

氏 名 せと よしひろ  
瀬戸 祥弘

学位の種類 博士(薬学)

学位記番号 富医薬博甲第274号

学位授与年月日 平成30年3月23日

学位授与の要件 富山大学学位規則第3条第3項該当

教育部名 富山大学大学院医学薬学教育部 博士期課程  
薬学専攻

学位論文題目

時間薬理学を基盤としたプラチナ製剤誘発末梢神経  
障害軽減法の検討

論文審査委員

(主査) 教授 笹岡 利安  
(副査) 准教授 安東 嗣修  
(副査) 教授 藤 秀人 (指導教員)

# 論文内容の要旨

## 【背景・目的】

Cisplatin (CDDP) や oxaliplatin (L-OHP) に代表される白金製剤は、古くから使用されている抗がん剤であり、腫瘍細胞の核内の DNA 鎖に結合し、DNA の複製および転写を阻害することで抗腫瘍効果を発揮する。CDDP は、膀胱がんや子宮がんなどの領域において、依然としてキードラッグの一つとされている。L-OHP は、結腸直腸がん領域において重要な薬剤として用いられており、2015 年には進行性の胃がんに対しても本邦で適応を獲得し、今後さらに使用が拡大されると予想される。しかし、CDDP および L-OHP は、薬剤性神経障害を発現する薬剤としても知られている。CDDP 誘発末梢神経障害は、四肢末梢の手袋靴下型の軽度のしびれから始まり、初期症状として普段疼痛を感じない触刺激などを痛みとして感じる allodynia が発現し、さらに投薬を継続していくと痛みを感じにくくなる感覚鈍麻へと重症化する。L-OHP は、冷たいものや空気に触れることでこれを痛みとして感じてしまう冷感過敏反応という特徴的な末梢神経障害を発現する。これらの末梢神経障害の発現メカニズムには不明な点が多く、ビタミン剤や漢方薬の併用など様々な検討がなされてきたが、有効な予防および対処法はなく、その対処法の構築が急務である。

時間薬物療法とは、薬の体内動態などの日内変動および生体成分や病態の日周リズムを考慮して、適切な投薬タイミングに治療を行うことで薬の効果増大や副作用軽減を目的とする薬物療法である。一例として、気管支喘息治療薬テオフィリンは、喘息発作が最も発現する夜間から早朝に効果が最大となるように就寝前に投薬されている。一方、病態の日周リズムをモニタリングできないがんにおいても、抗がん剤の投薬時刻を考慮することで効果の増大や副作用軽減ができることが報告されている。これまで当研究グループでは、CDDP の投薬時刻を考慮することで、副作用である嘔吐や腎機能障害を軽減できるという知見を基礎研究や臨床研究にて得てきた。そこで白金製剤によって生じる末梢神経障害に対しても時間薬物療法が有効ではないのかと考えた。

本研究の第 1 章では、第一世代の白金製剤である CDDP によって生じる末梢神経障害に対して、時間薬理学的アプローチが有益であるか否かを検討した。第 2 章および第 3 章では、CDDP 誘発末梢神経障害を、Pregabalin (PGN) および Valproate (VPA) を併用することで改善できないか検討した。第 4 章では、第 3 世代の白金製剤である L-OHP の投薬時刻を考慮することで、冷感過敏反応の発現を抑制できるか否かを検討した。

## 【結果・考察】

### 第 1 章 CDDP の投薬時刻の違いによる末梢神経障害への影響

CDDP (4 mg/kg) を 5:00 または 17:00 に 7 日毎、計 4 回尾静脈内投薬したところ、初回投薬後 3 日目 (day 3) から機械刺激に対する疼痛閾値が、control 群と比較し 5:00 および 17:00 投薬群で有意

に低下し、両投薬群ともに allodynia を発症した (Figure 1)。しかし、CDDP の投薬を継続すると、CDDP 投薬群間で疼痛反応に差異が生じてきた。5:00 投薬群では、最終投薬後 6 日目 (day 27) まで control 群と比較し有意に低い疼痛閾値を示し続けた。一方、17:00 投薬群では、2 回目投薬後以降に疼痛閾値が上昇し、最終投薬後には control 群と比較し有意に高い疼痛閾値を示した。この 17:00 投薬群における疼痛閾値の上昇が、末梢神経障害の改善によるものか、末梢神経障害の重症化によるものか機械刺激による評価では判断することができない。そこで、感覚鈍麻を評価できる熱的侵害試験法である hot plate test を行った。CDDP 初回投薬後 6 日目 (day 6) において、熱刺激に対する逃避行動までの時間は、すべての群間で有意な差はみられなかった (Figure 2A)。しかし、機械刺激による評価で 17:00 投薬群の疼痛閾値が上昇した最終投薬後の測定において、逃避行動までの時間は、control 群及び 5:00 投薬群と比較し 17:00 投薬群で有意に遅延した (Figure 2B)。したがって、CDDP の反復投薬を継続すると 17:00 投薬群のみ感覚鈍麻に進行したと考えられる。また、5:00 投薬群では、同投薬スケジュールによる反復投薬を継続したところ、投薬開始後 34 日目以降から感覚鈍麻を観察することができた。これらの結果から、CDDP の投薬タイミングを考慮することで、末梢神経障害の発現に差異が現れ、5:00 投薬群では、17:00 投薬群と比較して末梢神経障害の重症化を遅延できることが明らかになった。

CDDP 誘発末梢神経障害の重症化は、感覚神経の細胞体である dorsal root ganglia (DRG) への CDDP の蓄積量と相関があることが報告されているため、CDDP の薬物動態に投薬時刻の違いによって差異が生じていると考えた。そこで、CDDP 初回投薬後および投薬時刻の違いによって末梢神経障害の重症化に差異が生じてきた 4 回目投薬後 24 時間目の DRG 中 CDDP 濃度を測定した。しかし、初回および 4 回目投薬後いずれにおいても、5:00 および 17:00 投薬群間で有意な差異はみられなかった。したがって、投薬時刻の違いによって CDDP 誘発末梢神経障害に差異が生じるメカニズムに薬物動態は関与していないと考えられる。

本章において、CDDP の投薬時刻を考慮することで、allodynia から感覚鈍麻に進行する末梢神経障害の重症化を遅延できた。5:00 投薬群において重症化を遅延できた詳細なメカニズムは不明であるが、有効な対処法が無い CDDP 誘発末梢神経障害を、投薬時刻を考慮するだけで抑制できることは非常に有益である。しかし、重症化を抑制できた 5:00 投薬群においても初期症状の allodynia は発現してしまう。Allodynia の発現は、がん患者の治療に対するモチベーションの低下や生活の質の低下を引き起こすため、allodynia の発現抑制を目的にさらなる検討が必要であると考えられる。

## 第 2 章、第 3 章 CDDP 誘発痛覚過敏反応に対する PGN および VPA の影響

CDDP の投薬時刻を考慮することで、末梢神経障害の重症化を遅延できたが、初期症状の allodynia は発現してしまう。そこで、近年、神経障害性疼痛に対して第 1 選択薬として使用されている PGN が、CDDP による allodynia を抑制するか否かを検討した。ラットに対して PGN (5 mg/kg/day) を 1 日 2 回 8:00 と 20:00 に経口投薬したところ、PGN を投薬している期間は、CDDP による allodynia を抑制することができた。しかし、PGN を休薬すると、allodynia が再発した (Figure 3)。したがって、PGN は、痛覚伝達抑制により抗 allodynia 作用を示すが、CDDP による神経損傷を抑制することはできないと考えられる。今回の結果から、CDDP 誘発 allodynia に対して PGN を用いる場合、CDDP 投薬開始後、PGN を休薬することができず、長期連用が必要となる。しかし、PGN の副作用

としてふらつきやめまい等が高頻度に発現することが知られており、副作用発現リスクの増加が懸念材料である。以上より、PGNによる副作用発現の予防を検討しなければならないが、PGNはCDDP誘発 allodynia を抑制することができる有益な薬剤として期待される。

VPA は、臨床において神経障害性疼痛に対して鎮痛効果を示し、基礎研究において神経保護および修復作用を有することが報告されている。そのため、CDDP 誘発 allodynia に対して神経損傷を改善できず、副作用発現リスクのある PGN と比較し、VPA はより有用でないかと考えた。ラットに対し、VPA (300 mg/kg/day) を 8:00 と 20:00 に連日経口投薬したところ、VPA 併用群の疼痛閾値は、CDDP 単剤群と比較し有意に高値を示し、allodynia を抑制した (Figure 3)。また、VPA 併用群の疼痛閾値は、VPA の投薬を休薬しても control 群と同等の値を示し、CDDP 単剤群と比較し高値を示した。一方、VPA を単回投薬した時、VPA は、CDDP 誘発 allodynia を一過性に抑制し、時間が経過すると allodynia が再発した。これらの結果から、VPA は、神経の過剰興奮に起因する痛覚伝達の抑制作用を示し、反復投薬を行うと神経損傷改善作用も示すと考えられる。VPA は、TDM の対象薬であり、投薬のコントロールが必要であるが、血中モニタリングを活用し、適正使用を行うことで allodynia を抑制できるだけでなく、CDDP による神経傷害を改善することができるかもしれない。

#### 第 4 章 L-OHP の投薬時刻の違いによる冷感過敏反応への影響

第 1 章において、投薬時刻を考慮することで、CDDP 誘発末梢神経障害の進行を遅延できることが明らかになった。そこで、同じ白金製剤である L-OHP によって生じる冷感過敏反応を、投薬時刻を考慮することで軽減できるのではと考えた。C57/6J mice に対し、L-OHP (5 mg/kg) を任意の 6 時点に投薬したところ、他の投薬時刻群と比較して 9:00 投薬群の冷刺激に対する逃避回数は高値を示した (Figure 4, 5)。L-OHP は、生体内で非酵素的に Pt (dach)Cl<sub>2</sub> と oxalate に代謝される。L-OHP の投薬時刻の違いによって冷感過敏反応の発現に差異が生じた要因として、Pt (dach)Cl<sub>2</sub> もしくは oxalate が影響していると考え、Pt (dach)Cl<sub>2</sub> (4.8 mg/kg) または oxalate (1.7 mg/kg) を任意の 6 時点に投薬した。Pt (dach)Cl<sub>2</sub> 投薬群は、いずれの投薬時刻においても冷感過敏反応を発現しなかった。一方、oxalate を投薬した場合、L-OHP 投薬時と同様に、9:00 投薬群の冷刺激に対する逃避回数は、他の時刻に投薬した群と比較し顕著に増加した。これらの結果から、L-OHP の投薬時刻を考慮することで、冷感過敏反応の発現を抑制できることが明らかとなった。また、投薬時刻の違いによって生じる冷感過敏反応の差異は、L-OHP の代謝物である oxalate によるものであると考えられる。臨床において L-OHP による冷感過敏反応は、L-OHP を投薬されたほぼすべての患者に発現するが、冷感過敏反応に対する対処法は構築されていない。今後メカニズムの解明や臨床研究を行わなければならないが、適切な投薬タイミングを設定することで、L-OHP による冷感過敏反応の発現を抑制できる可能性が考えられる。

#### 【結論】

白金製剤によって生じる末梢神経障害は、時間薬理的なアプローチによって毒性を軽減することが基礎研究によって明らかになった。また、併用薬を用いることで、その有用性は、さらに向上できる。今後、臨床研究に向けた種々の研究を進めていきたい。

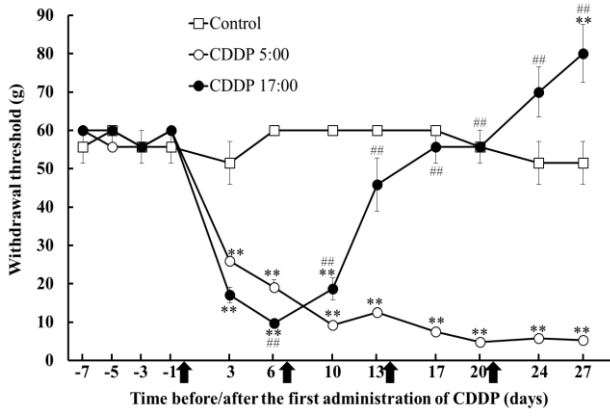


Figure 1. CDDPの投薬時刻の違いによる機械的allodyniaへの影響

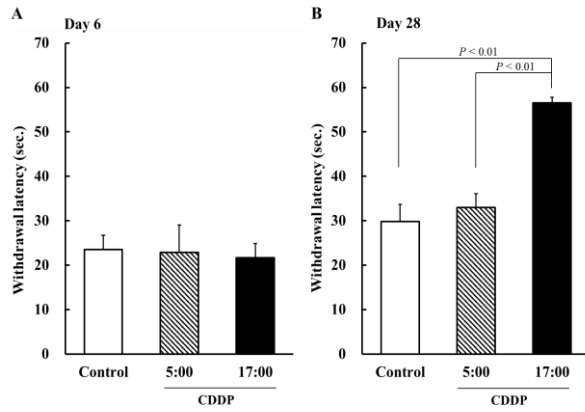


Figure 2. CDDPの投薬時刻の違いによる感覚鈍麻への影響

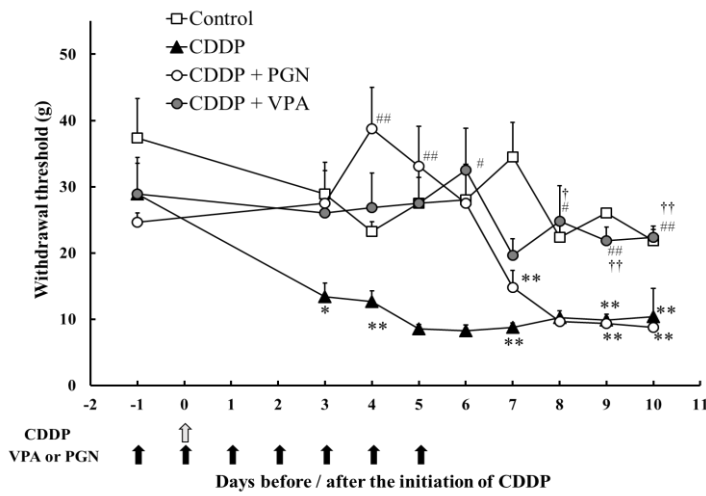


Figure 3. CDDP誘発痛覚過敏反応に対するVPAおよびPGNの影響

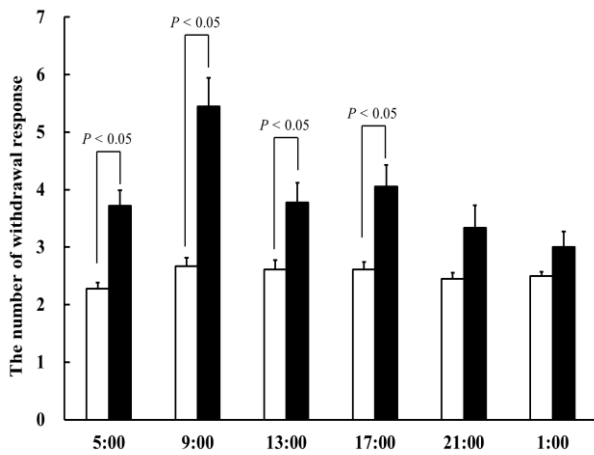


Figure 4. Oxaliplatinの投薬時刻の違いによる冷感過敏反応への影響

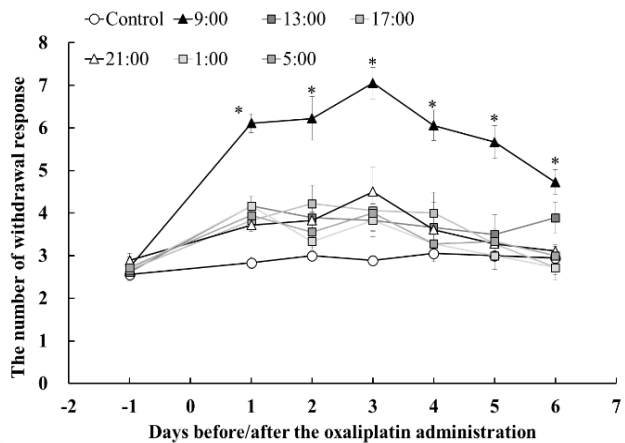


Figure 5. Oxaliplatinの投薬時刻の違いによる冷感過敏反応の経日的変化

## 学位論文審査の要旨

本研究は、抗がん剤の白金製剤によって生じる末梢神経障害を改善するために、時間薬理学的手法を用い、下記の成果を得た。

### 1. シスプラチン (CDDP)の投薬時刻の違いによる末梢神経障害への影響 (第1章)

CDDP投薬することで、多くの患者で末梢神経障害があらわれる。この障害は、軽度な初期では普段疼痛を感じない触刺激などを痛みとして感じるallodyniaが生じ、重症化すると痛みを感じなくなる感覚鈍麻へと進行する。本研究では、CDDPの継続投薬によって臨床での病態進行に類似した神経障害のモデル動物を作成し、CDDPの投薬時刻の違いによる神経障害への影響を評価した。5:00もしくは17:00にCDDPを投薬したとき、両投薬群ともに初回投与後6日目にcontrol群と比較し、有意に痛覚閾値の低下がみられた。CDDPを反復投薬すると、17:00投薬群では痛覚鈍麻へと神経症状は悪化した。一方、5:00投薬群では、allodyniaは発現しているものの、神経障害の進行は1ヶ月間の試験期間中ではみられなかった。投薬時刻の違いによる神経障害の程度に差異が生じたが、この差は神経障害の重症化を抑制したものであるか、遅延させたものであるのか不明であった。そこで、CDDPの用量及び投薬期間を延長させ再評価を行ったところ、5:00投薬群においても、長期間の連用によって痛覚鈍麻症状が発現することが明らかとなった。以上より、本研究では、CDDPの投薬時刻を考慮することで、末梢神経障害の重症化への進行速度を改善できることが示唆された。臨床において、神経障害の重症化を遅延できることは、効果が出ている患者において、神経障害の重症化によって断念しなければならない治療を継続できることにつながるため、CDDPの時間薬物療法は有益な治療法の一法になる可能性が期待できる。

### 2. CDDP 誘発痛覚過敏反応に対するプレガバリン (PGN) およびバルプロ酸 (VPA) の影響 (第2,3章)

CDDPの末梢神経障害に対して、時間薬物療法が効果的である一方、allodynia症状の改善はできていなかった。そこで、本研究では、痛みに対する治療薬として治療され、期待されているPGNもしくはVPAを併用し、抗allodynia効果を評価した。CDDPを投薬開始する前、またはallodyniaが発現している時期から、両薬剤をそれぞれ投薬したところ、両併用群ともに、CDDP単剤投薬群と比較し、有意な抗allodynia効果がみられた。しかしながら、両併用薬では、この抑制効果に大きな差異があった。PGNは、併用期間中のみ神経障害を抑制することができた。そのため、副作用を抑制するには、継続的な服用が臨床において求められる。PGNは、服用によって傾眠作用を有しており、日中の服用が適さない患者も想定される。一方、VPAを反復投薬したところ、VPAの

併用を休止しても、神経障害を改善し続けた。本研究では、CDDPの長期反復投薬を行うと腎機能障害を生じ、死亡例があらわれるため、長期連用によるVPAの神経障害抑制効果を評価することができていなかった。しかし、VPA併用で見られた神経障害抑制作用は、電位依存性Ca<sup>2+</sup>およびNa<sup>+</sup>チャネルの阻害によるものだけでなく、神経保護作用によるallodynia状態の改善によるものと推察される。今後、抑制メカニズムについて詳細を検討しなければいけないが、CDDPの神経障害抑制にVPAは有益な併用薬となるものと期待される。

### 3. Oxaliplatin (L-OHP)の投薬時刻の違いによる冷感過敏反応への影響 (第4章)

L-OHP誘発末梢神経障害は、投薬中または投薬直後から数日間に渡ってほぼすべての患者に発現する急性末梢神経障害(冷感過敏反応)である。この神経障害を時間薬物療法で改善することを目的に、本研究はマウスを対象に実施された。その結果、任意の6時点の投薬時刻のうち、9:00で冷感過敏反応が最も強かった。本薬は、体内にて非酵素的に主に2種類の代謝物に代謝される。同様に冷感過敏反応を評価したところ、代謝物のオキサレートが類似した時間薬理学的な効果を示した。また、神経障害を発生した9:00において発症原因を探索したところ、温度感受性TRPチャネルのうち、TRPA1とTRPM8が関与していた。またこれらのチャネルが痛みに寄与する時期には違いがあり、投薬早期ではTRPA1が、投薬後数日ではTRPM8が寄与していた。L-OHP誘発冷感過敏反応に関与するTRPチャネルが経時変化によって変容するという機序は、これまでにない新たなものであり、新規性の高い発見である。また、L-OHPもまたCDDPと同様に投薬タイミングの違いによって、神経障害の程度に大きな差異を生じることを明らかにしたことで、治療法のないL-OHP誘発冷感過敏反応の軽減に時間薬物療法が有益な一法になると考えられる。

以上のように、本論文は、薬剤性末梢神経障害の改善に関する研究に貢献するところが大きく、審査委員は全員一致で博士(薬学)の学位に値するものと判断した。

1. Seto Y, Okazaki F, Horikawa K, Zhang J, Sasaki H, To H: Influence of dosing times on cisplatin-induced peripheral neuropathy in rats., BMC Cancer. 16: 756, 2016.
2. Seto Y, Takase M, Tsuji Y, To H: Pregabalin reduces cisplatin-induced mechanical allodynia in rats., J Pharmacol Sci. 134:175-180, 2017.