

がん性疼痛とがん増殖における一次求心性線維の役割の解明

大阪医科薬科大学 医学部 麻酔科学教室

長峯 達成

1. 諸言

がんは 1981 年から日本人の死因のトップにあり、2015 年には約 37 万人ががんで亡くなり、死因 28%を占める。乳がん、肺癌、前立腺がんなどの多くのがんは多発的に骨転移し、末期がんでは耐え難い難治性疼痛を起こすことも少なくない。難治性がん性疼痛の伝達経路の解明は、がん患者の QOL の向上に寄与するものと考えられる。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。骨で増殖するがん組織から遊離される神経成長因子 (NGF) から、末梢神経の発芽や神経腫の形成によりがん性疼痛が誘発される¹⁾。われわれは、骨で増殖するがん組織から遊離される NGF ががん性疼痛に関与するだけでなく、一次求心性線維の神経終末から遊離された生理活性物質ががん組織に作用し、がん増殖に関与するのではないかと考えた。本研究では、カプサイシン処置マウスと TrkA 受容体ノックアウトマウスによるがん性疼痛閾値の変化、がんの進展の変化を比較して、がん性疼痛における一次求心性線維の役割を明らかにすること、また無髄の一次求心性線維(C 線維)の破壊が鎮痛作用だけでなく、がんの進展予防や生命予後にも効果があるかを検討し、一次求心性線維ががん増殖や生命予後に与するとすればどの神経線維がどのようにがんを増殖させるのかを解明することを目的とした。

2. 方法

2.1 がん性疼痛モデルマウスの作製

1983 年に報告があつて以降、カプサイシン処置により C 線維を破壊したマウスでの研究は多数報告されている²⁾。BALB/c 妊娠マウスから出生した雄の新生仔マウスの生後 0 日目と 2 日目にカプサイシン 5 mg/kg を皮下投与し、C 線維を破壊したマウスを作製した。C 線維の破壊は、生後 4 週目に行ったワイピングテストによって証明された。TrkA 受容体ノックアウトマウスは、購入した後に本研究室で繁殖させた。5~6 週齢時となったカプサイシン処置マウスおよび TrkA 受容体ノックアウトマウスの右脛骨骨髓腔内に、ルシフェラーゼ酵素を発現する乳がん細胞株 4T1-Luc を、30G 注射針付きシリンジを用いて 10⁴ 個注入し、骨がんモデルを作製した。

2.2 行動学的評価

カプサイシン処置マウスおよび TrkA 受容体ノックアウトマウスにおいてがん性疼痛が抑制されるかどうかについて、動的体重負荷測定装置 (Dynamic Weight Bearing :DWB、Bioseb 社製) を用いて、左右の肢にかかる重量と接地面積の左右比の評価を行った。

2.3 がんの進展の評価

がんの進展の評価は、マウスに D-Luciferin を 150 mg/kg 腹腔内投与して 10 分後に発光イメージングシステム IVIS で撮影し、光源の光度である Total Flux (photons/sec) によって腫瘍の増殖を定量化した。

2.4 生存率の評価

動物愛護の観点から、急激な体重減少 (数日間で 20%以上) や明らかな衰弱が認められた場合に、安楽死させて生存曲線を作成した。

3.結果

3.1 がん性疼痛モデルマウス

TrkA 受容体ノックアウトマウスは本研究室で繁殖させていたが、すべてのホモ型ノックアウトマウスは胎児期または出生直後に死亡した。

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、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=8) (図 1)。

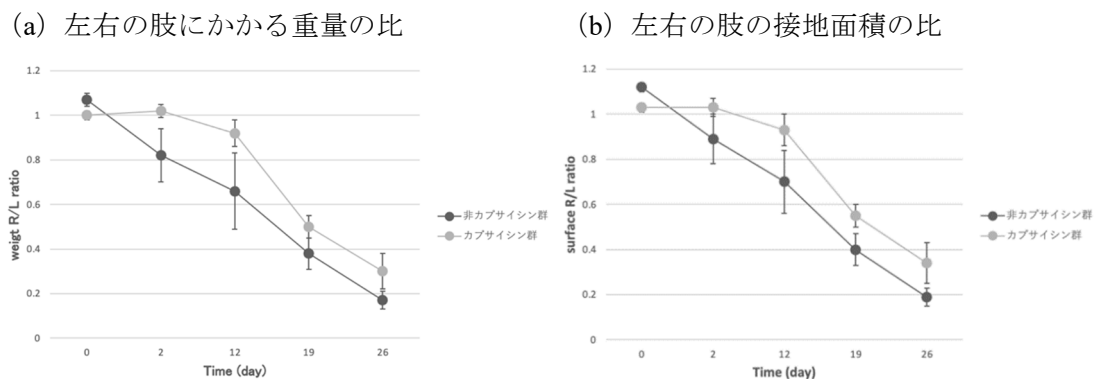


図 1 DWB で測定した各群の疼痛閾値の変化

疼痛閾値の平均±標準誤差を表す。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 発光イメージングシステム IVIS

がん性疼痛モデルマウスを発光イメージングシステム IVIS により経日的に撮影したところ、腫瘍増殖の程度や転移が視覚的に観察できた (図 2)。

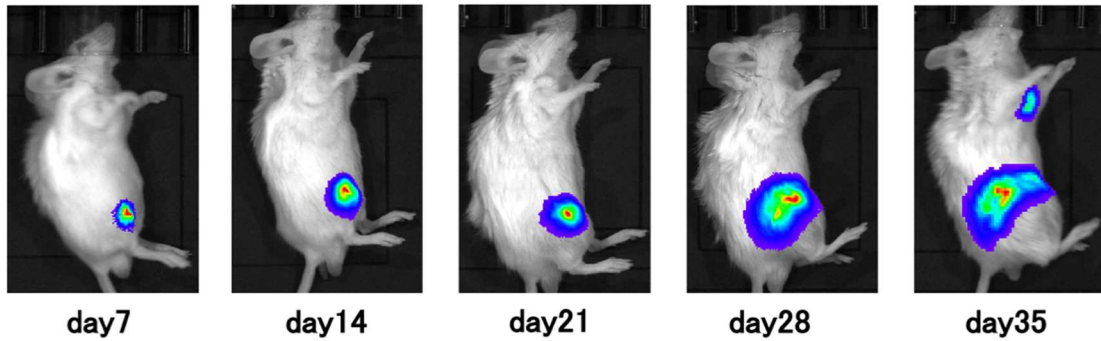


図 2 経日的な IVIS 画像の 1 例

カプサイシン群と非カプサイシン群を比較して腫瘍の増殖の進展に差があるかを調べるために、各々のマウスで光源の光度である Total Flux 値を測定し、腫瘍の増殖の程度を定量化した。カプサイシン処置群で腫瘍の増殖は抑えられる傾向にあったが、両群間に統計学的な有意差は認めなかった。図 3 は、2 群の Total Flux 値の平均±標準誤差の推移を表す。統計処理は、Student's *t*-test を実施し、 $P < 0.05$ を有意差とした。

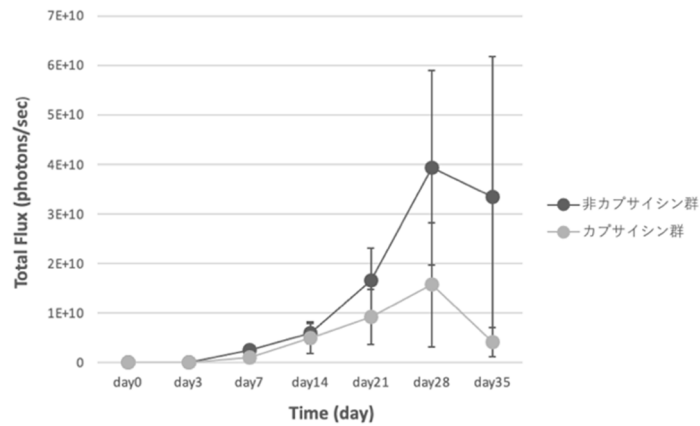


図 3 Total Flux 値の平均±標準誤差の推移

3.4 カプサイシン群と非カプサイシン群の生存率への影響

カプサイシン群と非カプサイシン群で、それぞれがん性疼痛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。カプサイシン群 (n=9) と非カプサイシン群 (n=8) で Kaplan-Meier 生存曲線 (図 4) を作成したが、生存率に有意差はなかった。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。

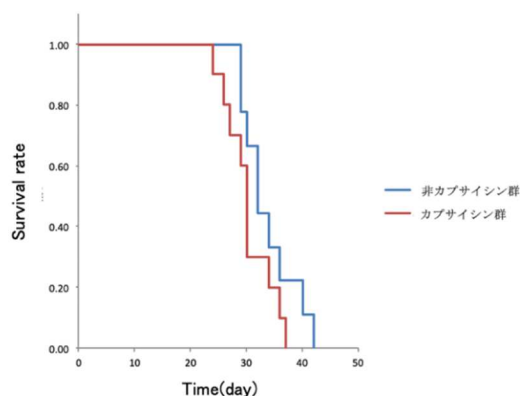


図 4 2 群の Kaplan-Meier 生存曲線

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 線維を破壊したがん性疼痛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、マウスの匹数や週数齢の違い、もしくは細胞培養の仕方や腫瘍注入時の手技上の問題が課題として挙げられ、現在検討中である。また、TrkA 受容体ノックアウトマウスのジェノタイピングは出生直後のマウスの尾から DNA を抽出して行ったが、本研究室で繁殖させていたすべてのホモ型 TrkA 受容体ノックアウトマウスは胎児期または出生直後に死亡し、本研究に応用することができなかった。今後、ホモ型の生存条件を検討していく必要がある。本研究でのがん性疼痛モデルマウスは、C 線維を破壊したカプサイシン処置マウスのみを用いた。また、今回 IVIS による経日的な Total Flux 値の測定においてカプサイシン群と非カプサイシン群では有意差がなかったが、各個体での Total Flux 値のばらつきが大きく、標準誤差の値が大きい信頼性の低いデータとなった。今後、各個体での Total Flux 値のばらつきをなくす方法について検討していく必要がある。各個体での Total Flux 値のばらつきが是正されれば、両群での平均 Total Flux 値の有意差や生存率においても、結果が異なる可能性がある。

5. 結語

本研究では、カプサイシン群と非カプサイシン群において疼痛閾値の変化、腫瘍増殖の程度、生存率に有意差がなかった。実験手法や計画を見直し、改めてがん性疼痛における一次求心性線維の役割の機序解明に取り込むことを予定している。

6.文献

1) Patrick Mantyh. Bone cancer pain: causes, consequences, and therapeutic opportunities. *Pain*. 2013;154:54-62.

2) Nagy JJ, van der Kooy D. Effects of neonatal capsaicin treatment on nociceptive thresholds in the rat. *Journal of Neuroscience*. 1983;3(6):1145-1150.

7.成果発表

なし