

Figure 4 Effect of prophylactic platelet-activating factor (PAF) antagonists or spinal PAF receptor knockdown on the development of partial sciatic nerve ligation induced tactile allodynia in mice. Tactile allodynia was assessed in mice using von Frey hairs on the ipsilateral paws. PAF antagonists were administered i.v. 30 min before nerve ligation. Control mice received injections with a vehicle: saline or 25% 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (cyclodextrin) (A). siRNA or mutant siRNA of PAF receptor (PAF-R) mRNA were transfected into the spinal cord 3 days and 1 h before surgery (B). Data are expressed as the mean \pm standard error of the mean ($n = 6-9$ mice per group). * $p < 0.05$ compared with the corresponding control (vehicle (saline) injection) values, as determined by analysis of variance followed by Dunnett's Multiple Comparison Test. † $p < 0.01$ compared with the corresponding control (vehicle (cyclodextrin) or mutant siRNA injection) values, as determined by analysis of variance followed by an unpaired t -test.

by the following analysis. Intrathecal PAF caused allodynia dose-dependently from 0.001 pg and the response reached a maximum at 0.03 pg (Fig. 5B). When TCV-809 (0.1 mg/kg, i.v.) was pretreated 20 min before PAF injection, the dose-response curve of PAF parallel shifted to the right and the maximum response was obtained at 1000 pg (Fig. 5B). However, when TCV-309 was pretreated at 3 days before the injection of PAF, increasing the dose of PAF up to 1000 pg did not overcome the decreased response. These results suggest that TCV-309 inhibits PAF-induced allodynia in a competitive manner at shortly after the injection of TCV-309 and in a non-competitive manner later.

4. Discussion

The present study showed that PAF antagonists, TCV-309, BN 50739 and WEB 2086 by i.v. or p.o. all have a potent anti-allodynia action in partial sciatic nerve ligation injury, partial infraorbital nerve ligation, chronic constriction of the infraorbital nerve injury and STZ-induced diabetes in mice. Therefore, PAF antagonists might be promising molecules for the treatment of chronic neuropathic pain. However, the possibility should always be considered that PAF antagonists might produce side effects by interfering with the physiological roles of PAF, such as regulation of the blood pressure, immunological or inflammatory responses, Ca^{2+} mobilization in polymorphonuclear leukocyte, or implantation of embryos, as shown by the creation of PAF receptor-transgenic and PAF receptor-deficient mice (Honda et al., 2002).

In a phase II clinical study in septic patients TCV-309, 1 mg/kg, twice daily, intravenously for 14 days has been shown to achieve a substantial reduction in organ dysfunction and morbidity, frequently associated with septic shock, and without significant adverse events, although it did not change the overall mortality due to septic shock (Froon et al., 1996; Poeze et al., 2000). In considering the clinical treatment of neuropathy by PAF antagonists, it is valuable that TCV-309 was effective against neuropathic pain caused by different pathologies, at low doses (ED_{50} : 1.5–10.8 μ g/kg, i.v. and ED_{50} : 16–110 μ g/kg, p.o.), and the effect was constant with repeated administration. Other antagonists also showed a similar profile of anti-allodynia effects. It is particularly remarkable that the anti-allodynia action of PAF antagonists lasted as long as 5–7 days by single i.v. injection of them comparing to the transient effect of gabapentin in partial sciatic nerve ligation injury model.

Amelioration of allodynia in nerve injury mice by i.t. injection of PAF antagonists and knockdown of spinal PAF receptors by PAF receptor siRNA suggests the involvement of a spinal action site for PAF antagonists. Inhibitory glycinergic neurons and GlyRs are abundant in the dorsal horn, where they play an important role in the prevention of pathological pain symptoms. Recent studies have emphasized that dysfunction of inhibitory neuronal regulation of pain signal transduction may be relevant to the development of neuropathic pain. Actually, significant disinhibition following alteration in glycine-mediated inhibition may occur after peripheral nerve injury (Dohi et al., 2009). Cyclic AMP-dependent protein

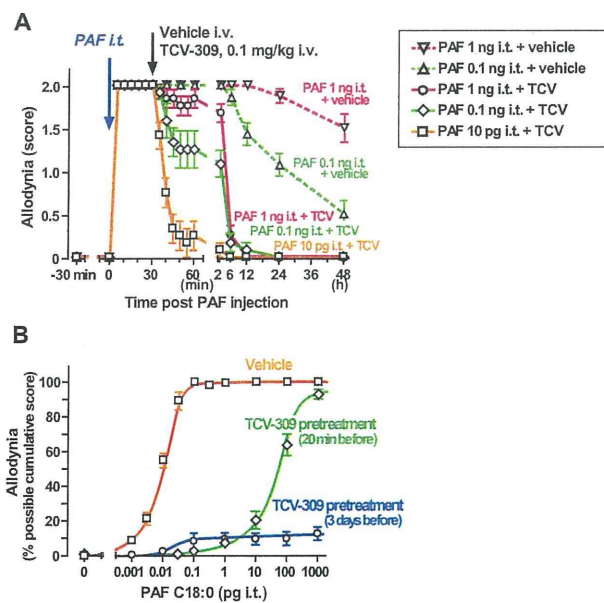


Figure 5 Mode of anti-allodynia action of TCV-309. (A) Time-course of anti-allodynia effects of intravenous injection of TCV-309 (0.1 mg/kg) 30 min after intrathecal injection with various doses of platelet-activating factor (PAF); (Δ ; 0.1 ng + vehicle), (∇ ; 1 ng + vehicle), (\diamond ; 0.1 ng + TCV-309), (\circ ; 1 ng + TCV-309), (\square ; 10 ng + TCV-309) on tactile allodynia. Tactile allodynia was assessed by lightly stroking the flank of each mouse with a paintbrush on both sides of the leg. The score for each mouse was obtained from the average of score from both side trials. Values represent the allodynia score evaluated at each time point as the mean \pm standard error of the mean (SEM) ($n = 8-10$ mice per group). (B) Time-dependent effects of intravenous injection of TCV-309 (0.1 mg/kg) on tactile allodynia induced by intrathecal injection with various doses of PAF. Tactile allodynia induced by PAF (0.01–1000 pg, i.t.) in mice treated with TCV-309 (0.3 mg/kg i.v.) or a vehicle at 30 min and 3 days after the injection. Each point represents the percent of the maximal possible cumulative score over 60 min evaluated every 5 min as the mean \pm SEM ($n = 7-13$ mice per group). Control mice received injections with a vehicle: isotonic saline. Tactile allodynia induced by intrathecal injection with various doses of PAF in mice was not affected by vehicle treatment.

kinase phosphorylates and inhibits a specific subtype of GlyR, GlyR $\alpha 3$, which is distinctly expressed in the superficial dorsal horn and normally controls the excitability of neurons (Ahmadi et al., 2002; Gao and Ji, 2010). This mechanism mediates the central sensitization of inflammatory pain by prostaglandin E_2 through activation of EP $_2$ receptors and adenylate cyclase (Ahmadi et al., 2002; Rácz et al., 2005; Hösl et al., 2006; Gao and Ji, 2010). An increase in the NO/cyclic GMP cascade reduces GlyR $\alpha 3$ function in the spinal cord is involved in the hyperalgesia and allodynia induced by PAF (Morita et al., 2008a). TCV-309 at an adequate dose to produce anti-allodynia in partial sciatic nerve ligation mice failed to ameliorate the allodynia in mice transfected with GlyR $\alpha 3$ siRNA

by siRNA for GlyR $\alpha 3$ -mRNA in injured mice. This suggests that PAF antagonists may relieve PAF-induced reduction of GlyR $\alpha 3$ -mediated inhibitory control of pain signal transduction in the spinal cord.

We have previously reported that GlyT inhibitors, by enhancing spinal glycinergic inhibition, produced an anti-allodynia action (Morita et al., 2008b) and thus proposed that GlyTs are a target for drug discovery for neuropathic pain (Dohi et al., 2009). However, GlyTs inhibitors lack an inhibitory effect on allodynia in the early stage of allodynia development after nerve injury (for 3 to 4 days after surgery), while they produced a long-lasting anti-allodynia action against established allodynia. On the contrary, knockdown of spinal GlyR $\alpha 3$ by GlyR $\alpha 3$ siRNA blocked the initiation of allodynia only during the first 3 days post surgery. This reversed effect of GlyT inhibition on neuropathic pain can be explained by the hypothesis that a reduction in the chloride gradient across the neuronal membrane, which in turn leads to reduction of the anion reversal potential, occurs in neurons of lamina I of the superficial dorsal horn following peripheral nerve injury (Coull et al., 2003), and the change in driving force means that glycine receptor-mediated input produces less hyperpolarization and could even paradoxically depolarize the neuron, while microglia and neuron interaction via brain-derived neurotrophic factor (Coull et al., 2005) may contribute to the phase-dependent anti-allodynia effect of GlyT inhibitors. According to these events, PAF antagonists, if their action is due solely to mediation by activation of GlyR $\alpha 3$, may also be expected to lose their inhibitory action in the early stage of allodynia induced by nerve injury. However, pretreatment with PAF antagonists or siRNA of PAF receptor mRNA before surgery inhibited the initiation of allodynia responses. This result suggests that the anti-allodynia effect of PAF antagonists in the early stage of allodynia development may be due to a different mechanism from relief from PAF-induced disinhibition of GlyR $\alpha 3$.

Another remarkable aspect of PAF antagonist-induced anti-allodynia action is its long-lasting effect. To clarify the mechanism behind the long action of PAF antagonists, the mode of action of TCV-309 against PAF-induced allodynia was investigated. *In vivo* analysis revealed a unique mode of action of TCV-309; the potency of TCV-309 intensified as a function of time after the administration, and the mode of action changed from a competitive manner in the early period after the injection of TCV-309 and to a non-competitive manner in the later period. TCV-309 is a specific competitive inhibitor of PAF receptors with no partial agonistic activity (Terashita et al., 1992) and

this explains the competitive mode of action in the early phase. Next, the intensification of the anti-allodynia potency of TCV-309 and change in its mode of action to a non-competitive manner led us to speculate about the different mechanism of action; such as down-regulation of PAF receptors by binding TCV-309 to PAF receptors. The decrease in surface expression of PAF receptors by TCV-309 in the plasma membrane of microglia isolated from the mouse spinal cord according to the incubation time with TCV-309 (unpublished observation) may support this idea. Further studies would be required to explain the long-lasting action of PAF antagonists by this speculation. To assess another possibility regarding whether PAF antagonists remain in the target tissue during their effective period, pharmacokinetic analysis of the compounds remains to be carried out.

Acknowledgements

The authors wish to thank Dr. Z. Terashita (Takeda Pharmaceutical Co. Kyoto, Japan) and Dr. P. Braquet (Institute Henri Beaufour, Le Plessis Robinson, France) for generously donating TCV-309 and BN50739, respectively. This work was carried out with equipment from the Research Facilities for Laboratory Animal Science, Hiroshima University.

Author contributions

N.M., K.M., T.K. and T.D. oversaw the overall execution of the project, contributed to the experimental design and the interpretation of the results. S.S., Y.U., F.N. and T.K. performed the research. N.M., K.M. and T.K. analysed the data. N.M., K.M. and T.D. wrote the paper. All authors discussed the results and commented on the manuscript.

References

- Ahmadi, S., Lippross, S., Neuhuber, W.L., Zeilhofer, H.U. (2002). PGE₂ selectively blocks inhibitory glycinergic neurotransmission onto rat superficial dorsal horn neurons. *Nat Neurosci* 5, 34–40.
- Bennett, G.J., Xie, Y.K. (1988). A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 33, 87–107.
- Bonnet, J., Loiseau, A.M., Orvoen, M., Bessin, P. (1981). Platelet-activating factor acether (PAF-acether) involvement in acute inflammatory and pain processes. *Agents Actions* 11, 559–562.
- Coull, J.A., Beggs, S., Boudreau, D., Bolvin, D., Tsuda, M., Inoue, K., Gravel, C., Salter, M.W., De Koninck, Y. (2005). BDNF from microglia causes the shift in neuronal anion gradient underlying neuropathic pain. *Nature* 438, 1017–1021.
- Coull, J.A., Boudreau, D., Bachand, K., Prescott, S.A., Nault, F., Sfik, A., De Koninck, P., De Koninck, Y. (2003). Trans-synaptic shift in anion gradient in spinal lamina I neurons as a mechanism of neuropathic pain. *Nature* 424, 938–942.
- Dallob, A., Guindon, Y., Goldenberg, M.M. (1987). Pharmacological evidence for a role of lipoxygenase products in platelet-activating factor (PAF)-induced thermal hyperalgesia. *Biochem Pharmacol* 36, 3201–3204.
- Dohi, T., Morita, K., Kitayama, T., Motoyama, N., Morioka, N. (2009). Glycine transporter inhibitors as a novel drug discovery strategy for neuropathic pain. *Pharmacol Ther* 123, 54–79.
- Doi, K., Okamoto, K., Negishi, K., Suzuki, Y., Nakao, A., Fujita, T., Toda, A., Yokomizo, T., Kita, Y., Kihara, Y., Ishii, S., Shimizu, T., Noiri, E. (2006). Attenuation of folic acid-induced renal inflammatory injury in platelet-activating factor receptor-deficient mice. *Am J Pathol* 168, 1413–1424.
- Faden, A.I., Halt, P. (1992). Platelet-activating factor reduces spinal cord blood flow and causes behavioral deficits after intrathecal administration in rats through a specific receptor mechanism. *J Pharmacol Exp Ther* 261, 1064–1070.
- Froon, A.M.F., Greve, J.W.M., Buurman, W.A., Linden, C.J., Lange-meijer, H.J.M., Ulrich, C., Bourgeois, M. (1996). Treatment with the platelet-activating factor antagonist TCV-309 in patients with severe systemic inflammatory response syndrome: A prospective, multi-center, double-blind, randomized phase II trial. *Shock* 5, 313–319.
- Gao, Y.-J., Ji, R.-R. (2010). Targeting astrocyte signaling for chronic pain. *Neurother* 7, 482–493.
- Hasegawa, S., Kohro, Y., Shiratori, M., Ishii, S., Shimizu, T., Tsuda, M., Inoue, K. (2010). Role of PAF receptor in proinflammatory cytokine expression in the dorsal root ganglion and tactile allodynia in a rodent model of neuropathic pain. *PLoS One* 5, e10467.
- Honda, Z., Ishii, S., Shimizu, T. (2002). Platelet-activating factor receptor. *J Biochem* 131, 733–779.
- Hösl, K., Reinold, H., Harvey, R.J., Müller, U., Narumiya, S., Zeilhofer, H.U. (2006). Spinal prostaglandin E receptors of the EP2 subtype and the glycine receptor $\alpha 3$ subunit, which mediate central inflammatory hyperalgesia, do not contribute to pain after peripheral nerve injury or formalin injection. *Pain* 126, 46–53.
- Hostettler, M.E., Carlson, S.L. (2002). PAF antagonist treatment reduces pro-inflammatory cytokine mRNA after spinal cord injury. *Neuroreport* 13, 21–24.
- Ishii, S., Shimizu, T. (2000). Platelet-activating factor (PAF) receptor and genetically engineered PAF receptor mutant mice. *Prog Lipid Res* 39, 41–82.
- Kaneda, Y., Nakajima, T., Nishikawa, T., Yamamoto, S., Ikegami, H., Suzuki, N., Nakamura, H., Morishita, R., Kotani, H. (2002). Hemagglutinating virus of Japan (HVJ) envelope vector as a versatile gene delivery system. *Mol Ther* 6, 219–226.
- Lindberg, P.J., Yue, T.L., Frerichs, K.U., Hallenbeck, J.M., Feuerstein, G. (1990). Evidence for platelet-activating factor as a novel mediator in experimental stroke in rabbits. *Stroke* 21, 1452–1457.
- Marotta, D.M., Costa, R., Motta, E.M., Fernandes, E.S., Medeiros, R., Quintão, N.L., Campos, M.M., Calixto, J.B. (2009). Mechanisms underlying the nociceptive responses induced by platelet-activating factor (PAF) in the rat paw. *Biochem Pharmacol* 77, 1223–1235.
- Morita, K., Kitayama, T., Morioka, N., Dohi, T. (2008a). Glycinergic mediation of tactile allodynia induced by platelet-activating factor (PAF) through glutamate-NO-cyclic GMP signalling in spinal cord in mice. *Pain* 138, 525–536.
- Morita, K., Morioka, N., Abdin, J., Kitayama, S., Nakata, Y., Dohi, T. (2004). Development of tactile allodynia and thermal hyperalgesia by intrathecally administered platelet-activating factor in mice. *Pain* 111, 351–359.
- Morita, K., Motoyama, N., Kitayama, T., Morioka, N., Kifune, K., Dohi, T. (2008b). Spinal antiallodynia action of glycine transporter inhibitors in neuropathic pain models in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 326, 633–645.
- Okubo, M., Yamanaka, H., Kobayashi, K., Kanda, H., Dai, Y., Noguchi, K. (2012). Up-regulation of platelet-activating factor synthases and its receptor in spinal cord contribute to development of neuropathic pain following peripheral nerve injury. *Mol Pain* 8, 8.
- Poeze, M., Froon, A.H.M., Ramsay, G., Buurman, W.A., Greve, J.W.M. (2000). Decreased organ failure in patients with severe sepsis and septic shock treated with the platelet-activating factor antagonist TCV-309: A prospective, multicenter, double-blind, randomized phase II trial. *Shock* 14, 421–428.
- Rácz, I., Schütz, B., Abo-Salem, O.M., Zimmer, A. (2005). Visceral, inflammatory and neuropathic pain in glycine receptor alpha 3-deficient mice. *Neuroreport* 16, 2025–2028.

- Terashita, Z.-I., Kawamura, M., Takatani, M., Tsushima, S., Imura, Y., Nishikawa, K. (1992). Beneficial effects of TCV-309, a novel potent and selective platelet-activating factor antagonist in endotoxin and anaphylaxis shock in rodents. *J Pharmacol Exp Ther* 260, 748–755.
- Tsuda, M., Ishii, S., Masuda, T., Hasegawa, S., Nakamura, K., Nagata, K., Yamashita, T., Furue, H., Tozaki-Saitoh, H., Yoshimura, M., Koizumi, S., Shimizu, T., Inoue, K. (2007). Reduced pain behaviors and extracellular signal-related protein kinase activation in primary sensory neurons by peripheral tissue injury in mice lacking platelet-activating factor receptor. *J Neurochem* 102, 1658–1668.
- Vargaftig, B.B., Ferreira, S.H. (1981). Blockade of the inflammatory effects of platelet-activating factor by cyclo-oxygenase inhibitors. *Braz J Med Biol Res* 14, 187–189.

がん患者の生活の質の向上をめざす がん疼痛およびがん悪液質症状改善のための研究 —がん患者へ届ける基礎から臨床への トランスレーショナルリサーチ—

独立行政法人国立がん研究センター研究所がん患者病態生理研究分野分野長
上園 保仁

はじめに

がん患者の念願であった「がん対策を充実させて！」という思いは、2006年に「がん対策基本法」を成立させ、そしてそれに基づき翌年「がん対策推進基本計画」が策定されました。それから5年後の2012年5月には「第2期がん対策推進基本計画」が決定され、がん患者やその家族の思い、意向を取り上げ、その実現をめざすために、がん予防から適切な検査法、新規治療法の開発、そして患者の望む緩和ケア実践に至るまでの総合的対策が以前に比べ強く推進されました。また、この2年でその結果を検証するためのプログラムが策定され、そのもとで計画の「真の進捗」が問われ、その結果に基づき第3期へとつながっていく運びになっています。

私たちは、国立がん研究センター研究所がん患者病態生理研究分野にて基礎医学から臨床へのトランスレーショナル(橋渡し)研究を行っています。以前私たちは、がん患者の生活の質向上のための研究について、本連載の第2回¹⁾の80ページに、「現在私たちの研究室では、がん性腹膜炎の痛みの研究をするために、ラット腹腔に胃がん細胞を移植することによりがん性腹膜炎モデルを作製しようと試みています。作製したモデルラットを用いて、いかにしてがん性腹膜炎の痛みを客観的に評価できるかを現在試行錯誤中であり、この基礎医学セミナーの連載のどこかでその結果をご紹介できればと思っています」と書きました。そ

れから3年近く経ちまして、今回その結果をようやく報告することができます。また、他の研究結果も併せてご報告したいと思います。

進行がん患者の最も辛い症状の1つは痛みであり、それは進行がん患者の70%が経験します。痛みは最も患者のquality of life(QOL)を低下させている症状の1つです。緩和ケアの臨床の大きな柱は「がん患者を痛みから解放すること」であり、わが国においても1986年よりWHOによる「WHO3段階除痛ラダー」に沿って適切ながん疼痛対策が行われるようになりました。しかし、この方法が周知され津々浦々まで用いられているかという点、まだまだ不十分であるのが現実です。このWHO3段階除痛ラダーを広めていくことが急務である一方、さらにみえてくるものはこのWHO3段階除痛ラダーについて「もっと工夫できないか」「もっとよい方法はないか」という思いです。もちろんWHO3段階除痛ラダーを適切に用いることが治療の第一歩ですが、この方法をしっかりと用いてもまだ10~15%の患者のがんの痛みがとれないというデータがあります。

WHO3段階除痛ラダーに従って治療を行うと、痛みの強さに応じて非ステロイド性抗炎症薬(NSAIDs)やアセトアミノフェンからコデインリン酸塩などの弱オピオイド、そしてモルヒネなどの強オピオイドへと、症状に応じて弱いものから強いものへと選択が行われます。それに加えて、経験からその臨床使用に至った適応外使用の「鎮痛補助薬」といわれる薬剤群の処方が必要に応じて用いられます²⁾。WHO3段階除痛ラダーに

沿って治療を行っても10～15%の患者で痛みがとれないのは、痛みを起こすメカニズムがかなり複雑であること、まだまだわかっていないところがあるということ、裏返すと、私たちの体には医療用麻薬(オピオイド)が作用するオピオイド受容体を利用して鎮痛する方法とNSAIDsを用いて鎮痛する方法に加え、ほかに痛みを発生させる機構、そして痛みを抑える機構が存在するということだと思います。したがって、その残りのメカニズムを解明すること、それに立脚した治療法を臨床へフィードバックすることはとても重要です。

サイエンスにおける分子生物学や遺伝子工学の進歩は、痛みに関与する細胞膜受容体やイオンチャネル、そのアゴニスト、アンタゴニストなどの研究開発を指数関数的に進歩させてきました。その結果、 μ 、 δ 、 κ と3種類あるオピオイド受容体活性化による鎮痛機構は分子レベルでかなり解き明かされてきましたし、モルヒネ、オキシコドン、フェンタニル、メサドンといったわが国で用いられているオピオイドの鎮痛作用の使い分けや耐性メカニズムの違いなどがかなり克明にわかってきました³⁾。くわえて、さまざまな適応外使用の鎮痛補助薬がどの受容体やイオンチャネルなどを介して鎮痛効果を発揮しているのかという点についても、解明が進んできています。しかし、問題は私たちが細胞レベルや動物モデルを使って明らかにしたメカニズムが、果たしてヒトにも当てはまるのかということです。この狭間をしっかりと繋いでいくことがとても大切です。がん研究で重要なことは、ヒトの症状を反映するがんモデル動物をいかにうまくつくれるかです。また、患者のがん疼痛を表現できる動物モデルをいかに作製するか、モデル動物を用いて得られた結果をヒトにどのように当てはめていくか、この間隙を埋めることもまた重要なポイントです。

がん腹膜播種モデルを用いた鎮痛の研究

私たちは、国立がん研究センター中央病院緩和医療科との共同研究で、オピオイドがあまり効かない腹膜播種性のがん疼痛をとるメカニズムを明らかにし、痛みをとる薬剤を臨床応用に進めるといふ研究のため、まずそんな症状を有するようなモデル動物の作製開発を行いました。図1に示すように、がん細胞を植えることでがん細胞の特徴をもったがんを発症させることのできる免疫不全Scidマウスの腹腔に低分化型胃癌60As6Luc細胞を注入し、腹痛を呈するモデルマウス、つまり胃癌で腹膜播種がありお腹が痛むというモデルを作製しました(図1)。このようにしてできたモデルマウスは鎮痛効果を示す以上の高用量のモルヒネ(10mg/kg)を与えても痛みはほとんど取れませんでした。鎮痛補助薬の1つである局所麻酔薬リドカインを低用量(0.4mg/kg)加えると痛みがほとんど消えてしまうことが明らかとなりました。また、その分子メカニズムについて解析を進めるために、腹腔からの痛みを伝えている部位の脊髄後根神経節の μ -オピオイド受容体遺伝子、ならびにリドカインが働くと考えられている電位依存性ナトリウムチャネル(Nav1.7)の遺伝子発現を測定したところ、その部位での μ -オピオイド受容体はその発現が50%にまで低下しており、一方Nav1.7は30%上昇していることが判明しました。つまりこのモデルでモルヒネが効きにくくリドカインが効きやすい要因として、これらターゲット分子の増減が原因である可能性が明らかになり(図1)、これらの結果を論文に報告しました⁴⁾。また、同研究に加えて、モルヒネがなかなか効かない骨転移のモデルをつくり、同モデルにおいてケタミンが効果的な鎮痛作用を有することも明らかにし、この結果は現在論文にまとめているところです。そのほかに抗がん剤、放射線で発生する口内炎にも焦点を当

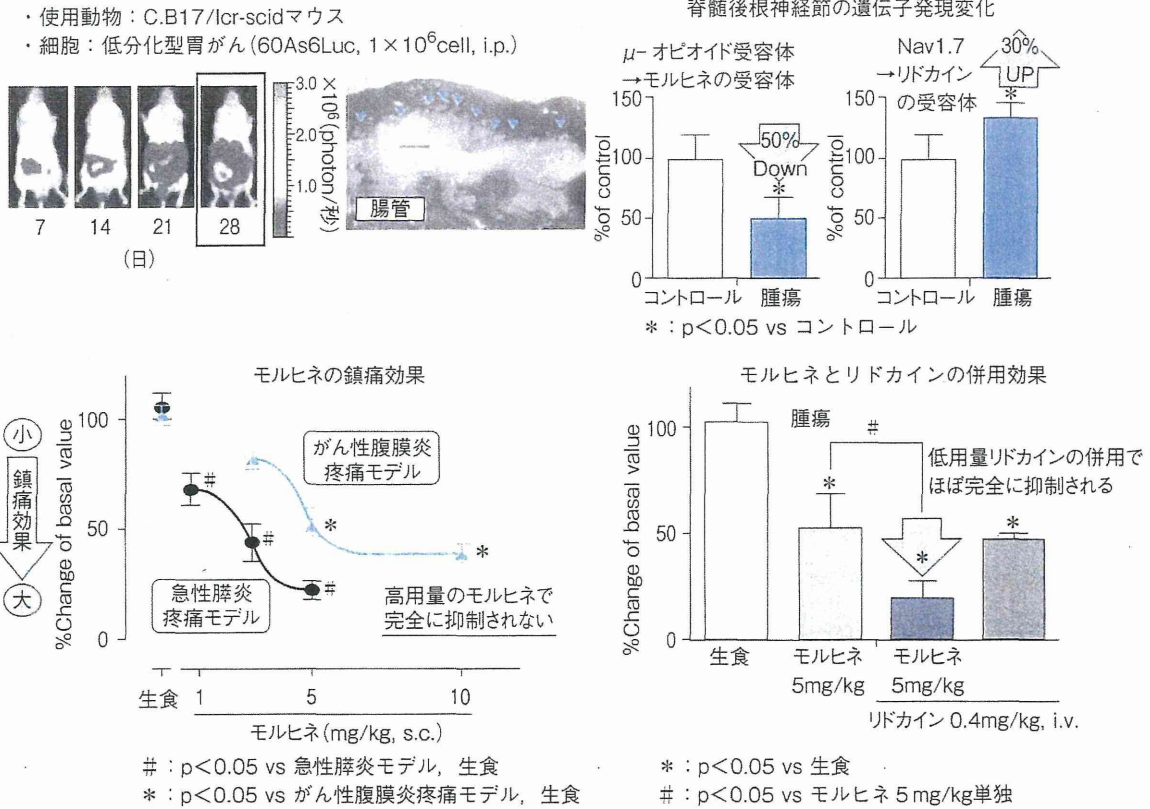


図1. 膵臓癌に伴う難治性腹痛に対するリドカインの鎮痛効果とメカニズム

で、口内炎の痛みをとり、食感や味覚には影響を与えないような新規薬剤の開発を鋭意行っています。この研究についても、口内炎の痛みを客観的に評価できる新たなモデル動物を作製するところから開始しました。この結果が出ましたら、改めて報告できればと思っています。

がん悪液質モデルを用いた患者のQOLを向上させるための研究

がんの痛みに加え、がん患者のQOLを下げるものはほかにもさまざまなものがあります。がん患者のQOLを下げる要因は何かというシステムティックレビュー⁵⁾において、がん患者には37項目以上もの耐えられない苦しみが存在するとの報告があり、上位から疲労感 74%、痛み71%、倦怠

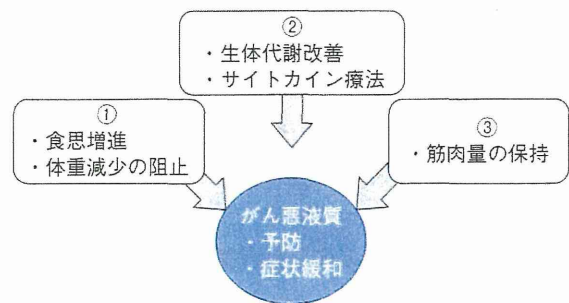


図2. がん悪液質の予防ならびに症状緩和療法のアプローチ

感69%、衰弱感60%、食思不振53%でした⁶⁾。

進行性のがん患者はその70%ががん悪液質と呼ばれる症状、たとえば食思不振、体重減少、特に筋肉量の減少を主徴とする症状を呈します。がん悪液質患者は明らかに予後が悪く、がん悪液質自

体が原因で死亡する患者はがん死亡の20%を占めるといわれ、膵臓がん、胃がん患者に多くみられます⁷⁾。ところが、がん悪液質の予防、治療には決定的なものがないのが現状です。悪液質の症状改善にはさまざまな薬剤が用いられてはいますが、確固たるエビデンスのあるものは多くありません。がん悪液質の症状改善ならびに治療へのアプローチとしては、図2に挙げる3つが考えられます。

本連載の第4回⁶⁾に、私たちの現在行っている悪液質の研究を取り上げました(62ページ)。ようやくその研究の一部がまとまってきましたので、今回その結果も報告します。

私たちは、がん悪液質の症状改善を体重減少の阻止ならびに食思改善を促す薬剤を探すことから始めようと思いました。まず、ヒト胃がん細胞をラット皮下に移植することによりがん悪液質を惹起するモデルを作製しました。そのために、植える胃がん細胞を「悪性」のものに誘導させ、植えるとかかなりの確率で悪液質を起こすという細胞を選び出しました⁸⁾。その細胞を用いると、マウスやラットは100%の確率でがん悪液質を引き起こすことがわかりました⁸⁾(さらに続編投稿中)。同モデルを用いて食思不振や胃炎、嘔吐改善にわが国で古くより用いられている漢方薬「六君子湯」ががん悪液質による体重減少、食思不振の症状を改善するかどうかの実験を行ったところ、六君子湯はその両方とも改善することがわかりました(論文投稿中)。

シスプラチンなどの抗癌剤治療を受けているがん患者は、食事ができない、食事ができても吐いてしまうといった副作用を生じることが多く、このような副作用は抗癌剤を継続使用するうえでの大きな問題となっています。シスプラチンを投与して食思不振を起こさせたラットを用いた別の実験によって、六君子湯がラットの食思を改善すること、またそのメカニズムとして末梢組織で唯一食思促進ペプチドとして知られているグレリン⁹⁾

の分泌増加が明らかとなりました¹⁰⁾。投与されたシスプラチンが腸管にあるクロム親和性細胞から大量のセロトニンを分泌させ、その結果消化管のセロトニン5HT_{2c}受容体が刺激され、胃からのグレリンの分泌が低下することがわかりました。六君子湯はこの5HT_{2c}受容体を抑制することで大量のセロトニンによって低下していたグレリンの分泌を回復させることを明らかにしました。さらに、六君子湯を構成する8種の生薬の1つ、陳皮(温州ミカンの皮を乾燥させたもの)に含まれるヘスペリジンなどのフラボノイド類にその効果があることも突き止められました¹⁰⁾。これらに関するお話は、本連載の第5回¹¹⁾でも詳しく紹介しています。

私たちの作製した胃がん細胞接種悪液質モデルラットでは、六君子湯のがん悪液質における食思改善、体重減少の阻止作用を明らかにしましたが、この食思改善は六君子湯によるグレリン分泌の促進作用によるものだろうと考えました。一方、悪液質を発症したがん患者は食欲が低下し、やせをきたしていますが、実は血中グレリン濃度は上昇しているケースがむしろ多いことも明らかになってきました。おそらくフィードバック機構によりグレリン濃度が上昇しているものと考えられています。そこで私たちのつくったがん悪液質モデルラットのグレリン血中濃度を測定したところグレリンはすでに増加しており、また驚いたことに六君子湯が食思改善や体重減少の阻止を引き起こす際にグレリン濃度は上昇しないことも明らかになったのです。六君子湯が摂食量を増やし体重減少を改善するメカニズムの説明として、私たちは六君子湯にはグレリン受容体を介したシグナルの感受性を上げる作用があるのではと考えました。そこでグレリン受容体発現細胞を用いてグレリン受容体活性化シグナルを測定したところ、六君子湯はグレリンによる反応性を上昇させていること、つまりグレリンの受け手側であるグレリン受容体のシグナルを増強させることがわかりまし

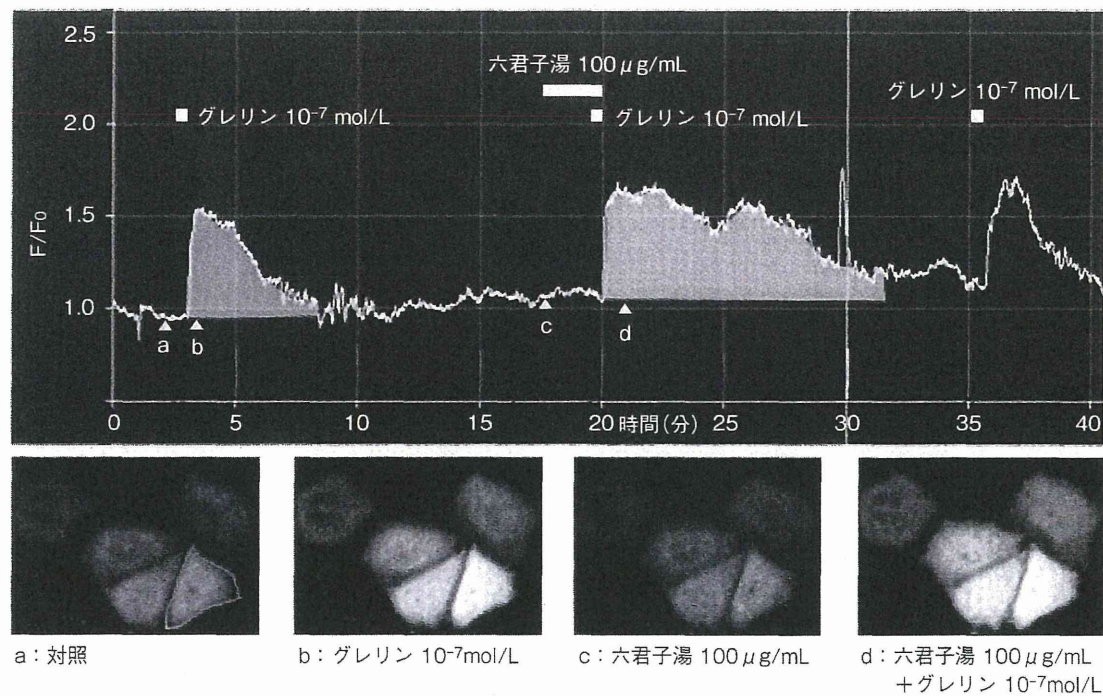


図3. グレリン受容体発現細胞に対する六君子湯のグレリンシグナル増強効果

グレリン受容体(GHS-R)発現細胞においてグレリンによって誘発されるF/F₀蛍光の変化。

(文献12)より改変・引用)

た(図3)¹²⁾。さらに、六君子湯を構成する蒼朮という生薬に含まれるアトラクチロジンにその促進作用があることを突き止めました¹²⁾。

これらの結果を合わせると、六君子湯は陳皮に含まれるヘスペリジンがグレリン分泌を促進し、蒼朮に含まれるアトラクチロジンがグレリン受容体の感受性を上げることで摂食を促す可能性が考えられます。また別の実験で、グレリンが体内不活性化されるステップを六君子湯の生薬成分である生姜のジンゲロールが阻害し、その結果血中に活性化グレリンが長く存在することも明らかになりました¹³⁾。これらをまとめたものが図4です。このように、六君子湯などの漢方薬はそれを構成する生薬成分が協調しあってグレリンシグナルを高めていることが明らかになったわけです¹⁴⁾。

2007～2011年の「がん対策推進基本計画」、2012～2016年の「第2期がん対策推進基本計画」

の策定にあたり、特に働く世代や小児へのがん対策とがんになっても安心して暮らせる社会の構築などの項目が重要課題として追加されました。2012年に50周年を迎えた独立行政法人国立がん研究センターは、わが国におけるがん予防・診断・治療研究における中枢機関です。私たちの研究の場である国立がん研究センター研究所がん患者病態生理研究分野は、がん患者の苦痛を和らげQOLを向上させるための研究を鋭意進め、がん患者のための基礎から臨床に至るトランスレーショナル緩和・支持療法研究を行っていこうと日々研究を進めています。がんに対する診断、治療は、昨今の科学の進展もありまさに日進月歩です。効果的な抗癌剤が次々と生まれるなか、がん患者がより効き目のある抗癌剤と付き合う期間が長くなってきているのが現状です。つまり、抗癌剤の副作用と向き合う期間も長くなってきている

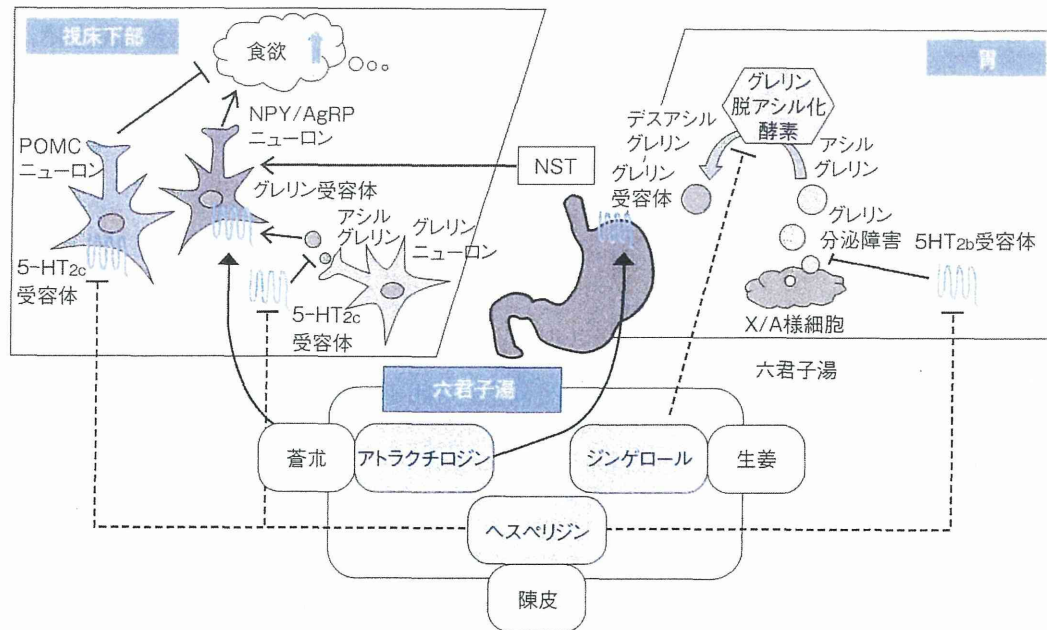


図1 六君子湯が食欲向上を促す機序

六君子湯の2成分が協調して、食思促進ペプチド「グレリン」シグナルを高める。その結果、食思不振が回復し体重減少を抑える。

のです。今後は抗がん剤による副作用の改善、がん悪液質の症状改善など、がん患者のQOLを向上させることがこれまで以上にクローズアップされることと思います。私たちは、がん患者の訴えと向き合い、QOLを維持・向上させるための研究を今後も前進させていきたいと思っています。

文献

- 1) 上園保仁：がん疼痛基礎医学研究—経験を科学に—。がん患者と対療 **21**：78-81, 2010
- 2) 的場元弘：がん疼痛治療のレシピ。東京，春秋社，1-147, 2007
- 3) 今井哲司，成田 年，富安志郎，他：オピオイドの薬理学。Mebio **27**：70-78, 2010
- 4) Suzuki M, Narita M, Hasegawa M, et al：Sensation of abdominal pain induced by peritoneal carcinomatosis is accompanied by changes in the expression of substance P and μ -opioid receptors in the spinal cord of mice.

- Anesthesiology **117**：847-856, 2012
- 5) Teunissen SC, Wesker W, Kruitwagen C, et al：Symptom prevalence in patients with incurable cancer：a systematic review. J Pain Symptom Manage **34**：94-104, 2007
- 6) 上園保仁：がん患者の症状緩和のために—がん悪液質の予防，症状改善をめざす基礎医学研究。がん患者と対療 **22**：58-63, 2011
- 7) Tisdale MJ：Biology of cachexia. J Natl Cancer Inst **89**：1763-1773, 1997
- 8) Yanagihara K, Takigahira M, Mihara K, et al：Inhibitory effects of isoflavones on tumor growth and cachexia in newly established cachectic mouse models carrying human stomach cancers. Nutr Cancer **65**：578-589, 2013
- 9) Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al：Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. Nature **402**：656-660, 1999
- 10) Takeda H, Sadakane C, Hattori T, et al：Rikkunshito, an herbal medicine, suppresses cisplatin-induced anorexia in rats via 5-HT2