

## 学位論文の要旨

学位の種類	博士	氏名	里見 眞知子
<h3>学位論文題目</h3> <p>Oxaliplatin-induced neurotoxicity involves TRPM8 in the mechanism of acute hypersensitivity to cold sensation</p> <p>(オキサリプラチン誘発性神経毒性である冷刺激に対する急性過敏性の機序に TRPM8 が関与する)</p> <h3>共著者名</h3> <p>河野 透、須野 学、木村 周古、山崎 弘貴、古川 博之、松原 和夫</p> <h3>掲載雑誌名</h3> <p>Brain and Behavior, 2, 68-73, 2012</p> <h3>研究目的</h3> <p>オキサリプラチンを使用する FOLFOX 療法(オキサリプラチン、5-FU/ロイコボリン療法)は、進行・再発大腸がんにて極めて有効性の高いがん化学療法である。FOLFOX 療法において、オキサリプラチン誘発末梢神経毒性(OPN)の発現強度が用量規制因子となり、患者の約 90%が OPN を経験する。特に、寒冷刺激によって手・足、時には口や咽頭に感覚異常が発現する。これは、急性OPNであり、オキサリプラチン注入開始後数時間以内に発現し、通常は数日間で消失する一過性のものである。一方、反復投与による脊髄後根神経節への蓄積性毒性である慢性OPNは、ひどくなると新聞をめくることさえできなくなり、治療を全て中止するかオキサリプラチンのみ投与を中止するかの対応が必要となる。</p> <p>近年、外界の刺激を活動電位に変換する様々な TRP チャンネルが同定された。Ca<sup>2+</sup>イオンチャンネルである TRPM8 は冷覚刺激に応答するTRPチャンネルである。舌の TRPM8 は三叉神経節に支配される感覚舌神経線維に発現し、舌上の冷感機能を担っている。しかし、TRPM8 が急性 OPN に関与しているかは不明である。本研究では、TRPM8 が急性 OPN、特に冷刺激に対する過敏性に関与するかどうかの検証を行った。すなわち、TRPM8 の選択的アゴニストであることが知られているメントールを舌に塗布し、オキサリプラチン投与前後の冷覚発現閾値に変化を及ぼすかどうかを検討することによって、TRPM8 の OPN 関与を検証した。</p>			

## 研究方法

被験者(合計76名)は、健康成人は40名(女性24名、男性16名、年齢:22 - 85歳(中央値:54歳))と、FOLFOX療法を受けている進行大腸がん患者36名(女性22名、男性14名、年齢:33-80歳(中央値:57歳))を対象とした。全ての被験者に書面によるインフォームドコンセントを行った。冷刺激は、メントール溶液(0.005、0.01、0.05、0.1、0.5 および 1%水溶液)を舌に塗布することによって行った。すなわち、10秒毎の刺激間隔で、低濃度から高濃度のメントール溶液を綿棒で前舌部に塗布した。被験者には、塗布時に冷刺激を感じた場合、合図をするように説明をした。冷刺激を感じた濃度を冷刺激知覚閾値(CDT)とし、何れの濃度でも冷感を感じられなかった場合は最高濃度である1%を閾値とした。

実験1では、健康成人とオキサリプラチンの投与を受けたことがない大腸がん患者のCDTを記録した。実験2では、大腸がん患者でオキサリプラチン注入前後のCDTの変化を観察した。神経毒性の評価は有害事象共通用語基準 CTCAE v3.0を用いて神経毒性を評価した。すべての統計解析において、有意性は0.05の $\alpha$ レベルを用いて決定した。全ての統計手順はGrafPad Prism4統計プログラム(GraphPad Software, Inc., San Diego, CA)を使用した。なお、本研究は、東旭川病院の倫理委員会の許可を受けたものである。

## 成績

### 1. 健康成人と大腸がん患者におけるメントール試験とCDT

全ての被験者は、メントール塗布部分で冷たさを感じた。冷感覚は最初の3秒で起こり、約5秒で強度はプラトーに達し、10秒以内に消失した。冷感覚強度はメントール用量依存であった。すべての被験者で蒸留水塗布では冷たさを感じなかった。健康成人40名におけるCDTの内訳は、0.01%:1名、0.05%:26名、および0.1%:13名であった( $0.068 \pm 0.026\%$ , 平均  $\pm$  標準偏差)。健康成人全員に同様な試験を再度施行し再現性を評価した結果、前試験と有意に異なることはなかった。また、平均CDTにおいて、性別や年齢による違いは認められなかった。化学療法を一度も施行していない大腸がん患者(12名)でのCDTは、 $0.067 \pm 0.025\%$ であった。従って、CDTは健康成人と未治療の大腸がん患者間で有意な差は認められなかった。また、この研究において、メントールによると思われる有害反応の発現は認められなかった。

### 2. オキサリプラチン投与前後におけるCDTの変化

過去に化学療法を受けたことのない患者(実験1)のオキサリプラチン初回投与前後のCDTは、1人を除きすべての患者でメントールに対して過敏性が見られ、CDTにおいて $0.067 \pm 0.025\%$  から  $0.028 \pm 0.029\%$  ( $p = 0.0025$ )と有意に低下した。

過去にオキサリプラチンが投与された患者(24名、総投与量:85 - 2450 mg/m<sup>2</sup>(中央値:330 mg/m<sup>2</sup>))において、オキサリプラチン投与前投与後のCDTを測定した。この患者集団のCDT

は、 $0.151 \pm 0.263\%$ から  $0.083 \pm 0.198\%$  ( $p = 0.0004$ ) に有意に低下した。さらに、このオキサリプラチン投与前の CDT の値 ( $0.151 \pm 0.263\%$ ) は、過去にオキサリプラチンに暴露されていない患者および健康成人に比べ有意に高い値であった ( $p = 0.0225$ )。

### 3. CDT と神経障害グレードの関係

CTCAE による神経毒性評価グレード (0 - 4) の関係では、オキサリプラチン投与前後の CDT はグレード 1 以下の軽度神経毒性のある患者で  $0.073\%$  から  $0.028\%$  ( $n = 9$ ,  $p = 0.0126$ )、グレード 2 中等度神経毒性では  $0.183\%$  から  $0.036\%$  ( $n = 8$ ,  $p = 0.022$ ) と有意に低下したが、グレード 3 の高度神経毒性では  $0.214\%$  から  $0.209\%$  ( $n = 7$ ,  $p = 1.0$ ) と有意差は認められなかった。

## 考 案

TRPM8 の活性化と OPN は相関する可能性があり、特に冷刺激に対する急性過敏性において、CDT によって早期 OPN を定量的に確認できる可能性が示唆された。また、オキサリプラチン複数回投与患者では、冷知覚鈍麻が起きていることを CDT によって定量的に確認できることが示された。CDT のオキサリプラチン前後での変化は、神経グレード評価で中等度神経毒性までの患者では認められたが、高度神経毒性を示す患者では認められなかった。このことから CDT は早期 OPN だけでなく慢性期 OPN を定量的に評価できる新たな神経毒性評価法となり得る可能性が示唆されたものと考えられる。

OPN の発症原因は不明であるが、OPN の発症予防に関する前向き二重盲検試験 (CONcept) で、OPN における  $Ca^{2+}$  と  $Mg^{2+}$  依存性の作用機序が臨床的に示唆されている。今回の我々の考案したメントール試験から、 $Ca^{2+}$  イオンチャネル TRPM8 がそのアゴニストであるメントールによって活性化されることから急性期 OPN 発現機序において TRPM8 が関与していることが示唆された。また、オキサリプラチン複数回投与によって CDT のベースラインが有意に上昇したことから、TRPM8 が慢性 OPN にも関与している可能性が示唆された。今後は臨床研究だけでなく、OPN 発症機序における TRPM8 の関与に関する基礎的研究が必要である。

現在世界的に用いられている神経毒性評価法は患者による主観的評価が主要なもので、歩行困難など他覚的にも判断できる状態ではすでに神経毒性が進行しており、薬剤を中止してもその回復は年単位の期間を要する。オキサリプラチンの大腸癌抑制率は 90% 以上と極めて高く、世界的にも第一選択薬として 70% 以上使用されている。患者も効果を実感するため、治療継続を望むあまり、主観的な評価が主体となる現在の神経毒性評価法では正確な評価は困難であることが多い。今回我々が開発したメントール試験は、従来の神経毒性評価法に比べて手技の煩雑性はあるものの、定量性が高く、従来評価法と併用することで神経毒性が重症化する前に評価できる可能性があると考えられる。メントール試験が神経毒性重症度スコアの決定や評価をするのに適しているか否か今後さらなる検討が必要である。

## 結 論

本研究において TRPM8 アゴニストであるメントールを用いた OPN 評価手法を開発した。OPN 発症機序に TRPM8 が関与している可能性を明らかにし、メントール試験が新たな OPN 評価法となる可能性が示唆された。




## 引 用 文 献

1. Abe, J., H. Hosokawa, M. Okazawa, M. Kandachi, Y. Sawada, K. Yamanaka, K. Matsumura, and S. Kobayashi. 2005. TRPM8 protein localization in trigeminal ganglion and taste papillae. *Brain Res. Mol. Brain Res.* **136**:91-98.
2. Adelsberger, H., S. Quasthoff, J. Grosskreutz, A. Lepier, F. Eckel, and C. Lersch. 2000. The chemotherapeutic oxaliplatin alters voltage-gated Na (+) channel kinetics on rat sensory neurons. *Eur. J. Pharmacol.* **406**:25-32.
3. Ali, B. H. 2010. Amelioration of oxaliplatin neurotoxicity by drugs in humans and experimental animals: a minireview of recent literature. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* **106**:272-279.

## 参 考 論 文

1. 里見眞知子、河野透、間宮規章、千里直之、海老澤良昭、菅原睦、斉藤孝成、松原和夫、葛西眞一：進行性大腸癌患者へ感覚性神経障害用部位別問診票を用いたオキサリプラチンの末梢神経毒性発現の検討。癌と化学療法 36 1321-1325、2009
2. Kono T, Satomi M, Asama T, Ebisawa Y, Chisato N, Suno M, Karasaki H, Furukawa H, Matsubara K. Cetuximab-induced hypomagnesaemia aggravates peripheral sensory neurotoxicity caused by oxaliplatin. *Journal of Gastrointestinal Oncology* 1(2), 97-101, 2010.
3. Kono T, Satomi M, Chisato N, Ebisawa Y, Suno M, Asama T, Karasaki H, Matsubara K, Furukawa H. Topical application of hangeshashinto (TJ-14) in the treatment of chemotherapy-induced oral mucositis. *World Journal of Oncology* 1(6), 232-235, 2010.

# 学位論文の審査結果の要旨

報告番号	第 号		
学位の種類	博士(医学)	氏 名	里見 眞知子
<p>審査委員長 <u>中谷文隆</u> </p> <p>審査委員 <u>古川博之</u> </p> <p>審査委員 <u>島本悦宏</u> </p>			
<p>学 位 論 文 題 目</p> <p><b>Oxaliplatin-induced neurotoxicity involves TRPM8 in the mechanism of acute hypersensitivity to cold sensation</b></p> <p>(オキサリプラチン誘発性神経毒性である冷刺激に対する急性過敏症の機序に <b>TRPM8</b> が関与する)</p>			

大腸がんの化学療法においては、オキサリプラチンを中心薬物とする FOLFOX 療法が高い有効性を示す。しかし、FOLFOX 療法では、高頻度で末梢神経障害が出現する。この副作用は、寒冷刺激により誘発される知覚過敏を主体とする急性毒性と、知覚鈍麻を主体とする慢性毒性からなる。

本研究では、舌粘膜に存在するカルシウムチャネルである TRPM8 に着目し、その選択的アゴニストであるメントールに対する冷覚発現閾値をオキサリプラチン投与前後で比較解析した。その結果、オキサリプラチン初回投与患者群では、冷覚閾値の有意な低下が認められ知覚過敏の客観化が可能であった。また、過去にオキサリプラチンの投与を経験した患者群のうち、軽度および中等度神経障害を呈する患者群では、同様に冷覚閾値の有意な低下が認められた。一方、高度神経障害を呈する患者群では、オキサリプラチンの投与前において冷覚閾値の有意な上昇を認め、オキサリプラチンの投与後の冷覚閾値の低下を認めなかったことから、知覚鈍麻に対応するものと考えられた。

従来、FOLFOX 療法による末梢神経障害の評価法は、主観的な評価が主体となっており、正確な評価が困難であった。本研究でのメントール試験は、末梢神経障害を客観的に評価できる可能性が高く、神経障害の重症化の予防にも繋がること示唆されるものであり、その臨床的意義は大きいと考えられる。

なお、論文提出者に対し各審査委員より、本論文とその関連領域に関して試問が行われ、適切な回答が得られた。

以上より、本論文は博士の学位論文として適切であると判定した。