



TITLE:

Investigation of the mechanisms of taxane-induced peripheral neuropathy focusing on Schwann cell and search for novel therapies by drug repositioning( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Koyanagi, Madoka

---

CITATION:

Koyanagi, Madoka. Investigation of the mechanisms of taxane-induced peripheral neuropathy focusing on Schwann cell and search for novel therapies by drug repositioning. 京都大学, 2021, 博士(薬学)

ISSUE DATE:

2021-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k23147>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開; 許諾条件により本文は2022-05-02に公開; 許諾条件により要約は2022-03-22に公開; 許諾条件により要旨は2021-03-24に公開

京都大学	博士 (薬学)	氏名	小柳 円花
論文題目	Investigation of the mechanisms of taxane-induced peripheral neuropathy focusing on Schwann cell and search for novel therapies by drug repositioning (シュワン細胞に着目したタキサン系抗がん薬誘発末梢神経障害の機序解明およびドラッグ・リポジショニングによる新規治療薬の探索)		
(論文内容の要旨)			
<p>がん化学療法誘発末梢神経障害 (CIPN) は四肢末端の痛み、しびれなどの感覚異常が背景に立つ副作用で、タキサン系抗がん薬などの投与を受ける患者の50%以上に発症する。CIPNが重症化すると抗がん薬の使用継続が困難になり、がん治療の大きな妨げにもなる。しかしながら、CIPN発症機序の全容が解明されていないため、未だに予防/治療法は確立されておらず、アンメットメディカルニーズは高い。本研究では、感覚神経とその機能制御や再生・維持に関与する髄鞘形成シュワン細胞との相互作用の破綻がCIPN発症の一因であるという仮説のもと、シュワン細胞に焦点を当てた研究を行い、以下の新知見を得た。</p> <p><b>Chapter 1: Taxane-induced dedifferentiation of mature myelin-forming Schwann cells participates in CIPN development</b></p> <p>まず、ラット坐骨神経由来初代培養シュワン細胞を用いて、タキサン系抗がん薬処置による影響を検討した。パクリタキセル (10 nM) をシュワン細胞に48時間処置したところ、髄鞘構成成分myelin basic protein (MBP、分化シュワン細胞マーカー) の発現低下、low-affinity nerve growth factor receptor (p75、未分化シュワン細胞マーカー) およびガレクチン-3 (脱分化シュワン細胞マーカー) 発現増加で示されるシュワン細胞の脱分化が観察された。同様の変化はドセタキセル (10 nM) の処置後にも観察された。さらに、ラット脊髄後根神経節 (DRG) 由来初代培養神経細胞とシュワン細胞を共培養し、<i>in vitro</i>条件下で髄鞘様構造を構築させた神経-シュワン細胞共培養系にパクリタキセルを処置し、その影響について検討した。その結果、パクリタキセル (10 nM) を48時間処置しても、神経の数および軸索形態に変化は認められなかったが、MBP陽性シュワン細胞の減少が観察され、脱髄が引き起こされたと考えられた。そこで、CIPNマウスモデルにおいてもシュワン細胞の脱分化が認められるかを検討した。パクリタキセル (4 mg/kg) の反復腹腔内投与により、投与開始4から7日後において機械過敏応答が惹起され、さらに、投与開始7日後に坐骨神経のシュワン細胞において、p75およびガレクチン-3の一過性の発現増加が認められた。以上の結果から、タキサン系抗がん薬により、感覚神経の障害に先行して神経軸索の成熟シュワン細胞が脱分化すること示され、シュワン細胞と感覚神経の相互作用の破綻がCIPN発症のトリガーとなる可能性を新たに提唱した。</p> <p><b>Chapter 2: Schwann cell-derived galectin-3 has pro-nociceptive roles in taxane-induced peripheral neuropathy</b></p> <p>Chapter 1の結果に基づき、パクリタキセル処置に応答して脱分化シュワン細胞で発現増加するガレクチン-3の役割について解析した。パクリタキセル (10 nM) あるいはドセタキセル (10 nM) を初代培養シュワン細胞に48時間処置すると、培養上清中へガレクチン-3が分泌された。また、タキサン系抗がん薬の投与によりCIPNを発症した乳癌患者、およびパクリタキセル (20 mg/kg) を反復投与したマウスにおいて、CIPNの発症初期にシュワン細胞由来と考えられるガレクチン-3の血漿中濃度が上昇することを確認した。ガレクチン-3が免疫細胞の遊走因子として知られることから、マクロファージ細胞株RAW 264.7を用いて細</p>			

胞遊走アッセイを実施した。その結果、RAW 264.7は、パクリタキセル処置後のシュワン細胞の培養上清、およびガレクチン-3 (2 pM) 含有培地に対する遊走反応を示した。同様に、パクリタキセル反復投与によるCIPNモデルマウスの坐骨神経軸索において、造血幹細胞由来の末梢マクロファージが多数浸潤していることを確認し、クロドロン酸内包リポソーム処置により末梢マクロファージを除去すると、機械過敏応答がほぼ完全に抑制された。また、ガレクチン-3遺伝子欠損マウス、あるいはガレクチン-3阻害剤TD-139 (15 mg/kg) を腹腔内投与されたマウスでは、パクリタキセル投与後のマクロファージの浸潤および機械過敏応答が抑制された。以上の結果から、シュワン細胞由来の分泌型ガレクチン-3が、化学誘引分子としてマクロファージの末梢神経への浸潤を誘発し、パクリタキセルによるCIPNの誘導に関与すると考えられた。

### Chapter 3: Cilostazol is a causal therapy for preventing taxane-related CIPN by suppression of Schwann cell dedifferentiation

これまでの結果から、タキサン系抗がん薬により脱分化したシュワン細胞の再分化/再髄鞘化を促進する薬物がCIPNの新規予防/治療薬候補となるのではないかと考えられた。そこで、MBPの発現増加を指標とし、医薬品・化合物ライブラリーからスクリーニングを行い、ホスホジエステラーゼ-3阻害薬であるシロスタゾールがシュワン細胞の分化を促進することを見出した。シロスタゾール (30  $\mu$ M) は、パクリタキセル処置による初代培養シュワン細胞の脱分化、および神経-シュワン細胞共培養系における脱髄を抑制した。さらに、0.3%シロスタゾール含有飼料を連日マウスに経口摂取させることで、パクリタキセル (5 mg/kg, i.p.) 反復投与により誘導される機械過敏応答とともに、坐骨神経のシュワン細胞の脱分化が有意に抑制された。以上の結果から、シロスタゾールはタキサン系抗がん薬によるシュワン細胞の脱分化を抑制することで、CIPN発症を抑制することが示唆され、メカニズムベースの新規予防/治療薬候補として有用であることが示唆された。

以上、本研究結果から、CIPN患者およびモデルマウスに共通した反応として、脱分化シュワン細胞に由来するガレクチン-3の分泌増加を見出し、マクロファージ浸潤を介してタキサン系抗がん薬のCIPN発症に関わることを示した。さらに、シュワン細胞の分化誘導作用を有するシロスタゾールが、CIPNを抑制することを示した。シロスタゾールは、慢性動脈閉塞症などの治療薬として臨床使用されており、本研究成果はCIPNに対する有効な予防/治療薬の開発に直結すると考える。

(論文審査の結果の要旨)

本論文では、タキサン系抗がん薬を用いたがん化学療法を実施する際に問題となる副作用の1つである「がん化学療法誘発末梢神経障害 (CIPN)」に関して、初代培養細胞を用いた *in vitro* 研究および動物モデルを用いた *in vivo* 研究によってその発症機構を解明するとともに、その予防・治療薬となりうる薬物をドラッグ・リポジショニングに基づいて探索して見出し、その有効性について確認している。

第一章では、感覚神経に影響を与えるよりも低濃度のタキサン系抗がん薬が、髄鞘を形成するシュワン細胞に影響を及ぼして、神経障害に先行して脱髄を引き起こすことを明らかにした。さらに、細胞分化マーカーを用いた *in vitro* および *in vivo* の解析によって、タキサン系抗がん薬処理によって、シュワン細胞が分化マーカーを産生せず、未分化マーカーを産生ようになる脱分化状態に遷移することを明らかにした。

第二章では、脱分化したシュワン細胞から遊離されるガレクチン-3 に着目して、タキサン系抗がん薬により末梢神経障害を発症した乳癌患者および動物モデルの両方において、ガレクチン-3 の血中濃度が上昇することを見出した。さらには、末梢神経障害に関連するガレクチン-3 の役割として、マクロファージを障害部位に誘引して、痛みを誘発していることを明らかにした。

第三章では、シュワン細胞を分化誘導できる薬物を既承認医薬品から探索した。その結果、候補として見出したホスホジエステラーゼ3阻害薬のシロスタゾールが、タキサン系抗がん薬によるシュワン細胞の脱分化や脱髄を抑制することによって、末梢神経障害の発症を予防できることを明らかにし、新たな予防・治療薬候補としての可能性を提示している。

よって、本論文は博士(薬学)の学位論文として価値あるものと認める。また、令和3年2月15日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、(令和5年3月21日までの間)当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

要旨公表可能日：2021年3月24日以降

〔注〕

1. (記述例1)を参考に、論文審査の結果の要旨の結句には学位論文の審査についての認定を明記するとともに、試問の結果の要旨を付け加えること。
2. 論文の公表方法について、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断され、かつその旨を「論文審査の結果の要旨」に記載する場合は、(記述例2)を参考に記述すること。
3. 論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表する。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、欄外の「要旨公表可能日」欄に、公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内となる。)