

2011/8012B

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21年度～23年度 総合研究報告書

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21年度～23年度 総合研究報告書

研究代表者 的場 元弘

平成24（2012）年 3月

平成21年度 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 分野長
上園 保仁
- 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 副学長
北島 敏光
- 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

(職名は平成24年現在のものとなります)

平成22年度 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 科長の場 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

(職名は平成24年現在のものとなります)

平成23年度 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 科長の場 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

(職名は平成24年現在のものとなります)

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) 《資料》平成21年度 がん治療に携わる一般医師とがん診療連携拠点病院の緩和ケアチーム の医師に対する難治性の症状治療に関するアンケート調査	

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 -----	39
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 -----	49
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 -----	56
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 -----	68
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 -----	72
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 -----	76
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 -----	80

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	88
---------------------------	----

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）
総合研究報告書

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：

本研究班では、高度かつ苦痛緩和が困難な疼痛や呼吸困難などを対象に、メカニズムを明らかにし、有効性の高い疼痛治療の提供を目指してきた。特に難治性疼痛としては腹膜播種に伴うリドカインの効果と脊椎骨転移におけるケタミンの鎮痛効果を行動薬理と病態生理的に解明し、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て取り組んだ。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。本研究班では緩和医療における医師主導型臨床研究を効率的に管理し、質の高いエビデンスが創出できるシステムを立ち上げ、実際に運用することで質の高い研究を行うことができ、その成果が出つつある。

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

具体的には以下の研究を行う。

第一に、既存の薬剤による難治性疼痛に対する治療法の確立として、がん性腹膜炎疼痛モデルを確立し、さらにリドカインの鎮痛効果を行動薬理と病態生理の両面から解明し、がんの腹膜播種に伴う痛みの治療法を確立する。また、脊椎転移に伴う動作時痛に対するケタミンによる疼痛治療法の開発についても、脊椎転移動作時痛モデルを確立し、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し、多施設臨床試験を踏まえケタミンによる鎮痛がより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に基づいた治療法は確立していない。

本研究は、オピオイド抵抗性のがん疼痛などに用いられる薬剤の作用メカニズムを明らかにし、がん患者の病態に合わせた薬物治療法の開発を総合的に目指す。

第二に、わが国には新規薬剤となるドロナビノールの導入を検討する。ドロナビノールは、欧米において抗がん剤などによる嘔気・嘔吐の治療薬として承認されてお

り、基礎研究では高い鎮痛効果も示唆されている。導入のための第 I 相試験に先立って、懸念されているドロナビノールの精神依存と耐性形成の有無及び安全性、効果的な使用方法の解明についての研究を進める。

第三に、呼吸困難を病態生理学的な機序に基づく治療法の開発を行う。過去の臨床研究の成果から、フロセミド吸入は肺進展受容体を介した呼吸困難を抑制し、トロメタモールの静脈内投与は気道抵抗増加による呼吸困難の緩和作用を有することが明らかになっており、今年度は、昨年度に作成されたプロトコールに従って多施設臨床試験を実施する。

第四に、頭頸部がんについては現在まで国内での横断的調査も皆無の状態であり、頭頸部がんの終末期ケアの手法は整っていない。頭頸部がんの症状の特殊性を含めた実態を把握し、診療指針の作成のための基礎データとする。

第五に、緩和ケア領域の臨床試験の実施を可能になるための臨床試験支援体制を確立する。その内容として、プロトコール委員会、効果・安全性検討委員会、データセンターを組織し、緩和ケア領域の臨床試験実施上の問題と解決のノウハウを蓄積する。

B. 研究方法

(1) がんの腹膜播種に伴う疼痛発現ならびにモルヒネ抵抗性のメカニズムの解析は、ヒト低分化型胃癌細胞である 60As6Luc 細胞（ルシフェラーゼ遺伝子を導入済、 1×10^6 cell）を C. B. 17/Icr-scid マウスに

腹腔内移植した腹膜播種モデルを用いて行った。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、蛋白質発現およびその局在変化は免疫染色法に従い解析した。

(2) 脊椎骨転移痛モデルは、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 を注入し作製した。行動薬理的に種々の評価法を用いて痛みを評価した。評価項目は、BBB locomotor rating scale、Limb-use abnormality、Guarding behavior、von Frey test、paintbrush touch test (allodynia score)、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た。ケタミンの鎮痛効果は、乳がん細胞注入後 10 日目にケタミンを腹腔内に投与して調べた。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の培養ミクログリアを用いて検討した。LPS でミクログリアを刺激して産生される NO 量に対するケタミンの効果を測定した。

逆行性神経トレーサー fluoro-gold (F-G) を骨髄内に投与後、後根神経節を採取し、F-G により標識された神経細胞体の神経化学的特性を調べた。

マウス大腿骨に NCTC2472 を移植し、大腿骨転移痛モデルを作成し、疼痛関連行動の評価を行った。さらに、TRPV1 に注目し疼痛発現機序を調べた。

マウス第4腰椎椎体に Lewis lung carcinoma 細胞を移植し、脊椎転移性疼痛モデルの作成と疼痛関連行動評価を行った。

(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

実験には SD 系雄性ラット (250~300 g) および ICR 系雄性マウス (25~30 g) を使用した。また、カンナビノイド受容体作動薬として、WIN-55, 212-2 あるいはドロナビノールを使用した。

鎮痛効果：鎮痛効果の検出には、hot plate 法もしくはレーザーによる熱刺激を利用した。神経障害性疼痛モデルは、Seltzerらの方法 (Pain 43, 205-218 (1990)) に従い、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た。

薬物弁別法：弁別刺激効果の測定には、nose poke によるオペラントボックスを用い、0.1 mg/kg の CP-55, 940 を訓練薬物として弁別訓練を行なった。CP-55, 940の弁別獲得後、般化試験を行なった。

条件づけ場所嗜好性試験：報酬効果は、conditioned place preference 法に従い測定した。

In vivo microdialysis 法：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。

Pentobarbital (50 mg./kg, i.p.) にて麻酔を施した後、ラットを脳定位固定装置に固定し、ガイドカニューレをラット脳アトラス図に基づき目的とする脳部位に挿入した。カニューレーション後、HPLC-ECDシステムを用いて薬物処置後の側坐核領域における dopamine およびその代謝物の分離定量を行った。

身体依存に関する検討：カンナビノイド受容体作動薬の身体依存の可能性を検討する目的で、WIN-55, 212-2 (2 mg/kg) を1日2回、6日間投与した後、カンナビノイド受容体拮抗薬である AM251 を投与し、発現する退薬症候を観察した。

生化学ならびに免疫組織化学的検討：

定法に従い、ウェスタンブロットティング法ならびに免疫組織化学的方法により、脊髄ならびに腹側被蓋野におけるカンナビノイド受容体のサブタイプの一つである CB1 受容体の定量ならびに分布を検討した。

オピオイド μ 受容体、ならびにカンナビノイド CB1 受容体の一方、あるいはその両者を発現させた細胞を用い、両者の鎮痛メカニズムのひとつである内向き整流性 K チャネルの活性化を指標に、モルヒネならびにドロナビノールの K チャネル活性化を測定した。

(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。

(6) 脊椎骨転移に伴う動作時痛に対するケタミンの効果についての臨床試験

A) 文献的考察による医学的意義の検討:

脊椎転移に伴う突出痛に対するケタミンの疼痛改善効果の医学的意義について、文献的検討を行う。

B) 臨床研究実施要綱の作成:

本臨床研究の開始にあたって、慢性疼痛に対するケタミンの投与について国内外で報告された文献的考察を行い、対象患者の適格基準、ケタミンの投与方法、投与量、効果判定方法、倫理的配慮について検討を行い、研究追行に十分な実施要綱を作成する。

C) 臨床研究実施のための研究班の構築:

作成した臨床研究実施概要を用いて臨床試験を実施するための研究班を構築するために、以下の検討を行う。

- 1) 臨床研究実施概要に沿って臨床試験を行う施設の選定基準を設定する。
- 2) 臨床試験でのケタミンの有効性を証明するために必要な症例数を統計学的に算出する。

D) 有効性・安全性の検証のための臨床研究の実施:

統計学的に算出された必要症例数を集めるために、臨床試験実施要綱実行可能な施設を選定し、各施設での倫理委員会での承認を得て、臨床試験を開始する。その後、必要症例数を集積できた時点で、研究の成果について統計学的処理を行い、医学的考察を行う。

(7) 緩和ケア領域の臨床試験支援体制の確立

緩和医療の医師主導型臨床試験を下記の 6 つのフェーズに分け、それぞれのフェーズで必要となる業務を設定して、臨床試験の全過程 (開始から終了まで) を管理するシステムを考案。実際に臨床試験を開始して、

本研究班に参加している研究者、研究協力者、生物統計家、データマネージャで構成される運営委員会が、臨床試験の進捗報告をもとに管理システムを再検討し、修正を加えていく。

1) プロトコール作成(臨床試験開始)

主任研究者をグループ長とするプロトコール作成ワーキンググループ(WG)を結成。本研究班で作成したプロトコール・フォーマットに従ってプロトコールの完成を目指す。また、主任研究者は臨床試験に参加する施設を募って、とりまとめを行う。また同時に、運営委員会は第三者で構成されるプロトコール審査委員会と効果安全評価委員会を設置する。両委員会のメンバーには臨床試験の経験者を5名以上選出して、メンバーには両委員会委員の兼任を依頼する。

緩和医療の臨床試験は他の領域の臨床試験とは異なり、有害事象の発生頻度が高くなる可能性があるため、効果・安全評価委員会の債務と審査手順は厳しく検討する。

2) データセンターの設置

プロトコールの説明・同意文書、CRF、データベースを作成。インターネットでデータを取得(EDC)し、欠損や整合性などのデータチェックを自動で管理できるシステムを構築する。また、データ欠損等に対するリマインダー機能、つまり登録もれがあった場合にアラートやメールで催促されるシステムを構築し、業務の効率化を図る。

3) 倫理委員会申請・承認

完成したプロトコールは、第三者で構成さ

れるプロトコール審査委員会にプロトコールの審査を依頼し、科学性と安全性を評価する。プロトコール審査委員会がプロトコールを承認したら、研究代表者は臨床試験参加施設の研究責任者に指示して、各施設の倫理委員会にプロトコールの倫理審査を申請して承認を得る。

4) 研究(登録)開始

臨床試験参加施設の研究責任者は、本研究班が構築したインターネット上のデータセンターを利用して症例をエントリーする。研究実施中は中央モニタリングを行い、効果・安全性評価委員会による監査を受けることで、安全に試験を進める。

5) データの固定

データマネージャはデータの欠損や疑義事項について各施設に確認し、データのクリーニングを行う。

6) 臨床試験終了

固定したデータをもとに統計責任者が結果を解析して、研究代表者が研究をまとめて結果を報告し、論文化する。

(倫理面への配慮)

本研究では全般にわたり、世界医師会による1964年採択(2002年修正)の「ヘルシンキ宣言」および厚生労働省による平成15年7月30日施行(平成16年12月28日改定)の「臨床研究に関する倫理指針」を遵守した。

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あるいは、

星薬科大学動物実験指針に従い、星薬科大学の動物実験委員会で承認を得た上で、動物に対する倫理面を十分に考慮して全ての実験を行った。

C. 研究結果

(1) がんの腹膜播種に伴う疼痛発現ならびにモルヒネ抵抗性のメカニズムの解析
低分化型胃癌細胞である 60As6Luc 細胞を 1×10^6 cell 腹腔内に移植することにより、移植後 4 週目では、ほぼ 100 % の確率で腹膜に複数の腫瘍の形成が認められることを IVIS イメージング法により確認した。これらの動物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。そこで神経の興奮のマーカーである c-fos 蛋白の脊髄における発現を痛覚伝達の指標として解析したところ、対照群と比較して有意な c-fos 陽性細胞数の増加が認められた。疼痛行動が認められたマウスの病態生理を明らかにする目的で、脊髄後根神経節を摘出し、モルヒネの作用分子である μ -オピオイド受容体の発現が減少していること、さらには Na^+ チャネル α サブユニットである Nav1.7 の発現が増加していることが明らかとなった。次に腹膜播種疼痛モデルに対するモルヒネの効果を解析したところ、急性膵炎疼痛モデルの疼痛行動をほぼ完全に抑制するモルヒネの用量では 50 % の鎮痛効果しか示さず、高用量のモルヒネを投与しても鎮痛効果の頭打ちが認められた。さらにこれらのマウスに 低用量のリドカインを静脈内投与し

たところ、モルヒネで改善されなかった疼痛行動は有意に抑制された。

(2) 脊椎骨転移動作時痛モデルの確立とケタミンの効果の検討

乳がん細胞を注入後 14 日目から BBB locomotor rating scale は低下し 18 日目には麻痺が出現した。Limb-use abnormality は、注入後 7 日目より見られ 10 日目には score が 3 であった。Guarding behavior は症状が両側のため評価は困難であった。von Frey test と paintbrush touch test (allodynia score) は注入後 10 日目より有意に痛覚閾値の低下と allodynia 症状が見られた。von Frey test と paintbrush touch test では、腹腔内に投与した低容量ケタミンにより改善が見られたが、NMDA 受容体阻害薬の MK-801 では鎮痛効果は有意ではなかった。ケタミンの Limb-use abnormality に対する効果は、症状が両側のため評価が困難であった。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、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。これらの評価法について低用量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 では改善しなかった。また、ラットの培養マイクログリア細胞を LPS で刺激しマイクログリアを

活性化すると NO が産生されたが、ケタミンと MK-801 は濃度依存的に NO 産生を抑制した。

骨髄に投射する知覚神経の神経化学的特性

雄性 C57BL/6J 系統マウスの左大腿骨骨髄内および第 4 腰椎骨髄内に F-G 5 μ L 投与し、2 日後に左第 2, 3, 4 腰椎後根神経節を採取し、各種神経マーカーとの免疫染色を行った。F-G 陽性後根神経節細胞体はペプチド含有神経のマーカーである calcitonin gene-related peptide (CGRP) や有髄神経のマーカーである neurofilament 200kD (NF200) に対して免疫陽性を示したが、ペプチド非含有神経マーカーである isolectin B4 (IB4) に対しては陰性であった。足底皮膚には CGRP, IB4 および NF200 陽性神経が投射することが明らかになっている。したがって、骨髄にはペプチド含有神経および有髄神経が投射するが、ペプチド非含有神経は投射せず、皮膚とは異なった神経化学的特性を持った知覚神経が投射することが明らかとなった。また、知覚神経に発現する温度感受性分子である TRPV1 と TRPV2 は痛み受容分子である可能性が示唆されている。そこで、F-G 陽性細胞と TRPV1 と TRPV2 の共存について調べた。F-G 陽性細胞の約 25% が TRPV1 であり、または、約 25% が TRPV2 陽性であることが明らかとなった。TRPV1 は小型 F-G 陽性細胞に発現し、TRPV2 は中型-大型 F-G 陽性細胞に発現した。TRPV1 は主に無髄神経に発現し、TRPV2 は有髄神経に発現した。TRPV1 と

TRPV2 は後根神経節細胞体では共存せず、異なった細胞に発現しており、それぞれ異なった感覚を受容していると考えられた。また、大腿骨と第 4 腰椎に投射する知覚神経の神経化学特性は同様であった。

大腿骨転移痛モデル作製と疼痛関連行動評価および TRPV1 に注目した疼痛発現機序

Mantyh らの方法に応じて、C3H/HeJ マウスの大腿骨骨髄内に NCTC2472 細胞を移植することにより作製した。移植後、2 週間ほどで大腿骨遠位部の骨髄はほぼ腫瘍に置き換わった。また、行動学的には患肢を振り回す (flinching) 自発痛関連行動、歩行時に患肢をかばう歩行異常 (abnormal ambulation)、立位時に患肢に体重をかけない (abnormal weight bearing)、といった骨がん患者で観察されると同様な疼痛関連行動を示した。これらの行動は移植後 1 週間で明らかとなり、2 週間でピークとなり 3 週まで持続した。3 週以後はしばし大腿骨骨折を引き起こしたため、疼痛関連行動の評価は困難であった。

次に TRPV1 陽性神経が骨髄に投射していることから、TRPV1 陽性神経はどのような疼痛関連行動に寄与しているか検討した。カプサイシンをマウスくも膜下投与し、TRPV1 陽性神経欠損マウスを作製した。カプサイシンを腰部くも膜下投与することにより少なくとも投与 4 週間は胸・腰椎レベルでの脊髄へ投射する TRPV1 陽性神経の欠損が得られた。TRPV1 陽性神経欠損マウスで大腿骨転移痛モデルを作成したところ、

対照マウスと比べ abnormal ambulation および abnormal weight bearing は同様であったが、ほとんど flinching を認めなかった。したがって、TRPV1 陽性神経は体動時痛ではなく自発痛を伝達していることが明らかになった。

研究分担者はこれまでの研究で大腿骨転移痛モデルでは TRPV1 が tonic に活性化していることを明らかにした。また、最近の研究で通常は細胞膜を透過しない正に電荷した局所麻酔薬 QX-314 が活性し TRPV1 のポアを通して細胞内に侵入し、局所麻酔薬効果を発揮することがあきらかとなった。そこで、大腿骨転移痛モデルに QX-314 を全身投与したところ用量依存性に flinching のみが増加したが、abnormal ambulation および abnormal weight bearing には変化なかった。

脊椎転移性疼痛モデルの作成

臨床上、オピオイド抵抗性難治性疼痛の 1 つと考えられる脊椎転移性疼痛の機序の新たな治療法を開発するために、脊椎転移性疼痛モデルの作成を行った。C57BL/6J マウスを用いた。全身麻酔下に、経後腹膜に第 4 腰椎椎体を露出した。椎体前面を微小ドリルで小孔を開け、30 ゲージ針を装着したハミルトンシリンジで Lewis lung carcinoma 細胞 10^7 個移植した。移植 14 日後にマウスを灌流固定し、脊髓組織を取り出し、c-fos 発現を免疫組織学的に検討した。その結果、Lewis lung carcinoma 細胞移植に伴い、脊髄後角表層の神経細胞で

c-fos 発現が増加することが明らかとなった。SMART ビデオ画像解析装置を用いて経時的に単位時間当たりの自発運動量を測定した。しかしながら、移植前、1 週間後、2 週間後で明らかな自発運動量の変化はなかった。

また、移植前と比べて、異常な行動も観察されなかった。また、マウスは過度なストレスや痛みによって超音波を発することが報告されているので、Lewis lung carcinoma 細胞移植後の経時的に超音波発生を調べた。しかしながら、超音波を検出することはできなかった。

(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 日間処置しても減弱は認められなかった。

カンナビノイド受容体作動薬の弁別刺激効果

に関する検討により、CP-55, 940 の摂取感覚効果について検討した。カンナビノイド受容体作動薬である CP-55, 940 の弁別を獲得したマウスにおいて、ドロナビノールは CP-55, 940 の弁別刺激効果に般化した。

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 CB1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。また、カンナビノイド受容体作動薬である WIN55, 212-2は慢性投与において身体依存形成は認められなかった。

(4) フロセミド吸入試験およびトロメタモールの静注試験

がん性呼吸困難に対する吸入フロセミドの有効性については、これを支持する報告と支持しない報告があり、十分な結論が得られていない現状が明らかとなった。また、THAM 静注に関しては、がん患者に投与された報告は皆無であった。

2009 年より着手された吸入フロセミドおよ

びトロメタモール点滴静注の臨床試験プロトコール作成はプロトコールワーキンググループ会合および的場班会議により修正を重ね、最終的には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。研究プロトコールは的場班プロトコール審査委員会で承認された後、参加施設への説明を踏まえたキックオフミーティングが開催された。現在症例を集積中である。

(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・自治医科大学附属病院・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。

(6) 脊椎骨転移に伴う動作時痛に対するケタミン

A) 文献的考察による医学的意義の検討：

ケタミンは視床や新皮質などを抑制し、

大脳辺縁系を賦活する解離性麻酔薬として古くから使用されてきたが、近年、NMDA 受容体拮抗薬として様々な疼痛疾患の治療に応用されている。ケタミンその効果は、麻酔作用を示さないほどの少量で鎮痛効果を発揮することで知られてきている。また、ケタミンががん疼痛治療においてオピオイド以外の有用な鎮痛薬もしくは鎮痛補助薬の一つであることに疑う余地はない。そして、がん疼痛におけるケタミンの有用性については、神経障害性疼痛などのオピオイド抵抗性疼痛への有効性、オピオイドの鎮痛耐性の抑制、突出痛への有効性などが報告されている。以上の文献的考察から、本臨床研究を行う医学的意義が明らかになった。

B) 臨床研究実施要綱の作成：作成した実施要領を下記に示す。

① 臨床研究参加への患者適格基準：

下記の全てを満たす患者対象とする。

- 1) 本人による文書同意が得られている患者。
- 2) 同意取得時の年齢が満 20 歳以上、65 歳未満の患者。
- 3) 組織学的又は細胞学的に診断された悪性の固形腫瘍（血液腫瘍は除く）に起因するがん疼痛を有する患者。
- 4) がんが告知されている患者。
- 5) 3 ヶ月以上の生存が期待される患者。
- 6) がん疼痛に対して、経口モルヒネ換算量 30mg/日以上、600mg/日以下の投与を受け、安静時の痛みが良好（Numerical Rating Scale (NRS) スコアで 3 以下）にコント

ロールされている患者。オピオイドの種類、投与経路を問わない。

- 7) 脊椎転移による痛み（画像診断に一致した痛み）を訴える患者。
- 8) 明らかな神経障害性疼痛の存在のない患者。
- 9) 下記の理由で強い突出痛（NRS スコアで 6 以上）が残存し、活動性に支障をきたしている患者。
 - ①オピオイド鎮痛薬の増量に伴い認容できない副作用の出現。
 - ②非ステロイド性消炎鎮痛薬やアセトアミノフェンの併用にもかかわらず、突出痛が出現。
 - ③鎮痛補助薬の併用投与にもかかわらず、突出痛が出現。
- 10) Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG)における Performance Status が Grade1～3 に相当する患者。
- 11) 試験薬投与開始 72 時間前から鎮痛薬（定時薬とレスキュー薬を含む）あるいは鎮痛補助薬（上記）の処方、投与方法に変更が行われていない患者。
- 12) 試験薬投与開始 2 日間において、NRS スコア 6 以上の突出痛を 1 回/日以上訴えた患者。
- 13) 静脈ルートが確保できる患者。
- 14) 入院中もしくは入院可能な患者。

② 臨床試験参加患者数の決定：

被験者の実薬または偽薬投与前の Numeric Rating Scale (NRS) 得点の平均値を 6 点、投与前後の NRS 得点の変化（個人内での前後差）に関する群間での平均値の

差を1点、得点の変化の標準偏差を群間で共通で1.5点と見積もると、第一種の過誤を5%（片側）、検出力80%とした場合、各群で28人程度の被験者数が必要となり、試験途中での脱落等を考慮して、1群30人、全体で60人を目標参加患者数とした。

③ 投与薬剤：

ケタミンは厚生労働省から認可された市販品（ケタラール®静注用200mg、10mg/mL、第一三共株式会社）を用いる。尚、偽薬には生理食塩水（生理食塩水、50mL、大塚製薬工場）を用いる。

④ 薬剤の投与方法：

実薬群：ケタミンを3日間持続投与する。

- 1) 2mg/kg/日で持続投与開始する。
- 2) ケタミンの投与開始後24時間以内に観察された突出痛のNRSスコアに改善がみられず（観察された全ての突出痛がNRSスコアで6以上）、患者がその増量を望み、かつ副作用が認容されている場合、投与開始24時間後にその投与量を4mg/kg/日に増量できる。
- 3) ケタミンの投与開始後48時間にケタミンの増量はできない。（ケタミンの最高投与量は4mg/kg/日である）
- 4) ケタミンの投与開始後24時間以降、48時間に認容されない副作用が出現した場合、ケタミンの投与開始後48時間に本人の希望により試験薬の中止もしくはその投与量を2mg/kg/日へ減量できる。
- 5) ケタミンの投与開始後48時間以降、ケタミンの投与量の変更はできない。ただし、認容されない副作用が出現した場合、

本人の希望により試験薬の中止できる。

- 6) ケタミンは体重あたりで算出された量を生理食塩水で希釈・混合し、総量を24mLとし、1.0mL/時間で持続投与する。
偽薬群：生理食塩水を3日間持続投与する。
- 1) 生理食塩水のみで総量を24mLとし、1mL/時間で持続投与する。

尚、実薬、偽薬ともに電動式精密持続注入器を用いて72時間持続投与する。

⑤ 薬剤の評価：

- 1) 主評価指標として、患者日誌を用いて、被験者に突出痛が出現した際のNRSスコアを記載してもらい、試験薬投与前後の突出痛（0～10）のNRSスコアを比較する。
 - 2) 副評価項目を下記に示す。
 - ① 試験薬投与前後の突出痛の頻度（回/日）の変化。
 - ② 通常のレスキュー薬の使用状況の変化。
 - ③ 試験薬投与中の全体的な症状評価。
 - ④ 除痛に対する満足感。
 - ⑤ 試験薬の全体的評価。
 - 3) 安全性に関する観察・検査項目を下記に示す。
 - ① 有害事象の調査。
 - ② 検査（バイタルサイン、血液・生化学的検査）。
- C) 臨床研究実施のための研究班の構築：
研究班を構築するために、核となる施設において施設の選定のための必要条件を検討し、以下の結論に達した。
- 1) 医育機関における付属病院、がん連携拠点病院等である。

- 2) 治験審査委員会が設置されている施設である。
- 3) 麻薬管理者が設置されている麻薬診療施設である。
- 4) ケタミンが採用されている施設である。
- 5) 入院受け入れが可能な施設である。
- 6) 電動式輸液ポンプが設置されている施設である。
- 7) インターネットを介したデータ集積が可能な施設。

以上の条件を満たす機関として 30 施設が選定され、各々の施設の緩和ケア責任者もしくはがん医療において緩和ケアに従事する医師に対して、本研究の主旨を伝え、意向を確認した。

そして、同意が得られた施設で研究班を構築した。最終的に研究班の構成組織は 20 数施設となる見込みである。

D) 有効性・安全性の検証のための臨床研究の実施：

1) サンプルサイズ

被験者の実薬（ケタミン）または偽薬（生理食塩水）投与前の NRS 得点の平均値を 6 点、投与前後の NRS 得点の変化（個人内での前後差）に関する群間での平均値の差を 1 点、得点の変化の標準偏差を群間で共通で 1.5 点と見積もると、第一種の過誤を 5%（片側）、検出力 80%とした場合、各群で 28 人程度の被験者数が必要となり、試験途中での脱落等を考慮し、1 群 30 人、全体で 60 人を目標サンプルサイズと設定した。

2) 倫理委員会の審査

研究班を構成する各施設において、本研究の臨床研究実施概要を倫理委員会に提出し、その審査を開始した。

倫理委員会の審査の結果、試験方法（二重盲検試験）、試験の臨床的意義、患者選択、試験薬の投与方法・投与量・投与期間、同意取得方法、倫理的配慮等の臨床研究実施概要の内容の大幅な変更を強いられる施設はなかった。

3) 臨床試験の開始

現在、各施設において倫理委員会の最終承認の取得を目指しており、承認施設が 10 施設に達した時点で、キックオフミーティングを開催し、臨床試験を開始する予定である。

(7) 緩和ケア領域の臨床試験支援体制の確立

・プロトコール作成支援

1) フロセミド吸入によるがん性呼吸困難改善効果の検討 Randomized P-II study, 主任研究者：西野 卓 千葉大学医学部附属病院

2) がん性呼吸困難に対するトロメタモール (THAM) 静注の安全性と用量の検討 P-I study, 主任研究者：西野 卓 千葉大学医学部附属病院

3) 進行頭頸部がんの症状と機能に関する観察研究, 主任研究者：海老原 充 国立がん研究センター東病院

4) 脊椎転移に伴う突出痛に対するケタミンの疼痛改善効果の検討 Randomized P-II study, 主任研究者：北島敏光 獨協医科大学

学附属病院

5) がん性腹膜炎に対するリドカインの疼痛改善効果の検討 Randomized P-II study, 主任研究者：的場元弘 国立がん研究センター

・データセンター構築

インターネットでデータを取得 (EDC) するシステムを構築した。

・研究実施支援

1) フロセミド吸入によるがん性呼吸困難改善効果の検討 Randomized P-II study, 主任研究者：西野 卓 千葉大学医学部附属病院

2) 進行頭頸部がんの症状と機能に関する観察研究, 主任研究者：海老原 充 国立がん研究センター東病院

EDC システムを利用し、欠損チェック、整合性チェックなどのデータチェックを自動で、管理した。また、試験進捗を研究参加施設に定期的に通知しモチベーションを保つ工夫を行った。

D. 考察

(1) がんの腹膜播種に伴う疼痛発現ならびにモルヒネ抵抗性のメカニズムの解析

低分化型胃癌細胞である 60As6Luc 細胞を腹腔内に移植することで、ほぼ 100 % の確率で腹膜播種モデルを作成することができた。これらの動物を用いた疼痛評価を確立後、鎮痛薬の効果を試したところ、急性膵炎疼痛モデルの疼痛行動をほぼ完全に抑制する高容量モルヒネでは 50 % の鎮痛効果しか示さなかった。しかしそこに低用量

のリドカインを静脈内投与したところ、疼痛行動は有意に抑制された。疼痛伝達を行っている脊髄後根細胞において、対照群と比較して有意な c-fos 陽性細胞数の増加が認められた。さらに腹膜播種マウスの後根細胞では、 μ -オピオイド受容体の発現減少に加え、 Na^+ チャネル α サブユニット、Nav1.7 の発現の増加が認められた。

以上の結果より、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、さらには便秘や嘔気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べきではないことを強く提唱できると考えられる。さらにこれらの病態下では、 Na^+ チャネルの発現変化が引き起こされていることから、腹膜播種病態下でみられるモルヒネで改善されない痛みには、リドカインの併用が有効である可能性が示唆された。

(2) 脊椎骨転移動作時痛モデルの確立とケタミンの効果の検討

脊椎骨転移動作時痛モデルを新たに開発し、疼痛評価を行動薬理的に検討した。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 rearing time 以外の疼痛評価法において有意に改善したが、NMDA 受容体阻害薬 MK-801 では有意な改善効果がなかった。