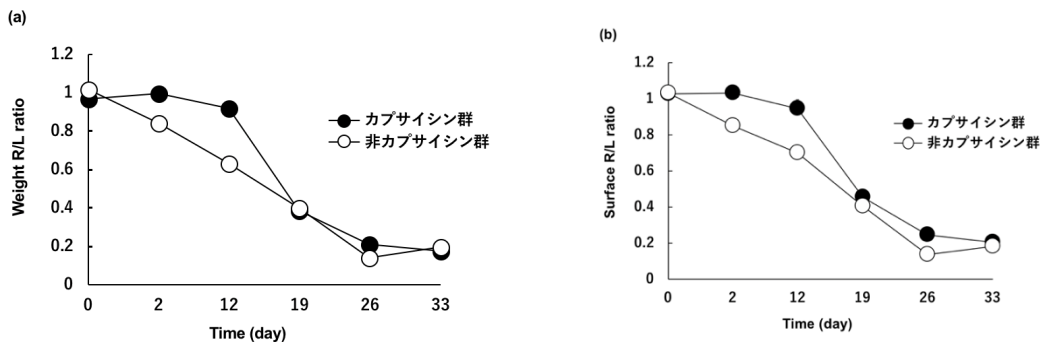


図4 カプサイシン処置を行った群と無処置の群とのがん性疼痛閾値の比較 (a) 肢にかかる重量、(b) 肢にかかる接地面積

図は、疼痛閾値の平均±標準誤差を示す。統計処理は、Student's *t*-test を実施し、 $P < 0.05$ を有意差とした。

3.3 がん性疼痛に対する有酸素運動の効果

トレッドミルを用いて有酸素運動を行った群と行わなかった群のがん性疼痛閾値は両群間において有意差を認めなかった（各群 n = 5）（図5）。

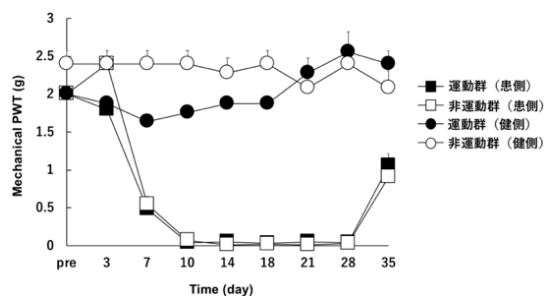


図5 がん性疼痛に対する有酸素運動の効果

図は、疼痛閾値の平均±標準誤差を示す。統計処理は、Student's *t*-test を実施し、 $P < 0.05$ を有意差とした。

3.4 カプサイシン処置および有酸素運動による骨がんモデルマウスの生存率への影響

カプサイシン処置をした群としなかった群、また有酸素運動を行った群としなかった群で

それぞれ骨がんモデルマウスの生存率に影響があるかどうかについて比較検討を行った。カプサイシン処置群 (n=14) と非カプサイシン処置群 (n=9) で生存率に有意差はなく、また有酸素運動群 (n=5) と非有酸素運動群 (n=5) においても両群間で生存率に有意差はなかった (図 6)。

4. 考察

われわれは予備実験でカプサイシン処置により C 繊維を破壊した骨がんモデルマウスの生存率が延長することを確認していたが、本研究結果では再現性を得るに至らなかった。これに関して、マウスの匹数や週齢数の違い、もしくはがん細胞移植後の増殖のばらつきなど手技上の問題が課題としてあげられ、現在検討中である。また、有酸素運動を行うことでがん増殖を抑制することが報告されているが²⁾、本研究結果では有酸素運動の有無で生存率に差はなかった。今後、運動強度の変更やマウスの匹数を増やして再実験することを予定している。がんの種類によって有酸素運動の効果が違いがあるとの報告もあるため、他のがん細胞での骨がんモデルも検討中である。本研究は、カプサイシン処置による C 繊維破壊あるいは有酸素運動によってがん増殖が抑制され生存率が延長することを前提にがん増殖における血管新生や神経系の役割の機序解明を計画していたが、現段階の結果から実験計画の改善を模索している。

5. 結語

本研究結果から、カプサイシン処置あるいは有酸素運動による乳がん細胞を移植した骨がんモデルマウスの生存率の延長を認めなかった。実験手法や計画を見直し、改めてがん増殖における血管新生や神経系の役割の機序解明に取り組むことを予定している。

6. 文献

1) 上勝也, 田口聖, 田島文博, 仙波恵美子. 神経障害性疼痛モデルマウスの Exercise-induced hypoalgesia に対する強制運動と自発運動の効果とそのメカニズム. PAIN

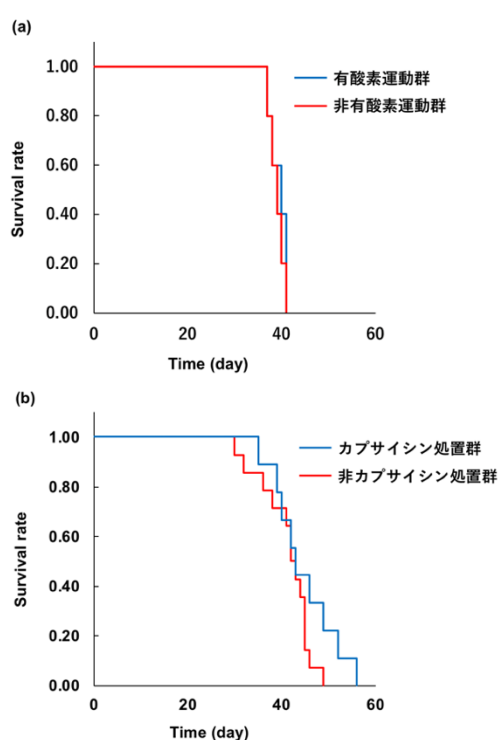


図 6 骨がんモデルマウスの Kaplan-Meier 生存曲線 (a) 有酸素運動群と非有酸素運動群の比較 (b) カプサイシン処置群と非カプサイシン処置群の比較

統計処理は、ログランク検定を実施し、 $P < 0.05$ を有意差とした。

RESEARCH. 2015; 30: 216-29.

2) McCullough DJ, Nguyen LM, Siemann DW, Behnke BJ. Effects of exercise training on tumor hypoxia and vascular function in the rodent preclinical orthotopic prostate cancer model. J Appl Physiol. 2013; 115: 1846-54.

7.成果発表

なし