ビタミンC誘導体の軟膏で痛みやしびれをとる！ Ca_v3.2 T型カルシウムチャネルを標的とした がん化学療法誘起神経障害性疼痛の治療戦略

川畑 篤史

要約：がん化学療法の副作用として生じる神経障害性疼痛は、患者のQOL低下を招くだけでなく、化学療法中止の原因にもなりうるので、その対策は急務である。神経障害性疼痛薬物療法の第一選択薬とされているプレガバリンは、高電位活性化型Ca²⁺チャネルの $\alpha_2\delta$ サブユニットを標的とした薬物であるが、プレガバリンが作用しないT型（低電位活性化型）Ca²⁺チャネルのうちCa_v3.2が神経障害性疼痛の病態に関与することが明らかとなり、T型Ca²⁺チャネル阻害薬が神経障害性疼痛の治療に応用できる可能性が示唆されている。Ca_v3.2は、内因性気体メディエーターである硫化水素やL-システインによって直接活性化され、またプロスタグランジンE₂によりプロテインキナーゼA依存的に活性化されるほか、生体内のZn²⁺やビタミンCによって機能が抑制される。本稿では、Ca_v3.2 T型Ca²⁺チャネルの分子機能調節機構を概説し、特にがん化学療法に伴う神経障害性疼痛の治療標的分子としての可能性について述べる。

1. はじめに

がん化学療法の副作用として頻発する神経障害性疼痛は、既存の鎮痛薬が効きにくく、患者のQOLを低下させるだけでなく、症状がひどい場合には化学療法中止を余儀なくされるため、その対策が必要である。日本ペインクリニック学会の「神経障害性疼痛薬物療法ガイドライン」によると、一般に、神経障害性疼痛には、第一選択薬として三環系抗うつ薬のほか、ガバペンチン、プレガバリンなどの電位依存性Ca²⁺チャネル阻害薬の使用が推奨され、第二選択薬として、ノイロトロピン、選択的セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬のデュロキセチン、電位依存性

Na⁺チャネル阻害薬のメキシレチンなどが挙げられており（適応外使用を含む）、化学療法により誘起される神経障害性疼痛にもこれらの薬物が有効であると考えられている。しかし、糖尿病性神経障害性疼痛、三叉神経痛、帯状疱疹後神経痛などに比べて、化学療法に伴う神経障害性疼痛に対する既存の薬物療法の有効性と副作用・有害事象についての客観的臨床エビデンスは少なく、今後さらに検討が必要である。高電位活性化型Ca²⁺チャネルは、 α_1 、 $\alpha_2\delta$ 、 β および γ を含む4~5個のサブユニットからなるが、ガバペンチンやプレガバリンは最も重要なチャネル形成部を含む α_1 サブユニットではなく、チャネル機能を調節する $\alpha_2\delta$ サブユニットに結合することでCa²⁺流入を阻害する。一方、 α_1 サブユニットだけで構成されるT型（低電位活性化型）Ca²⁺チャネルが、痛みの情報伝達や神経障害性疼痛の病態に関与する可能性が最近示唆されている。脊髄後角に inputs する侵害受容ニューロンの中枢端では主にN型の高電位活性化型Ca²⁺チャネルが神経伝達物質の遊離を調節しているのに対し、T型Ca²⁺チャネルは侵害受容ニューロンの末梢端において活動電位の発生頻度を調節すると考えられていたが(1)、最近、T型Ca²⁺チャネルが侵害受容ニューロンの中枢端における神経伝達物質遊離の調節にも関与することが証明された(2, 3)。本稿では、T型Ca²⁺チャネルの3つのサブタイプ(Ca_v3.1, Ca_v3.2, Ca_v3.3)のうち、一次知覚神経に豊富に発現し痛みの情報伝達に最も重要な役割を演じているCa_v3.2の分子機能調節メカニズムとがん化学療法に伴う神経障害性疼痛への関与を概説し、さらにCa_v3.2分子を標的とした新たな治療戦略について考察する。

キーワード：がん化学療法、神経障害性疼痛、T型カルシウムチャネル、硫化水素、ビタミンC

近畿大学 薬学部 病態薬理学研究室（〒577-8502 東大阪市小若江3-4-1）

E-mail: kawabata@phar.kindai.ac.jp 原稿受領日：2012年10月18日、依頼原稿

Title: Targeting Ca_v3.2 T-type calcium channels as a therapeutic strategy for chemotherapy-induced neuropathic pain

Author: Atsufumi Kawabata

2. $\text{Ca}_v3.2$ T型カルシウムチャネルの構造と硫化水素、プロスタグランジン E_2 、ビタミン C などの生体内生理活性物質による機能調節

$\text{Ca}_v3.2$ の機能は、細胞外および細胞内の様々な物質により調節を受けることが最近明らかにされている。我々は、生体内で L-システインからシスタチオン- γ -リアーゼ (CSE) などによって生成される気体メディエーターである硫化水素 (H_2S) が $\text{Ca}_v3.2$ の機能を増強する (図 1) ことで体性痛および内臓痛の情報伝達を促進することを明らかにしている (4-7)。 $\text{Ca}_v3.2$ は、 $\text{Ca}_v3.1$ や $\text{Ca}_v3.3$ に比べて 2 価の陽イオンに対する感受性が高く、生体内では Zn^{2+} によって機能が抑制された状態にあり、L-システインなどの Zn^{2+} キレート作用を有する物質は生体内 Zn^{2+} による抑制を解除することでチャネル機能を増強する (8) ことが示されており、 Zn^{2+} に親和性が高い H_2S も同様の機序で $\text{Ca}_v3.2$ の機能を増強するのではないかと我々は考えている (9)。この $\text{Ca}_v3.2$ の Zn^{2+} 抑制には、細胞外ドメインに存在する 191 番目のヒスチジン残基が関与しているが、ビタミン C (アスコルビン酸) は金属触媒酸化反応によって同じヒスチジン残基を修飾しチャネルを抑制する (10) (図 1)。また、最近、末梢組織において、プロスタグランジン E_2 が、侵害受容ニューロンに発現する EP_4 受容体を介してプロテインキナーゼ A (PKA) を活性化し、A-kinase anchoring protein (AKAP) 依存性に PKA が $\text{Ca}_v3.2$ をリン酸化することでチャネル機能

を増強し、機械的痛覚過敏を誘起することを我々は証明している (11) (図 1)。このほか、 $\text{Ca}_v3.2$ は、PKC、Rho キナーゼ (ROCK)、CaM キナーゼ II などによって機能が調節されているほか、アセチルコリン M_1 受容体、CRF $_1$ 受容体、ドパミン D_1 受容体の活性化により $\text{G}_{\beta\gamma}$ タンパク質を介する $\text{Ca}_v3.2$ の機能抑制が起こることも報告されている (12) (図 1)。

3. 神経障害性疼痛への $\text{Ca}_v3.2$ T型 Ca^{2+} チャネルの関与

T型 Ca^{2+} チャネル阻害作用を有するエトスクシミドやミベフラジルが、坐骨神経結紮圧迫傷害や第 5 および第 6 腰神経完全結紮により誘起される神経障害性疼痛を抑制することが報告 (13-15) されて以来、神経障害性疼痛の病態への T 型 Ca^{2+} チャネルの関与が次第に注目されるようになった。抗がん薬の反復投与により誘起される神経障害性疼痛に対してもエトスクシミドが有効であることが報告されている (16)。我々は、ラットにおいて第 5 腰神経切断により誘起される神経障害性疼痛が、 $\text{Ca}_v3.2$ T 型 Ca^{2+} チャネルのノックダウンやミベフラジルによって阻止されるほか、 $\text{Ca}_v3.2$ の内因性活性化物質である H_2S の合成酵素の 1 つである CSE の阻害薬によって抑制されることを明らかにし、さらに、この神経障害性疼痛ラットの脊髄後根神経節において $\text{Ca}_v3.2$ タンパク質の発現量が劇的に増加していることを見出した (17)。一方、抗がん薬のパクリタキセルの反復投与によって誘起される神経障害性疼

図1 $\text{Ca}_v3.2$ T型 Ca^{2+} チャネルの分子機能調節メカニズム

H: histidine-191, PGE_2 : プロスタグランジン E_2 , EP_4R : プロスタグランジン EP_4 受容体, CSE: シスタチオン- γ -リアーゼ, AC: アデニル酸シクラーゼ, AKAP: A-kinase anchoring protein, PKA: プロテインキナーゼ A, PKC: プロテインキナーゼ C, ROCK: Rho キナーゼ, CaMKII: CaM キナーゼ II, M1R: アセチルコリン M_1 受容体, CRF $_1\text{R}$: CRF $_1$ 受容体, D1R: ドパミン D_1 受容体, α_s : 三量体 G タンパク質 α_s サブユニット, $\beta\gamma$: 三量体 G タンパク質 $\beta\gamma$ サブユニット。

痛も $\text{Ca}_v3.2$ のノックダウン, T型 Ca^{2+} チャンネル阻害薬, CSE 阻害薬によって抑制された. また, パクリタキセル誘起神経障害性疼痛モデルでは $\text{Ca}_v3.2$ の発現誘導は見られなかったが, 末梢組織中の H_2S 濃度に増加が認められた(18). このように両モデル間で若干の違いはあるものの, 第5腰神経損傷あるいはパクリタキセルによって誘起される神経障害性疼痛の病態に CSE/ H_2S / $\text{Ca}_v3.2$ 系の機能増強が関与する可能性が考えられる. $\text{Ca}_v3.2$ は糖尿病性末梢神経障害のモデルマウスの病態にも関与することが報告されている(19) ことより, $\text{Ca}_v3.2$ を特異的に阻害する薬物は多様な原因により誘起される神経障害性疼痛の治療薬として臨床応用できる可能性が考えられる.

4. 生体内 $\text{Ca}_v3.2$ 阻害物質ビタミンCとパクリタキセル誘起神経障害性疼痛

先述のように, ビタミンCおよび Zn^{2+} はT型 Ca^{2+} チャンネルのうち $\text{Ca}_v3.2$ のみを選択的に阻害する(10). ビタミンCは, マウスに全身性投与した場合にホルマリン誘起疼痛反応を抑制する(20) ほか, 臨床的には, 複合性局所疼痛症候群(21) や帯状疱疹後神経痛(22) の症状を緩和することが報告されている. また, 帯状

疱疹後神経痛患者の血中では, ビタミンCおよび Zn^{2+} の濃度が低下しているとの報告もある(22, 23). そこで, 実験動物における神経障害性疼痛に及ぼすビタミンCの影響を調べたところ, パクリタキセル反復投与および第5腰神経切断により誘起されるラットの神経障害性疼痛がビタミンCを足底皮下に1回注射することでも抑制され, その効果はパクリタキセルモデルにおいてより迅速で顕著であった. さらに, パクリタキセル誘起神経障害性疼痛ラットでは, 足組織中のビタミンC濃度が明らかに減少していた(24). 一方, 第5腰神経切断による神経障害性疼痛ラットでは足組織中のビタミンC濃度は変化しなかった(24). これらの事より, 生体内 $\text{Ca}_v3.2$ 阻害物質であるビタミンCの濃度低下がパクリタキセル誘起神経障害性疼痛の病態に寄与する可能性が考えられる. このビタミンC濃度低下の原因は現在のところ不明であるが, パクリタキセル反復投与により末梢組織中のレドックス状態が変化することで生体内のビタミンCが消費され濃度低下が起こったのではないかと推察される. しかし, ヒトは生体内でビタミンCを合成することができないため, 食物中のビタミンCに依存して体内にビタミンCを貯蔵しているのに対し, ラットやマウスではグルコース

図2 両親媒性ビタミンC (L-ascorbic acid) 誘導体の構造と皮膚透過メカニズム

からビタミンCが合成されるため、この合成系がパクリタキセル処置によって障害されビタミンC濃度低下を来した可能性も否定できない。そこで、現在、我々はビタミンC合成酵素をノックアウトしたマウス(25)を使用し、食餌由来ビタミンCに依存した状態でパクリタキセルを反復処置した場合にも末梢組織中ビタミンC濃度低下が認められるか否かを検討している。

5. 皮膚透過性ビタミンC誘導体を利用したパクリタキセル誘起神経障害性疼痛の治療

足底皮下に投与したビタミンCがパクリタキセル誘起神経障害性疼痛を強く抑制したこと(24)より、臨床応用を想定して、皮膚透過可能なビタミンC誘導体 disodium isostearyl 2-O-L-ascorbyl phosphate (DI-VCP)(26)を用いて治療効果を評価することにした。皮膚局所に適用した薬物が角質層を透過する場合、細胞間隙経路と経細胞経路があるが、角質層の細胞間隙は親油領域と親水領域からなる多層構造を形成しているため、ビタミンCのような水溶性化合物の透過性は極めて低い(図2)。DI-VCPは両親媒性ビタミンC誘導体で皮膚を容易に透過した後、皮膚組織中のホスファターゼにより分解されて組織にビタミンCを供給する(27)(図2)。DI-VCPは、現在、アンチエイジングや美白の目的で化粧品として使用されている。このDI-VCPの軟膏を作製し、パクリタキセル誘起神経障害性疼痛ラットの後肢に塗布したところ、低下した皮膚組織中のビタミンC濃度が正常化し、痛覚過敏が長時間に亘って強く抑制された(24)。DI-VCP軟膏は第5腰神経切断による神経障害性疼痛ラットでも痛覚過敏を部分的に抑制したが、パクリタキセルモデルにおける効果の方がより迅速で強力であった。

6. おわりに

上述のように、Ca_v3.2 T型Ca²⁺チャンネルが神経障害性疼痛の病態に関与することが次第に明らかにされ、その阻害薬が治療に応用できる可能性が考えられている。生体内に発現するT型Ca²⁺チャンネルのうち、痛みの情報伝達に最も重要な役割を果たしているのは、侵

害受容ニューロンの末梢端に発現するCa_v3.2であると考えられるが、Ca_v3.2を含むT型Ca²⁺チャンネルは、視床やその他の脳部位にも広範に発現するため、副作用回避という観点では、血液-脳関門を通過しにくい阻害薬が鎮痛薬としては有用である。また、心臓にはCa_v3.1とCa_v3.2の両方が発現しているため、Ca_v3.2のみを阻害する薬物であれば心臓への副作用を最小限にすることが可能であると考えられる。T型Ca²⁺チャンネルのうちCa_v3.2を選択的に阻害するDI-VCP軟膏は、すでに化粧品として利用されているので局所適用による安全性は確認されており、適正な用量範囲であれば脳への移行量も無視することができるので、パクリタキセルモデルでの効果が特に顕著であったことを考えると、がん化学療法に伴う神経障害性疼痛を抑制する目的で臨床応用できるかもしれない。今後、血液-脳関門を通過しないCa_v3.2 T型Ca²⁺チャンネルの選択的阻害薬が開発されれば、理論的には最も理想的で、プレガバリンなどの $\alpha_2\delta$ 作用薬に抵抗性を示す神経障害性疼痛患者における痛み治療への応用が期待される。

文 献

- 1) Zamponi GW, et al. Brain Res Rev. 2009;60:84-89.
- 2) Jacus MO, et al. J Neurosci. 2012;32:9374-9382.
- 3) Weiss N, et al. Biochim Biophys Acta. In press.
- 4) Kawabata A, et al. Pain. 2007;132:74-81.
- 5) Maeda Y, et al. Pain. 2009;142:127-132.
- 6) Matsunami M, et al. Gut. 2009;58:751-761.
- 7) Nishimura S, et al. Gut. 2009;58:762-770.
- 8) Nelson MT, et al. J Neurosci. 2007;27:8250-8260.
- 9) Matsunami M, et al. Neuroscience. 2011;181:257-264.
- 10) Nelson MT, et al. J Neurosci. 2007;27:12577-12583.
- 11) Sekiguchi F, et al. Br J Pharmacol. In press.
- 12) Zhang Y, et al. Biochim Biophys Acta. In press.
- 13) Matthews EA, et al. Eur J Pharmacol. 2001;415:141-149.
- 14) Dogrul A, et al. Pain. 2003;105:159-168.
- 15) Todorovic SM, et al. Pain. 2004;109:328-339.
- 16) Flatters SJ, et al. Pain. 2004;109:150-161.
- 17) Takahashi T, et al. Pain. 2010;150:183-191.
- 18) Okubo K, et al. Neuroscience. 2011;188:148-156.
- 19) Latham JR, et al. Diabetes. 2009;58:2656-2665.
- 20) Rosa KA, et al. Neurosci Lett. 2005;381:185-188.
- 21) Zollinger PE, et al. J Bone Joint Surg Am. 2007;89:1424-1431.
- 22) Chen JY, et al. Clin J Pain. 2009;25:562-569.
- 23) Chen JY, et al. Br J Nutr. 2011;106:1-9.
- 24) Okubo K, et al. Br J Pharmacol. 2012;166:1058-1068.
- 25) Ishigami A. Yakugaku Zasshi. 2010;130:25-28.
- 26) Shibayama H, et al. J Oleo Sci. 2005;54:601-608.
- 27) Shibayama H, et al. Skin Pharmacol Physiol. 2008;21:235-243.