

## 学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	腫瘍制御科学領域婦人科腫瘍学教育研究分野 氏名 松村 由紀子
<p>(論文題目)</p> <p><b>The prophylactic effects of a traditional Japanese medicine, goshajinkigan, on paclitaxel-induced peripheral neuropathy and its mechanism of action</b> (パクリタキセルによる末梢神経障害に対する牛車腎気丸の予防効果と機序の解明)</p>	
<p>(内容の要旨)</p> <p>上皮性卵巣癌での標準治療は TC 療法である。パクリタキセル (以下 PTX) による副作用の一つに末梢神経障害があるが、約 78% に発症する。治療回数を重ねるごとに悪化し、患者の QOL を低下させる原因となっている。これまで末梢神経障害を緩和するため NSAIDs やステロイド、抗ヒスタミン剤、ガバペンチンなど多くの薬剤が試みられてきたが、確立した治療法がないのが現状である。近年、化学療法に伴う神経障害に TRP (transient receptor potential) チャネルが関与していると報告された。TRP チャネルは 1997 年、温度感受性チャネルとして発見された。細胞膜に存在するイオンチャネルであり、6 つのサブファミリーで構成され、ヒトでは 28 が確認されている。TRP チャネルは体中のあらゆる部位に存在し、化学的、物理的的刺激により活性化されシグナルを伝える。牛車腎気丸は古くから日本で使用されている漢方であり、下肢痛やしびれ、排尿障害、浮腫に対し使用されている。牛車腎気丸は末梢血流を増加させ、NO 産生を増加させることで疼痛効果を示すと言われている。また最近では糖尿病性末梢神経障害や化学療法に伴う神経障害にも効果があると報告されているが、機序については解明されていない。しかし最近、牛車腎気丸には TRP チャネルが関与している可能性があることが報告された。本研究では PTX による末梢神経障害に対する牛車腎気丸の効果を検証し、また TRP チャネルが関与しているか検証した。</p> <p>実験には 8 週齢 Fisher344 ラットおよび TRPV4 ノックアウトマウスを用いた。PTX を 10mg/kg の用量で週 1 回腹腔内投与した。牛車腎気丸は温水で溶解し、30mg を PTX 投与開始の 1 週間前から胃ゾンデで連日投与した。コントロール群、PTX 群、PTX+牛車腎気丸群の 3 群に分けて比較した。まずダイナミックプランターエスチオメーターを用いて痛覚閾値を評価した。5 週目に脊髄後根神経節を摘出し、神経変化を電子顕微鏡下に評価した。また TRP ファミリーの神経節細胞での遺伝子発現を DNA マイクロアレイで比較し、リアルタイム PCR およびウェスタンブロットで発現を比較した。また Tissue microarray で TRP とその複合体の局在を検討した。</p> <p>PTX 群では投与するにしたがって痛覚閾値が低下し不可逆性の変化を示した。一方 PTX+牛車腎気丸群では痛覚閾値が 1 週目には低下したものの、その後開腹し、コントロールと同じレベルを推移した。電子顕微鏡では PTX 群ではコントロール群と比較し、核の変性やミトコンドリアの膨化が明らかであった。PTX+牛車腎気丸群では多少の核変性は認めるものの、概ねコントロールと同程度だった。DNA マイクロアレイによる TRP 遺伝子発現スクリーニングでは、TRPV4 のみが有意に発現していた。リアルタイム PCR で定量した結果、PTX 群ではコントロール群、PTX+牛車腎気丸群に比べ有意な TRPV4 の増加を認めた。ウェスタンブロットにおいても、PTX 群で TRPV4 は有意に増加していた。TRPV4 が感覚刺激を細胞内に伝達するためにはインテグリンと Src チロシンキナーゼが結合することが必要であるため、Tissue microarray でそれぞれの発現</p>	

を同時に比較した結果、PTX+牛車腎気丸群では、TRPV4 の細胞質での発現が PTX 群に比べ明らかに減少していた。インテグリンや Src チロシンキナーゼは明らかな変化と認めなかった。TRPV4 ノックアウトマウスを用いて同様に痛覚閾値の比較を行ったところ、3 群での痛覚閾値の有意な変化は認めなかった。

以上の結果より、牛車腎気丸を投与することによって PTX で誘発される末梢神経障害を軽減することが明らかとなった。PTX により脊髄後根神経節細胞での核変性やミトコンドリアの膨化という変化を認めたが、牛車腎気丸を併用することで、神経細胞の変性を軽減することがわかった。また TRP チャネルのうち、TRPV4 が PTX で誘発される末梢神経障害に関係していた。そして牛車腎気丸は TRPV4 の発現を抑制することで末梢神経障害を緩和することが示唆された。末梢神経障害は PTX 投与早期から神経変化が起こるため、PTX 投与前より牛車腎気丸を開始することが重要であると考えられた。