

氏名	中尾謙太
(ふりがな)	(なかお けんた)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第1115号
学位審査年月日	令和元年7月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題名	Yokukansan alleviates cancer pain by suppressing matrix metalloproteinase-9 in a mouse bone metastasis model (抑肝散はマトリックスメタロプロテアーゼ-9を抑制することでがん性痛を和らげる)
論文審査委員	(主) 教授 朝 日 通 雄 教授 根 尾 昌 志 教授 河 田 了

学位論文内容の要旨

《目的》

がん患者の予後は格段に良くなっているが、乳がん、肺がん、前立腺がんなど多くのがんは多発的に骨転移することが知られている。がんが骨転移をきたすと耐え難い激しい痛みを起こし、がん患者の QOL を低下させる。がん性痛治療は、医療用麻薬を基本とした鎮痛薬で行われているが、眠気・悪心・嘔吐・便秘などの副作用や、麻薬抵抗性のため十分な治療効果が得られないことも多いが、異なる作用機序を有した有効性の高い薬剤が求められている。そこで、マウスがん性痛モデル(骨転移モデル)を用いて、漢方薬である抑肝散のがん性痛に対する効果とその分子メカニズムについて検討した。

《方法》

5-6週齢、雄、Balb/C マウスの右脛骨骨髓内に 10^4 個の 4T-1 マウス悪性乳腺細胞を接種し、がん性痛モデルを作製した。そのマウスモデルに対して、連日抑肝散(10 mg/0.1 ml) また

は生理食塩水を経口投与し、腫瘍細胞接種前、腫瘍細胞接種 3 日後、5 日後、7 日後に行動評価と X 線による骨破壊領域の評価を行った。行動評価は、Bioseb 社の体重負荷試験装置 (DWB) を使用し、処置側・非処置側の下肢にかかる重量 (g) と接地面積 (mm^2) を測定した。分子メカニズムの解析としては、腫瘍細胞接種前、腫瘍細胞接種 3 日後、5 日後、7 日後に処置側脛骨と脊髄 (L3-5 部分) から RNA を採取し、リアルタイム PCR 法を施行した。また、腫瘍細胞接種 7 日後に、脊髄を還流固定し、脊髄免疫化学染色 (マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP)-2, MMP-9) を施行し、抑肝散投与群と生食群を比較した。さらに、腫瘍細胞接種 7 日後の腫瘍マウスに対して、MMP-2, MMP-9 阻害薬を腹腔内 (50 μg) または髄腔内 (0.5 μg) 投与し、1, 3, 6 時間後に行動評価を行った。統計は Student の t 検定、One-way repeated ANOVA を用い、 $P < 0.05$ を有意とした。

《結果》

がん性痛モデルでは、腫瘍細胞接種 10 日目まで、処置側下肢への体重負荷および接地面積が非処置側に比べて有意に減少した ($P < 0.05$)。抑肝散投与群は生食投与群に比して、腫瘍細胞接種 3、5、7 日目に有意にそれらの減少が抑制された ($P < 0.05$)。また腫瘍細胞接種 7 日目の MMP-9 阻害薬の腹腔内投与、髄腔内投与でも投与 1、3、6 時間後に処置側下肢の体重負荷および接地面積が有意に改善した ($P < 0.05$)。リアルタイム PCR では、腫瘍細胞接種 3 日目に処置側の脛骨で、腫瘍細胞接種 7 日目に処置側の脊髄後角で MMP-9 が有意に増加したが、抑肝散投与群では、その増加が抑制された。脊髄免疫染色から、生食投与群で腫瘍細胞接種 7 日目に処置側の脊髄後角で MMP-9 陽性の細胞数が増加したが、抑肝散投与群ではその増加が抑制された。

《考察》

がん性痛は、がんの浸潤・腫瘍の増大に伴う炎症や圧迫による痛みだけでなく、体動時痛や制御が困難な突発痛もあり、侵害受容性痛のみならず、神経障害性痛の要因も含んだ複雑な痛みである。また、MMP は多くの疾患に関与している蛋白分解酵素であるが、その

中で、MMP-2, MMP-9 は脊髄後角におけるグリア細胞内でのシグナル伝達に影響を与えるため、神経障害性痛との関わりが報告されている。今回申請者らが作製したがん性痛モデルにおいて、初期には末梢で、後期には中枢で MMP-9 が上昇し、抑肝散投与群では発現が抑制された。さらに、MMP-9 阻害薬投与でも疼痛軽減を認めた。抑肝散は、末梢と中枢で MMP-9 を抑制することで、鎮痛作用をきたしている可能性がある。

(様式 甲6)

論文審査結果の要旨

がん患者の予後は格段に良くなっているが、乳がん、肺がん、前立腺がんなど多くのがんは多発的に骨転移することが知られている。がんが骨転移をきたすと耐え難い激しい痛みを起し、がん患者の QOL を低下させる。がん性痛治療は、医療用麻薬を基本とした鎮痛薬で行われているが、眠気・悪心・嘔吐・便秘などの副作用や、麻薬抵抗性のため十分な治療効果が得られないことも多い。そのため、異なる作用機序を有した、有効性の高い薬剤が求められている。

申請者は乳がんの細胞株を脛骨に注入する骨転移のマウスがん性痛モデルを用い、漢方薬の抑肝散のがん性痛における効果を検討した。がん性痛モデルでは、疼痛の指標となる処置側下肢への体重負荷および接地面積が非処置側に比べて有意に減少し、抑肝散投与群は生食投与群に比して、有意にそれらの減少が抑制された。さらに、がん性痛モデルにおいて、初期には末梢（脛骨）で、後期には中枢（脊髄後角）でマトリックスメタロプロテアーゼ-9（MMP-9）が上昇し、抑肝散投与群では発現が抑制された。抑肝散だけでなく MMP-9 阻害薬投与においても疼痛軽減を認めた。これらの結果から、抑肝散が MMP-9 の発現を抑制することでがん性痛に鎮痛効果がある可能性を明らかにした。

がん性痛に対する抑肝散の効果及びその作用機序の一つを解明をしたことから、がん患者の QOL の向上につながることを期待できる知見と考えられる。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条第 1 項に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine

2019, doi: 10.1155/2019/2956920