

2011/8012A

---

厚生労働科学研究費補助金  
第3次対がん総合戦略研究事業

がん性疼痛などの緩和のための病態生理に基づいた  
新たな治療法の開発

(H21-3次がん-一般-012)

平成23年度 総括・分担研究報告書

---

研究代表者 的場 元弘

平成24 (2012) 年 3月

---

厚生労働科学研究費補助金  
第3次対がん総合戦略研究事業  
がん性疼痛などの緩和のための病態生理に基づいた  
新たな治療法の開発

(H21-3次がん-一般-012)

平成23年度 総括・分担研究報告書

---

研究代表者 的場 元弘

平成24（2012）年 3月

# 研究組織

## 主任研究者

- 独立行政法人国立がん研究センター中央病院 緩和医療科・精神腫瘍科 科長  
的場 元弘

## 分担研究報告

- 独立行政法人国立がん研究センター研究所  
がん患者病態生理研究分野がん疼痛研究ユニット ユニット長  
白石 成二
- 星薬科大学薬学部薬品毒性学教室 教授  
鈴木 勉
- 獨協医科大学医学部麻酔科 教授  
山口 重樹
- 千葉大学大学院医学研究院麻酔学 教授  
西野 卓
- 独立行政法人国立がん研究センター東病院頭頸部腫瘍科・形成外科 医長  
海老原 充
- 東京大学医学部附属病院緩和ケア診療部 副部長  
岩瀬 哲
- 東北大学大学院医学研究科医学統計学分野 教授  
山口 拓洋
- 信州大学医学部麻酔蘇生学講座 准教授  
川股 知之
- 長崎市立市民病院麻酔科 部長  
富安 志郎

# 目 次

## I. 総括研究報告

がん性疼痛などの緩和のための病態生理に基づいた新たな治療法の開発 的場 元弘 -----	1
(リドカインのがん性腹膜炎に伴う疼痛に対する臨床試験 富安 志郎)	

## II. 分担研究報告

1. 新規緩和治療薬の作用機序検証： ドロノビロール製剤のがん病態への効果研究 がん性腹膜炎疼痛モデルの作製とリドカインの鎮痛メカニズムの解明 脊椎骨転移動作時痛モデルによるケタミンの鎮痛効果およびメカニズムの解明 白石 成二 -----	8
2. 疼痛下におけるドロノビロールの精神依存と耐性形成抑制の解明 がん性腹膜炎疼痛モデルの作製とリドカインの鎮痛メカニズムの解明 脊椎骨転移動作時痛モデルによるケタミンの鎮痛効果およびメカニズムの解明 鈴木 勉 -----	14
3. ケタミンの脊椎転移動作時痛に対する臨床試験 容量の検討、効果安全性の検討 など 臨床試験デザインの構築 山口 重樹 -----	18
4. 呼吸困難に対するラシックスの吸入療法の臨床試験 およびトロメタモール静注による呼吸困難治療の臨床試験 西野 卓 -----	26
5. 進行頭頸部がんの症状と機能に関する観察研究 臨床試験デザインの構築 海老原 充 -----	28
6. 臨床試験ネットワーク、およびデータセンターの構築 データセンターの構築支援 データの解析 山口 拓洋 岩瀬 哲 -----	31
7. 脊椎転移疼痛モデルの作成と鎮痛効果の解明 川股 知之 -----	35

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 と 刊行物・別刷 -----	40
------------------------------------	----

# I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）  
総括研究報告書

がん性疼痛などの緩和のための病態生理に基づいた新たな治療法の開発

主任研究者 的場 元弘

所属施設 国立がん研究センター中央病院緩和医療科・精神腫瘍科 科長

**研究要旨：**

今年度は、リドカインとケタミンの鎮痛効果を行動薬理と病態生理の解明と、わが国では新規薬剤であるドロナビノールの精神依存と耐性形成抑制の解明を基礎的な検討課題とし、臨床研究としては、フロセミド吸入とトロメタモールの静脈内投与によるがん性呼吸困難の抑制効果についての多施設臨床試験、頭頸部がんの症状の特殊性を含めた実態を把握するための観察研究を進めた。腹膜播種モデルでは、急性膵炎疼痛モデルの疼痛行動を完全に抑制するモルヒネの用量では有意な鎮痛効果が認められず、臨床像と同様に低用量のリドカインを併用することにより改善することが明らかになった。脊椎骨転移動作時痛モデルでは、低容量ケタミンにより疼痛を意味していると考えられる超音波の発声はなくなったが、NMDA受容体阻害薬 MK-801 では上記のいずれも有意に改善しなかった。

ドロナビノールはモルヒネにより誘発される精神依存を有意に抑制した。モルヒネによる腹側被蓋野における GABA 遊離の低下は、WIN-55, 212-2 を併用することにより完全に抑制された。

臨床試験としては、呼吸困難をテーマにしたフロセミド吸入試験およびトロメタモールの静注試験の2試験が2011年4月より多施設臨床試験として症例集積中である。進行頭頸部がんの症状と機能に関する観察は11施設で実施中であり、今年度末までに、37例の症例集積が行われ、月6~7例の新規登録が行われている状況である。

主任共同課題

リドカインのがん性腹膜炎に伴う疼痛  
に対する臨床試験

分担研究者 富安 志郎

研究施設 長崎市立市民病院麻酔科 部長

に基づいた治療法は確立していない。本研究では、がん患者の病態に合わせた薬物治療法の開発を目指す。3年度は、(1)リドカインとケタミンの鎮痛効果を行動薬理と病態生理の両面から解明する。(2)また、疼痛下におけるドロナビノールの精神依存と耐性形成抑制の解明についての研究を進め、有用性・安全性の検討を行い臨床への応用についての検討を行う。多施設臨床試験を踏まえ効果的な病態の絞り込みを行う。

**A. 研究目的**

がん疼痛は腫瘍状態や治療の影響などの複合的なメカニズムが関与していることが多く、オピオイドなどの鎮痛薬では十分な効果が得られない場合がある。また、呼吸困難は苦痛度が極めて高いが生理学的機序

臨床研究としては、フロセミド吸入とトロメタモールの静脈内投与によるがん性呼

吸困難の抑制効果についての多施設臨床試験、頭頸部がんの症状の特殊性を含めた実態を把握するための観察研究を進める。

## B. 研究方法

### (1) 腹膜播種モデルでの評価

がん性腹膜炎疼痛モデルの腹痛は、刺激に対する逃避行動を痛み反応としてスコア化し評価した。疼痛行動が認められた動物の脊髄ならびに脊髄後根神経節のサンプルを作製し、遺伝子発現の変化は real time RT-PCR 法に従い解析した。

### (2) 脊椎骨転移動作時痛モデルでの評価

脊椎骨転移動作時痛モデルの評価として、昨年度に行った行動薬理学的な痛み評価に加えて、定量的な痛みの評価法として以下の項目を加えた。ラット運動量の変化、**rearing time** の持続時間と **22kHz** 超音波の発声の有無を測定し、ケタミンを腹腔内投与しその鎮痛効果を調べた。さらにがん性疼痛など難治性疼痛時に活性化されるミクログリアに対するケタミンの効果をラット培養ミクログリアを用いて調べた。ミクログリアを LPS で刺激して産生される NO 量に対するケタミンの効果を調べた。

### (3) ドロナビノールの精神依存と耐性形成抑制の解明

ドロナビノールの精神依存と耐性形成抑制の解明として、鎮痛効果の検出には右側後肢大腿部坐骨神経を半周結紮することにより作製し神経障害性疼痛モデルを用いた。

報酬効果は、conditioned place preference 法に従い測定した。側坐核領域におけるモルヒネ

誘発 dopamine 遊離促進作用は in vivo microdialysis 法により検討した。

### (4) フロセミド吸入し研およびトロメタモールの静注試験

吸入フロセミドに関しては生理食塩水投与を対象群 (n=30)、実薬群 (n=30) をフロセミド吸入とする単盲検ランダム化第 II 相試験が、トロメタモール点滴静注に関しては安全性と用量 [(0.3mol/L THAM 溶液 0.2ml/kg/min 20 分間点滴 (n=3) 及び 40 分間点滴 (n=3)] 検討を行う I 相試験が計画された。

### (5) 進行頭頸部がんの症状と機能に関する観察

多施設共同・前向き観察研究である。全身的な QOL 評価として EORTC-QLQ-C15-PAL (質問表) を用い、客観的な観察項目は頭頸部がん特有な症状・現象として、気道の形態 (気管切開、永久気管孔の有無など)・気道確保の要否 (カフ付きチューブでの気道確保の要否)・気道口腔内の病変の有無・腫瘍の自壊および出血の有無・肺転移/胸水の有無・栄養経路 (経鼻胃管や胃瘻の有無)・発声の可否・頭頸部の浮腫の有無とした。また、動脈血酸素飽和度・意識障害の評価・せん妄の有無の評価も行うこととした。

secondary endpoint に関連する症状の評価項目として、気道分泌の程度を 4 段階で評価し、これらの観察を観察開始日から 4 週間後までは週 1 回 (計 5 回)、それ以後は隔週に 1 回観察する。

### (倫理面への配慮)

本試験に関係するすべての研究者はヘル

シンキ宣言および「疫学研究に関する倫理指針」に従って本試験を実施する。本プロトコールでの「医療機関」は、上記指針における「臨床研究機関」に対応する。

研究参加に先だつての同意拒否が自由であることや、いったん同意した後の撤回も自由であり、それにより不当な診療上の不利益を受けないこと、特に治療を行わないことを前提とする本研究においては、同意を撤回し、治療を受けることに躊躇する必要はないことを明記する。またプライバシーを保護するために患者を特定できる情報は各施設以外に持ち出さず、結果は個人が特定できないかたちで解析・公表する。

## C. 研究結果

### (1) 腹膜播種モデルでの評価

低分化型ヒト胃癌細胞をマウスの腹腔内に移植し作製した腹膜播種モデルを用いて疼痛評価を行ったところ、対照群と比較して有意な疼痛行動が認められた。腹膜播種による疼痛行動は、急性膵炎疼痛モデルの疼痛行動を完全に抑制するモルヒネの用量では有意な鎮痛効果が認められず、低用量のリドカインを併用することにより改善した。また、これらの病態下のマウスの脊髄後根神経節では、Na<sup>+</sup>チャンネル $\alpha$ サブユニットである Nav1.7 の発現が増加していること、さらにモルヒネの作用点である  $\mu$ -オピオイド受容体の発現が減少していることを明らかにした。

### (2) 脊椎骨転移動作時痛モデルでの評価

ラット運動量は、乳がん細胞移植後7日目

から有意に減少し始めた。また、同時に rearing time の持続時間も低下した。低容量のケタミンを腹腔内に投与すると運動量は有意に回復したが rearing time の持続時間は改善しなかった。ラットの腰部を刺激すると 22kHz の超音波を発声したが、低容量ケタミンにより超音波の発声はなくなった。ケタミンの改善効果は認められたが、NMDA 受容体阻害薬 MK-801 では上記のいずれも有意に改善しなかった。ラットの培養ミクログリアを LPS で刺激すると NO が産生されたが、ケタミンは濃度依存的に抑制した。

### (3) 疼痛下におけるドロナビノールの精神依存と鎮痛耐性形成抑制の解明

Hot plate 法により WIN-55, 212-2 はモルヒネの鎮痛効果を著明に増強した。さらに、同様の効果がドロナビノールによっても認められることを確認した。しかしながら、これらの鎮痛増強効果に、非疼痛下では鎮痛耐性が形成された。一方、神経障害性疼痛モデルを作製し、疼痛下における鎮痛耐性を検討したところ、疼痛下ではカンナビノイド受容体作動薬とモルヒネの併用による鎮痛効果に鎮痛耐性はほとんど形成されなかった。また、このメカニズムに疼痛下の脊髄における CB1 受容体が有意に upregulation しており、この CB1 受容体の upregulation は、WIN-55, 212-2 とモルヒネとの併用を 10 日処置しても減弱は認められなかった。

ドロナビノールはモルヒネにより誘発される精神依存を有意に抑制した。モルヒネ



の精神依存形成には中脳辺縁系の投射先である側坐核におけるドパミン遊離の増強効果が重要であることが知られている。このモルヒネによるドパミン遊離促進作用は WIN-55, 212-2 の側坐核への微量注入では抑制されず、中脳辺縁系の起始核である腹側被蓋野への微量注入により有意に抑制された。さらに、解剖学的にカンナビノイド受容体は腹側被蓋野の GABA 神経上に存在していることが本研究において確認され、モルヒネによる腹側被蓋野における GABA 遊離の低下は、WIN-55, 212-2 を併用することにより完全に抑制された。

#### (4) フロセミド吸入し研およびトロメタモールの静注試験

2011年4月より多施設臨床試験として症例集積中。

#### (5) 進行頭頸部がんの症状と機能に関する観察

最終的な共同研究参加施設は国立がんセンター東病院・愛知県がんセンター・癌研究会有明病院・埼玉県立がんセンター・大阪府立成人病センター・千葉県立がんセンター・静岡県立静岡がんセンター・北里大学病院・鹿児島大学病院・自治医科大学付属病院・宮城県立がんセンターの計11施設である。平成24年3月6日現在、37例の症例集積が行われ、月6~7例の新規登録が行われている状況である。

#### D. 考察

(1) がん性腹膜炎疼痛モデルの脊髄後根神経節では、モルヒネの作用分子である  $\mu$ -

オピオイド受容体の著しい減少が認められたことから、こういった病態変化がモルヒネ抵抗性の痛みの発現に関与している可能性が考えられる。また、リドカインの作用分子である  $\text{Na}^+$ チャネルの発現が増加していたことから、このような病態下ではリドカインの併用が有効である可能性が考えられる。

(2) 脊椎骨転移痛モデル作製7日以後有意に痛覚閾値の低下と allodynia 症状が見られた。動作時痛の評価は、運動量の変化、rearing time の持続時間と 22kHz 超音波の発声有無が客観的な指標として有用と考えられた。低容量のケタミンは用量依存的に rearing time 以外を有意に改善したが NMDA 受容体阻害薬 MK-801 では有意な改善効果がなく、ケタミンの鎮痛効果は、NMDA 受容体阻害以外の作用が考えられた。ケタミンの鎮痛メカニズムとしては、ミクログリアの活性化抑制効果も考えられた。

(3) ドロナビノール等のカンナビノイド受容体作動薬は神経障害性疼痛下において、モルヒネの鎮痛効果を増強し、鎮痛耐性もほとんど認められなかった。この現象には CB1 受容体の upregulation が関与していることが推測された。

ドロナビノールにより、モルヒネの精神依存はほぼ完全に抑制された。モルヒネの精神依存形成には、中脳辺縁ドパミン神経系の活性化が重要であり、この活性化には、腹側被蓋野における GABA 遊離低下が重要な役割を果たしていると考えられている。本研究により、CB1 受容体は腹側被蓋野の

GABA 神経系に存在し、モルヒネによる GABA 神経系の抑制をドロナビノールが抑制し、モルヒネの精神依存を抑制していることが示唆された。

(4) 呼吸困難の関する、フロセミド吸入試験やトロメタモール静注試験などのプロトコル作成の段階において、わが国における医師主導型臨床試験の幾つかの問題点が浮き彫りになった。第一は補償に関する問題であり、がん患者を対象とした臨床試験において健康被害の補償を目的した保険への加入はわが国では難しいとされている。今回は保険会社の理解があり、損害補償保険への加入が出来たが、バリアは高く、今後解決されるべき問題として残っている。また、研究で使用する薬剤に関しても、薬剤の参加施設への薬物の分配、あるいは健康保険での適応外使用となる場合の各施設における費用負担の問題などが、円滑な臨床試験施行の障害となることが明らかとなった。

(5) 頭頸部癌患者の終末期医療については質の高いエビデンスが無く、コンセンサスもほとんどない状況にある。今回の研究は頭頸部癌終末期に対する初めての前向き研究であり、その手法および結果は今後の研究に大きく役立つものと期待される。今後も症例の集積を継続する予定である。

## E. 結論

今年度の基礎研究の成果は、今後の臨床試験の実施にあたって有用性が高い。特にリドカインやケタミンの基礎研究の結果は、

臨床で最近工夫されてきた治療方法について、モデルを通して治療効果のメカニズムを確認することができた。また、ドロナビノール等の新規治療薬についても、疼痛下での安全性が基礎的に明らかになり、今後の第 I 相試験に当たって極めて重要な成果であると考えられる。

また、緩和ケア領域の臨床試験では、研究計画から研究実施までのノウハウが不足しているが、今年度の活動によって臨床試験が開始され、症例集積が開始されたことは意義深い。

## F. 健康危険情報

フロセミドの吸入により、全身性の反応が起こる可能性は限りなく少ないと考えられるが、添付文書では、静脈内または筋肉内投与を行った場合には、重大なものとして、ショック、アナフィラキシー様症状、再生不良性貧血、汎血球減少症、無顆粒球症、赤芽球ろう、水疱性類天疱瘡、難聴、皮膚粘膜眼症候群、心室性不整脈、間質性腎炎が上げられる。また、トロメタモール点滴に関する薬物有害反応として、総症例 5016 例中 2 例に黄疸、心不全が報告されている。その他、頻度は不明であるが、大量・急速投与に伴い呼吸抑制、低血圧、低血糖、また細い血管や血管外漏出により血管炎、静脈炎、組織の炎症、壊死等が注射部位に生じうる。その他、腎障害、乏尿のある患者では高カリウム血症等の電解質異常が生じる可能性がある。

なお、フロセミド吸入の臨床試験におい

て一症例で試験実施後六日目に被験者が心  
嚢液貯留により死亡した。がんの進行に伴  
う死亡と考えられたが規定に則り効果安全  
性評価委員会での審査が行われ、フロセミ  
ド吸入と心嚢液貯留との因果関係は  
unlikelyであり、本臨床試験の継続は可能  
と判定された。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Narita M, Niikura K, Nanjo-Niikura K, Narita M, Furuya M, Yamashita A, Saeki M, Matsushima Y, Imai S, Shimizu T, Asato M, Kuzumaki N, Okutsu D, Miyoshi K, Suzuki M, Tsukiyama Y, Konno M, Yomiya K, Matoba M, Suzuki T: Sleep disturbances in a neuropathic pain-like condition in the mouse are associated with altered GABAergic transmission in the cingulate cortex. PAIN. 152: 1358-1372, 2011.
- 2) Akiyama M, Takebayashi T, Morita T, Miyashita M, Hirai K, Matoba M, Akizuki N, Shirahige Y, Yamagishi A, Eguchi K: Knowledge, beliefs, and concerns about opioids, palliative care, and homecare of advanced cancer patients: a nationwide survey in Japan. Support Care Cancer. online: PMID\_21656339, 2011.
- 3) Hirai K, Kudo T, Akiyama M, Matoba M,

Shiozaki M, Yamaki T, Yamagishi A, Miyashita M, Morita T, Eguchi K: Public Awareness, Knowledge of Availability, and Readiness for Cancer Palliative Care Services: A Population-Based Survey across Four Regions in Japan. J Palliat Med. 14(8): 918-922, 2011.

- 4) 古村 和恵、宮下 光令、木澤 義之、川越 正平、秋月 伸哉、山岸 暁美、的場 元弘、鈴木 聡、木下 寛也、白髭 豊、森田 達也、江口 研二：進行がん患者と遺族のがん治療と緩和ケアに対する要望—821名の自由記述からの示唆—、Palliative Care Research. 6(2): 237-245, 2011.
- 5) 杉浦 宗敏、宮下 光令、佐藤 一樹、森田 達也、佐野 元彦、的場 元弘、恒藤 暁、志真 泰夫：がん診療連携拠点病院における緩和ケア提供体制と薬剤業務の困難感、日本緩和医療薬学雑誌. 4(4): 103-109, 2011.
- 6) Torigoe K, Nakahara K, Rahmadi M, Yoshizawa K, Horiuchi H, Hirayama S, Imai S, Kuzumaki N, Itoh T, Yamashita A, Shakunaga K, Yamasaki M, Nagase H, Matoba M, Suzuki T, Narita M: Usefulness of olanzapine as an adjunct to opioid treatment and for the treatment of neuropathic pain. issue of Anesthesiology. 116(1): 159-169, 2012.
- 7) 古村 和恵、山岸 暁美、赤澤 輝和、鈴

木 聡、和泉 典子、的場 元弘、森田 達也、沢口 研二：市民の緩和ケアに対するイメージの変化、緩和ケア．22(1)：79-83, 2012.

## 2. 学会発表

- 1) 12<sup>th</sup> CONGRESS of the EAPC, Efficacy and Safety of Intravenous or Subcutaneous Oxycodone Injection for the Management of Cancer Pain : An Open Trial in Japan, 2011.5.18, Lisbon Congress Center, Matoba M, Yomiya K, Takigawa C, Yoshimoto T; Pain & Symptom Control Research Group (SCORE-G)
- 2) 12<sup>th</sup> CONGRESS of the EAPC, Pharmacokinetics of Oxycodone after Intravenous and Subcutaneous Administration in Japanese Cancer Pain Patients, 2011.5.18, Lisbon Congress Center, Kokubun H, Yoshimoto T, Hojo M, Fukumura K, Matoba M
- 3) 12<sup>th</sup> CONGRESS of the EAPC, ALPHA (Algorithm with the Lists for Palliation by Helping Analgesia) for Palliative Care Team: A Consistency, Multicenter, Preliminary Study in Japan, 2011.5.18, Lisbon Congress Center, Yoshimoto T, Tomiyasu S, Tamaki T, Hashizume T, Murakami M, Murakami S, Iwase S, Saeki T, Matoba M; Symptom Control Research Group (SCORE-G)

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## II. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）  
分担研究報告書

新規緩和治療薬の作用機序検証：  
ドロナビノール製剤のがん病態への効果研究  
がん性腹膜炎疼痛モデルの作製とリドカインの鎮痛メカニズムの解明  
脊椎骨転移動作時痛モデルによるケタミンの鎮痛効果  
およびメカニズムの解明

分担研究者 白石 成二  
所属施設 独立行政法人国立がん研究センター研究所  
がん患者病態生理研究分野がん疼痛研究ユニット ユニット長

研究要旨：

本研究においては、1. がん性腹膜炎疼痛評価モデルを作製し、リドカインの鎮痛効果のメカニズムを分子細胞レベルで解明する。2. 脊椎骨転移動作時痛モデルによるケタミンの鎮痛効果およびメカニズムを解明する。3. カナビノイド製剤の制吐・食思増進・鎮痛作用の分子細胞メカニズムを解明する。以上の目的の下、研究を行った。

1. 低分化型胃癌細胞を腹膜播種させ作成した疼痛マウスモデルを用いて、種々の疼痛に関与すると思われる蛋白の発現解析を行った。その結果、痛みに関与している電位依存性  $\text{Na}^+$ チャネル  $\alpha$ サブユニット、Nav1.7 の発現増加と Nav1.6 および Nav1.8 の発現の減少が認められた。さらにモルヒネの作用点である  $\mu$ -オピオイド受容体蛋白が病態モデルにおいて著明に減少していることを明らかにした。
2. ラット乳癌脊椎骨転移痛モデルを作製し、種々の疼痛評価法を検討した。モデル作製7日以後有意に痛覚閾値の低下と **allodynia** 症状が見られた。動作時痛の評価は、運動量の変化、**rearing time** の持続時間と **22kHz** 超音波の発声有無が客観的な指標として有用と考えられた。低容量のケタミンは用量依存的に **rearing time** 以外を有意に改善したが、**NMDA** 受容体阻害薬 **MK-801** では有意な改善効果がなかった。低容量ケタミンの鎮痛メカニズムとしては、ミクログリアの活性化抑制や **NMDA** 受容体阻害作用以外の機序も考えられた。
3. 米国で用いられているカナビノイド製剤ドロナビノールの細胞シグナルについての検討を行った。

A. 研究目的

1. がん性腹膜炎疼痛モデルを作製し、オピオイドの効きにくいがんの腹膜播種に伴う痛みの発現メカニズムを明らかにし、病態生理に基づいた治療薬の開発を目的とする。また、このような痛みに対して臨床現場で経験的に用いられてい

る低用量のリドカイン全身投与の抑制効果について考察する。

2. 脊椎骨転移動作時痛評価モデルを作製し、脊椎骨転移に伴う動作時痛のメカニズムを明らかにし、動作時痛に奏効すると言われているケタミンの鎮痛効果およびその作用メカニズムを明らかにす

る。

3. カナビノイド製剤の制吐・食思増進・鎮痛作用の分子細胞メカニズムを解明する。特に米国で用いられているカナビノイド製剤、ドロナビノールの作用メカニズムを検討し、当研究班にて実施予定のドロナビノールPhase I 臨床試験に向けての基盤データを構築する。

## B. 研究方法

1. がん性腹膜炎疼痛モデルは、低分化型胃がん細胞である 60As6Luc 細胞 ( $1 \times 10^6$  cell) をマウスに腹腔内移植することにより作製した。腹膜播種に伴う腹痛は、刺激に対する逃避行動を痛み反応としてスコア化し評価した。疼痛行動が認められた動物の脊髄ならびに脊髄後根神経節のサンプルを作製し、遺伝子発現の変化は real time RT-PCR 法に従い解析した。
2. 脊椎骨転移動作時痛モデルは、平成 22 年度確立した以下の方法を用いて作製した。Fischer 344 female rat を麻酔下に開腹し、第 6 腰椎の前面を剥離して約 2mm の深さの骨孔を作製し、ラット乳がん細胞 CRL-1666 を注入した。平成 22 年度に行った行動薬理的な痛み評価に加えて、定量的な痛みの評価法として以下の項目を加えた。ラット運動量の変化、rearing time の持続時間と 22kHz 超音波の発声の有無を測定し、ケタミンを腹腔内投与しその鎮痛効果を調べた。さらにがん性疼痛など難治性疼痛時に活性

化されるミクログリアに対するケタミンの効果を実験動物モデルを用いて調べた。ミクログリアを LPS で刺激して産生される NO 量に対するケタミンの効果を実験動物モデルを用いて調べた。

3. カナビノイド製剤ドロナビノール  
ドロナビノールの薬理作用、ならびにそのメカニズムを明らかにする目的で、カナビノイド CB1 受容体を発現させた細胞を用い、ドロナビノールの細胞シグナルを、様々なダウンストリームの経路についてアッセイした。

### (倫理面への配慮)

本研究では動物モデルの構築と、鎮痛薬のメカニズムの解明などの基礎研究を実施した。従って基礎研究における実験動物については、独立行政法人国立がん研究センター研究所の動物実験倫理審査委員会の承認を得、並びに遺伝子組み換え実験安全管理規定を遵守し、研究を遂行した。また、研究状況の定期報告・実施調査などの対策を行った。

## C. 研究結果

1. 低分化型ヒト胃癌細胞をマウスの腹腔内に移植し作製した腹膜播種モデルを用いて疼痛評価を行ったところ、対照群と比較して有意な疼痛行動が認められた。腹膜播種による疼痛行動は、急性膵炎疼痛モデルの疼痛行動を完全に抑制するモルヒネの用量では有意な鎮痛効果が認められず、低用量のリドカインを併用することにより改善した。また、こ

これらの病態下のマウスの脊髄後根神経節では、Na<sup>+</sup>チャンネル $\alpha$ サブユニットである Nav1.7 の発現が増加していること、さらにモルヒネの作用点である  $\mu$ -オピオイド受容体の発現が減少していることを明らかにした。

2. ラット運動量は、乳がん細胞移植後7日目から有意に減少し始めた。また、同時に **rearing time** の持続時間も低下した。低容量のケタミンを腹腔内に投与すると運動量は有意に回復したが **rearing time** の持続時間は改善しなかった。ラットの腰部を刺激すると 22kHz の超音波を発声したが、低容量ケタミンにより超音波の発声はなくなった。ケタミンの改善効果は認められたが、NMDA 受容体阻害薬 MK-801 では上記のいずれも有意に改善しなかった。

ラットの培養ミクログリアを LPS で刺激すると NO が産生されたが、ケタミンは濃度依存的に抑制した。

3. 欧米にて終末期がん患者の食思不振、制吐に用いられているカナビノイド製剤、ドロナビノールについて、本邦での **Phase I study** のプレクリニカル研究を行った。ドロナビノールは、モルヒネによる鎮痛作用を増強することを動物実験にて明らかにし、そのメカニズムとして、カナビノイド CB1 受容体とオピオイド  $\mu$  受容体の受容体レベルでの相互作用が考えられた。

#### D. 考察

1. がん性腹膜炎疼痛モデルの脊髄後根神経節では、モルヒネの作用分子である

$\mu$ -オピオイド受容体の著しい減少が認められたことから、こういった病態変化がモルヒネ抵抗性の痛みの発現に関与している可能性が考えられる。また、リドカインの作用分子である Na<sup>+</sup>チャンネルの発現が増加していたことから、このような病態下ではリドカインの併用が有効である可能性が考えられる。

2. 脊椎骨転移痛モデル作製7日以後有意に痛覚閾値の低下と allodynia 症状が見られた。動作時痛の評価は、運動量の変化、**rearing time** の持続時間と 22kHz 超音波の発声有無が客観的な指標として有用と考えられた。低容量のケタミンは用量依存的に **rearing time** 以外を有意に改善したが NMDA 受容体阻害薬 MK-801 では有意な改善効果がなく、ケタミンの鎮痛効果は、NMDA 受容体阻害以外の作用が考えられた。ケタミンの鎮痛メカニズムとしては、ミクログリアの活性化抑制効果も考えられた。

3. カナビノイド製剤ドロナビノール

欧米にて終末期がん患者の食思不振、制吐に用いられているカナビノイド製剤、ドロナビノールについて、本邦での **Phase I study** のプレクリニカル研究を行った。ドロナビノールは、モルヒネによる鎮痛作用を増強することを動物実験にて明らかにし、そのメカニズムとして、カナビノイド CB1 受容体とオピオイド  $\mu$  受容体の受容体レベルでの相互作用が考えられた。

これらの受容体を介した鎮痛作用のひとつに、受容体活性化による内向き整流性 K



チャンネル活性化、それに伴う細胞過分極による神経興奮性抑制がある。本研究により、両受容体の相互作用により、モルヒネならびにドロナビノールによる K チャンネル活性の相乗作用を明らかにした。ドロナビノールの作用には、モルヒネの作用の増強が考えられ、ドロナビノールはモルヒネ鎮痛を増強させる鎮痛補助薬としても働く可能性が考えられ、本邦で主に用いられるモルヒネ鎮痛の増強に役立つ可能性が示唆された。

#### E. 結論

がん性腹膜炎疼痛モデルの病態解析より、がん性腹膜炎に伴う腹痛に高用量のモルヒネを用いても効果が認められず、このような病態下ではリドカインの併用が有効である可能性が示唆された。

腹膜播種病態下ではモルヒネの受容体が著しく減少していることから、臨床において、モルヒネを増量してもさらなる効果が認められないこと、さらには便秘などの副作用をもつモルヒネの高用量での使用は、消化器症状を強く訴える腹膜播種の患者には適用するべきではないことを強く提唱できると考えられる。

今回のラット脊椎骨転移痛モデルは、新しい癌性疼痛モデルとして、その疼痛発生メカニズムを解析し新たな鎮痛薬の開発に活用できる。臨床においてケタミンを骨転移痛に使用することの根拠となる。

カナビノイド製剤ドロナビノールは、カナビノイド CB1 受容体のアゴニストとして

作用し、またモルヒネの作用を増強することが示唆された。ドロナビノールの使用は、本邦で鎮痛に使われているモルヒネ療法の上乗せとして、補助薬としてはたらく可能性があり、さらなる解析を行っていきたい。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Onizuka S, Shiraishi S, Tamura R, Yonaha T, Oda N, Kawasaki Y, Syed NI, Shirasaka T, Tsuneyoshi I. Lidocaine treatment during synapse reformation periods permanently inhibits NGF-induced excitation in an identified reconstructed synapse of *Lymnaea stagnalis*. *J Anesth*, 26 (1): 45-53, 2012.
2. Onizuka S, Tamura R, Yonaha T, Oda N, Kawasaki Y, Shirasaka T, Shiraishi S, Tsuneyoshi I. Clinical dose of lidocaine destroys the cell membrane and induces both necrosis and apoptosis in an identified *Lymnaea* neuron. *J Anesth*, 26 (1): 54-61, 2012.
3. Yokoyama T, Minami K, Sudo Y, Horishita T, Ogata J, Yanagita T, Uezono Y. Effects of sevoflurane on voltage-gated sodium channel Nav1.8, Nav1.7, and Nav1.4 expressed in *Xenopus* oocytes. *J Anesth*, 25 (4): 609-613, 2011.
4. Minami K, Yokoyama T, Ogata J, Uezono Y. The tramadol metabolite

- O*-Desmethyl tramadol inhibits substance P-receptor functions expressed in *Xenopus* Oocytes. *J Pharmacol Sci*, 115 (3): 421-424, 2011.
5. Ando Y, Hojo M, Kanaide M, Takada M, Sudo Y, Shiraishi S, Sumikawa K, Uezono Y. *S*(+)-ketamine suppresses desensitization of  $\gamma$ -aminobutyric acid type B receptor-mediated signaling by inhibition of the interaction of  $\gamma$ -aminobutyric acid type B receptors with G protein-coupled receptor kinase 4 or 5. *Anesthesiology*, 114 (2): 401-411, 2011.
  6. Yanagita T, Satoh S, Uezono Y, Matsuo K, Nemoto T, Maruta T, Yoshikawa N, Iwakiri T, Minami K, Murakami M. Transcriptional up-regulation of cell surface Nav1.7 sodium channels by insulin-like growth factor-1 via inhibition of glycogen synthase kinase-3 $\beta$  in adrenal chromaffin cells: enhancement of  $^{22}\text{Na}^+$  influx,  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  influx and catecholamine secretion. *Neuropharmacology*, 61 (8): 1265-1274, 2011.
  7. Minami K, Sudo Y, Yokoyama T, Ogata J, Takeuchi M, Uezono Y. Sevoflurane inhibits the  $\mu$ -opioid receptor function expressed in *Xenopus* oocytes. *Pharmacology*, 88 (3-4): 127-132, 2011.
  8. Imai S, Sudo Y, Nakamura A, Ozeki A, Asato M, Hojo M, Devi LA, Kuzumaki N, Suzuki T, Uezono Y, Narita, M. Possible involvement of  $\beta$ -endorphin in a loss of the coordinated balance of  $\mu$ -opioid receptors trafficking processes by fentanyl. *Synapse*, 65 (9): 962-966, 2011.
2. 学会発表
    1. 白石成二, 上園保仁. マウスがん骨転移痛に対する P2X3 受容体阻害物 purotoxin-1 の鎮痛効果. 日本ペインクリニック学会第 45 回大会, 松山, 2011.
    2. 白石成二, 宮野加奈子, 鈴木雅美, 須藤結香, 上園保仁. 脊椎転移によるがん性疼痛モデルラットの検討. 第 70 回日本癌学会学術総会, 名古屋, 2011.
    3. 宮野加奈子, 白石成二, 須藤結香, 鈴木雅美, 寺脇潔, 上園保仁. vinblastin と carboplatin は PKA を介して human TRPA1 を活性化する. 第 70 回日本癌学会学術総会, 名古屋, 2011.
    4. 寺脇潔, 柳原五吉, 澤田祐美, 鈴木雅美, 宮野加奈子, 須藤結香, 白石成二, 上園保仁. ヒト胃がん細胞による新規がん悪液質モデルおよび漢方薬六君子湯の効果. 第 70 回日本癌学会学術総会, 名古屋, 2011.
    5. 上園保仁. 各種オピオイド製剤によるオピオイド耐性の違いをあきらかにする—オピオイド受容体への作用メカニズム解析を通して. 第 5 回日本緩和医療薬学会年会, 幕張, 2011.
    6. 須藤結香, 北條美能留, 宮野加奈子, 鈴

- 木雅美, 寺脇潔, 白石成二, 西田教行, 上園保仁. シグナルペプチド付加 Halo Tag-GPCR の細胞膜移行と機能的アッセイ. 第 85 回日本薬理学会年会, 京都, 2012.
7. 宮野加奈子, 白石成二, 大淵勝也, 須藤結香, 鈴木雅美, 寺脇潔, 山本雅浩, 的場元弘, 上園保仁. carboplatin による transient receptor potential ankyrin 1 活性増強作用機序の解明. 第 85 回日本薬理学会年会, 京都, 2012.
8. 芦川真帆, 鈴木雅美, 成田年, 長谷川実奈美, 鈴木勉, 的場元弘, 佐々木博己, 上園保仁. 癌性腹膜炎疼痛モデルマウスの脊髄後根神経節における  $\mu$ -opioid 受容体およびサブスタンス P の発現変化. 第 85 回日本薬理学会年会, 京都, 2012.
9. 村松俊, 白石成二, 戸田亜希子, 茂木正行, 原真由美, 川崎良彦, 谷口幹雄, 上園保仁. アセトアミノフェン 20mg/kg 経口投与後のラット脳内 AM404 濃度. 第 85 回日本薬理学会年会, 京都, 2012.

#### H. 知的所有権の取得状況

(予定を含む。)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）

分担研究報告書

疼痛下におけるドロナビノールの精神依存と耐性形成抑制の解明  
がん性腹膜炎疼痛モデルの作製とリドカインの鎮痛メカニズムの解明  
脊椎骨転移動作時痛モデルによるケタミンの鎮痛効果  
およびメカニズムの解明

分担研究者 鈴木 勉

研究施設 星薬科大学薬品毒性学教室 教授

**研究要旨：**

本研究では、カンナビノイド受容体作動薬である WIN-55, 212-2 あるいは米国で臨床使用されているドロナビノールを用いて、非疼痛および疼痛下におけるモルヒネの鎮痛作用に対するドロナビノールの併用効果について基礎的検討を行った。カンナビノイド受容体作動薬 WIN-55, 212-2 ならびにドロナビノールはモルヒネにより誘発される鎮痛作用を有意に増強した。また、この増強効果は、非疼痛下では鎮痛耐性が認められたが、神経障害性疼痛モデルでは鎮痛耐性が認められなかった。一方、モルヒネによって誘発される精神依存は、カンナビノイド受容体作動薬によって有意に抑制された。さらに、カンナビノイド受容体作動薬によるモルヒネの精神依存抑制効果には腹側被蓋野におけるモルヒネによるドパミン神経系の機能亢進に対する抑制作用が関与している事も明らかにした。以上の結果より、ドロナビノール等のカンナビノイド受容体作動薬は、オピオイド鎮痛薬によるがん疼痛コントロールにおける鎮痛補助薬として非常に有用であると考えられた。

**A. 研究目的**

日本では大麻草及びその成分は大麻取締法、大麻の合成化学成分は麻薬及び向精神薬取締法により規制されている。一方、米国では合成大麻成分のドロナビノール（合成 $\Delta^9$ -テトラヒドロカンナビノール：THC）はマリノール<sup>®</sup>として販売されており、末期エイズ患者の食欲増進やがんの化学療法に伴う吐き気の緩和のために処方されている。現在、カンナビノイド受容体はCB1およびCB2受容体サブタイプが存在が知られている。ドロナビノールは主にCB1受容体に作用することにより、その有効性を発現すると考え

られており、モルヒネなどの麻薬性鎮痛薬や非ステロイド性抗炎症薬により十分な効果が見られない疼痛に対してマリノール<sup>®</sup>が有効であると言われており、臨床において疼痛治療薬あるいは鎮痛補助薬として有用である可能性が高い。そこで本研究では、オピオイド鎮痛薬に対する鎮痛補助薬としてのカンナビノイド受容体作動薬の有用性を検討した。さらに、モルヒネの精神依存に対するカンナビノイド受容体作動薬の併用効果に関する基礎的検討を行った。