

図7 がんに伴う呼吸困難の治療の印象

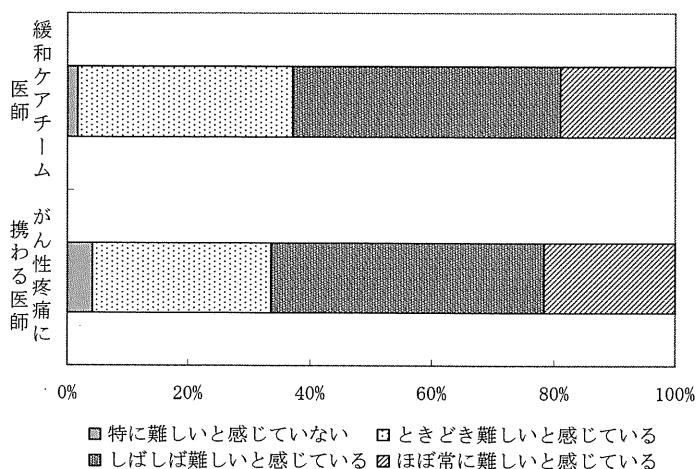


表11 がんに伴う呼吸困難に対するフロセミド吸入の使用とその積極性

	がん性疼痛に携わる医師		緩和ケアチーム医師		Relative Risk (95%CI)	p-value
	n	%	n	%		
フロセミド吸入						
使用したことがある	41	9.5	51	17.3	1.09	0.0020
使用したことがない	390	90.5	244	82.7	1.03-1.16	
積極性						
やむを得ない場合に限って使用する	14	34.1	20	38.5		
他の方法を優先的に試み、効果が不十分な場合に使用する	14	34.1	22	42.3		
必要と判断されれば他の方法と同等な選択肢の一つとして使用する	13	31.7	10	19.2		
他の方法より優先的に使用する	0	0.0	0	0.0		

表 12 フロセミド吸入を使用する際に感じている問題点、
フロセミド吸入を使用しない理由

	がん性疼痛に携わる医師		緩和ケアチーム医師		Relative Risk (95%CI)	p-value	
	n	%	n	%			
フロセミド吸入を使用する際の問題点							
副作用	選択	9	1.8	2	0.7	2.65	0.1909
	非選択	503	98.2	300	99.3	0.58-12.20	
エビデンスが無い	選択	23	4.5	32	10.6	0.42	0.0008
	非選択	489	95.5	270	89.4	0.25-0.71	
適応外使用である	選択	24	4.7	25	8.3	0.57	0.0375
	非選択	488	95.3	277	91.7	0.33-0.97	
院内での使用制限	選択	4	0.8	2	0.7	1.18	0.8479
	非選択	508	99.2	300	99.3	0.22-6.40	
フロセミド吸入を使用しない理由							
有効性が不明	選択	193	37.7	169	56.0	0.67	< 0.0001
	非選択	319	62.3	133	44.0	0.58-0.78	
用法・用量がわからない	選択	221	43.2	97	32.1	1.34	0.0018
	非選択	291	56.8	205	67.9	1.11-1.63	
副作用	選択	10	2.0	1	0.3	5.90	0.0528
	非選択	502	98.0	301	99.7	0.76-45.85	
適応外使用である	選択	117	22.9	56	18.5	1.23	0.1466
	非選択	395	77.1	246	81.5	0.93-1.64	
エビデンスが無い	選択	73	14.3	53	17.5	0.81	0.2097
	非選択	439	85.7	249	82.5	0.59-1.12	
院内での使用制限	選択	14	2.7	8	2.6	1.03	0.9422
	非選択	498	97.3	294	97.4	0.44-2.43	

図 8 フロセミド吸入の効果に対する満足度

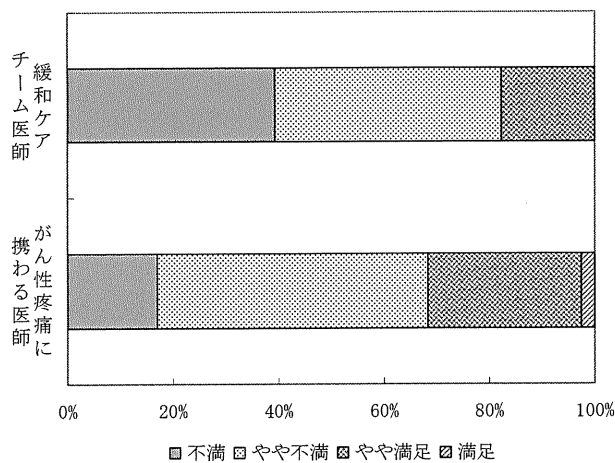


表 13 1ヶ月あたりに診察する
がん性腹膜炎に伴う腹痛を訴える症例数

	がん性疼痛に携わる医師		緩和ケアチーム医師	
	n	%	n	%
	(n=485)		(n=301)	
診察していない	101	20.8	4	1.3
1症例未満	204	42.1	36	12.0
1-5症例	154	31.8	197	65.4
6-10症例	22	4.5	52	17.3
11症例以上	4	0.8	12	4.0

図 9 がん性腹膜炎に伴う腹痛に対して最初に用いる鎮痛薬

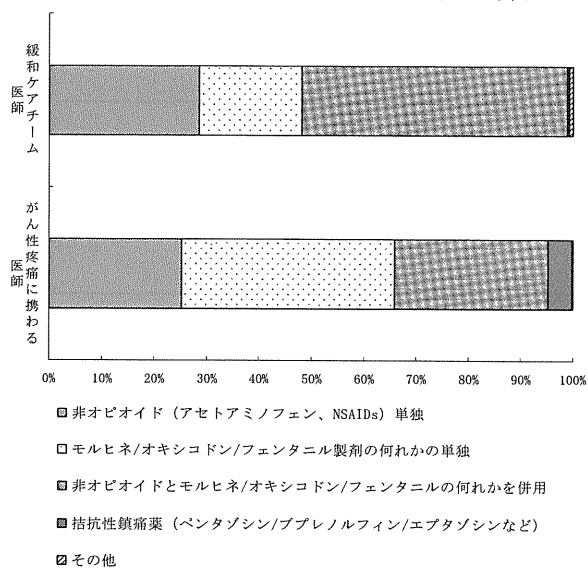


図 10 がん性腹膜炎に伴う腹痛の初期治療で軽度の痛みのレベルにまで改善が得られる患者の割合

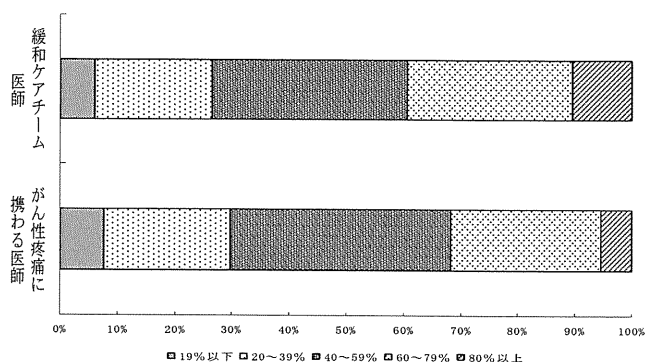


表 14 がん性腹膜炎に伴う腹痛によく用いる鎮痛薬以外の薬物療法

		がん性疼痛に携わる医師		緩和ケアチーム医師		Relative Risk (95%CI)	p-value
		n	%	n	%		
抗けいれん薬	選択	60	11.7	70	23.2	0.51	< 0.0001
	非選択	452	88.3	232	76.8	0.37-0.69	
抗うつ薬	選択	158	30.9	43	14.2	2.17	< 0.0001
	非選択	354	69.1	259	85.8	1.60-2.94	
抗不整脈薬	選択	24	4.7	101	33.4	0.14	< 0.0001
	非選択	488	95.3	201	66.6	0.09-0.21	
ステロイド	選択	207	40.4	196	64.9	0.62	< 0.0001
	非選択	305	59.6	106	35.1	0.55-0.71	
ケタミン	選択	24	4.7	20	6.6	0.71	0.2382
	非選択	488	95.3	282	93.4	0.40-1.26	
薬物療法を行わない	選択	63	12.3	18	6.0	2.06	0.0035
	非選択	449	87.7	284	94.0	1.25-3.42	

図 11 がん性腹膜炎に伴う腹痛の治療の印象

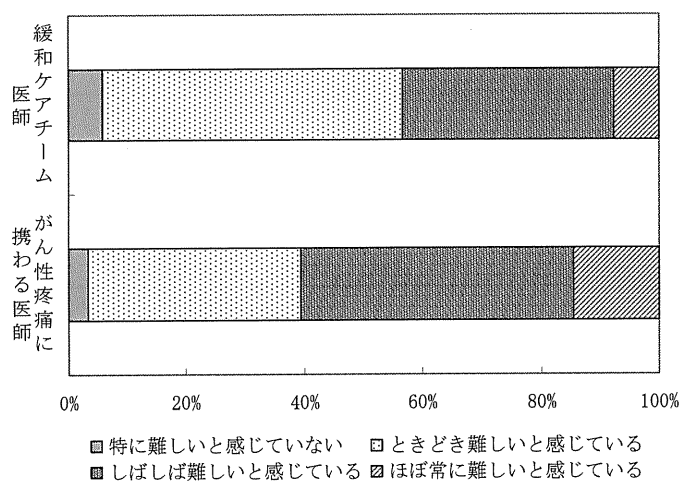


表 15 がん性腹膜炎に伴う腹痛に対するリドカインの投与とその積極性

	がん性疼痛に携わる医師		緩和ケアチーム医師		Relative Risk (95%CI)	p-value
	n	%	n	%		
リドカインの投与						
投与することがある	89	23.2	163	55.3	1.72	< 0.0001
投与することがない	295	76.8	132	44.7	1.50-1.97	
積極性						
やむを得ない場合に限って使用する	23	26.1	15	9.3		
他の方法を優先的に試み、効果が不十分な場合に使用する	33	37.5	79	49.1		
必要と判断されれば他の方法と同等な選択肢の一つとして使用する	29	33.0	59	36.6		
他の方法より優先的に使用する	3	3.4	8	5.0		

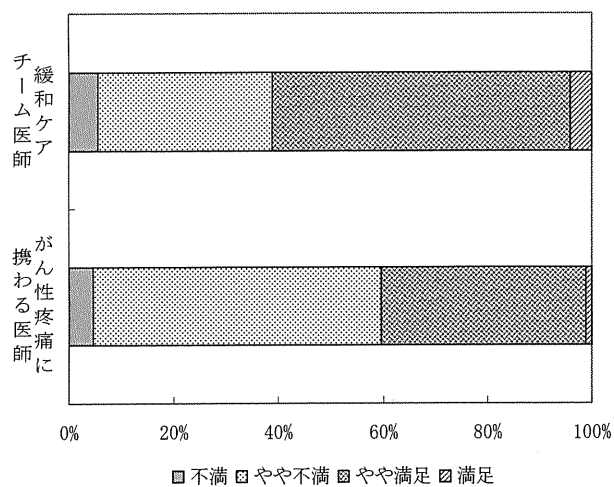
表 16 リドカインを投与する際に感じている問題点、リドカインを投与しない理由

	がん性疼痛に携わる医師		緩和ケアチーム医師		Relative Risk (95%CI)	p-value	
	n	%	n	%			
リドカインを投与する際の問題点							
副作用	選択	22	4.3	51	16.9	0.25	< 0.0001
	非選択	490	95.7	251	83.1	0.16-0.41	
皮下注での皮膚障害	選択	20	3.9	13	4.3	0.90	0.7807
	非選択	492	96.1	289	95.7	0.46-1.80	
薬用量が確立していない	選択	42	8.2	62	20.5	0.40	< 0.0001
	非選択	470	91.8	240	79.5	0.28-0.58	
適応外使用である	選択	38	7.4	75	24.8	0.30	< 0.0001
	非選択	474	92.6	227	75.2	0.21-0.43	
エビデンスがない	選択	15	2.9	36	11.9	0.25	< 0.0001
	非選択	497	97.1	266	88.1	0.14-0.44	
院内での使用制限	選択	4	0.8	2	0.7	1.18	0.8479
	非選択	508	99.2	300	99.3	0.22-6.40	
リドカインを投与しない理由							
有効性が不明	選択	134	26.2	81	26.8	0.98	0.8391
	非選択	378	73.8	221	73.2	0.77-1.24	
用法・容量がわからない	選択	164	32.0	38	12.6	2.55	< 0.0001
	非選択	348	68.0	264	87.4	1.84-3.52	
副作用	選択	30	5.9	17	5.6	1.04	0.8918
	非選択	482	94.1	285	94.4	0.58-1.85	
適応外使用である	選択	78	15.2	28	9.3	1.64	0.0146
	非選択	434	84.8	274	90.7	1.09-2.47	
エビデンスが無い	選択	48	9.4	13	4.3	2.18	0.0080
	非選択	464	90.6	289	95.7	1.20-3.95	
院内での使用制限	選択	17	3.3	3	1.0	3.34	0.0383
	非選択	495	96.7	299	99.0	0.99-11.31	

表 17 リドカイン投与の実際

	がん性疼痛に携わる医師		緩和ケアチーム医師	
	n	%	n	%
投与経路				
持続静注	54	60.7	140	84.3
持続皮下注	34	38.2	21	12.7
その他	1	1.1	5	3.0
投与量				
200mg/日未満	15	16.9	12	7.2
200～399mg/日	45	50.6	44	26.5
400mg～799mg/日	20	22.5	80	48.2
800mg/日以上	7	7.9	19	11.4
その他	0	0.0	4	2.4
体重当たりで設定している	2	2.2	7	4.2

図 12 リドカインの効果に対する満足度



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を作製し、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. がんの腹膜播種モデルマウスを用いて疼痛評価系を確立した。腸間膜、後腹膜に腫瘍が形成され、腹水も認められる移植後 4 週目のマウスにおいて、著明な疼痛反応が認められた。この疼痛反応は、急性膵炎疼痛モデルでの疼痛をほぼ抑制するモルヒネの用量では鎮痛が認められないが、低用量の Na チャネル阻害薬リドカインを併用することで改善することが明らかとなった。これらの病態でのマウス脊髄後根神経節では、Na⁺チャネルの発現増加ならびに μ オピオイド受容体が著明に減少していた。以上より、がん性腹膜播種病態下では、モルヒネが効きにくいこと、さらに Na⁺チャネルの発現増加に起因する疼痛反応が引き起こされており、リドカインが奏効する環境が醸成されている可能性が示唆された。
2. ラット乳がん脊椎骨転移痛モデルを新たに開発し、疼痛評価を行動薬理学的に検討した。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、ラットの運動量の変化、**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であった。低容量のケタミンは濃度依存的に **rearing time** 以外の症状を有意に改善したが、**NMDA** 受容体阻害薬 **MK-801** では有意な改善は認められなかった。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等、**NMDA** 受容体阻害作用以外の機序が考えられた。
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** 遂行に係る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、そのメカニズムの一端を明らかにした。

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ことにある。

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。
3. 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、マウスの鎮痛効果を明らかにできる系を確立し、両者の鎮痛効果を評価した。また、両者についてその細胞レベルでの作用を解析できる系、すなわち、オピオイド μ 受容体、ならびにカナビノイド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。

(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. 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容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、ラットの培養ミクログリア細胞を LPS で刺激しミ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。

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 μ 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. 低分化型胃がん細胞である 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る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。また、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。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。

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と考えられた。

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は、モルヒネによる鎮痛作用を増強することが動物実験により明らかとなった。またそのメカニズムとして、痛み伝達に関わっている脊髄細胞や脊髄後根細胞で、カナビノイド CB1 受容体とオピオイド μ 受容体が同時に発現しそこで二量体を形成していると考えられ、その結果受容体レベルで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

1. 胃がん細胞腹膜播種モデルマウスを用いて疼痛評価を確立した。このモデルではモルヒネは鎮痛作用を示しにくく、低用量リドカイン併用で明らかな鎮痛効果を示した。これらの病態でのマウス脊髄後根神経節では、Na⁺チャネルの発現増加ならびに μ オピオイド受容体の著明な減少が認められ、リドカインが奏効する環境が醸成されている可能性を示唆された。
2. ラット乳がん脊椎骨転移痛モデルを新たに開発し、疼痛評価を行った。動作時痛の評価は、ラットの運動量の変化、**rearing time** の持続時間と **22kHz** 超音波の発声有無が客観的指標として有用であった。低容量のケタミンは鎮痛効果を示したが、NMDA 受容体阻害薬 **MK-801** では有意な改善効果がなかった。この鎮痛メカニズムには NMDA 受容体阻害作用以外の機序が考えられた。
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、そのメカニズムの一端を証明した。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Yanagita T, Maruta T, Nemoto T, Uezono Y, Matsuo K, Satoh S, Yoshikawa N, Kanai T, Kobayashi H, Wada A. Chronic lithium treatment up-regulates cell surface Nav1.7 sodium channels via inhibition of glycogen synthase kinase-3 in adrenal chromaffin cells: enhancement of Na⁺ influx, Ca²⁺ influx and catecholamine secretion after lithium withdrawal. *Neuropharmacology*, 57 (3): 311-321, 2009.
2. Torashima Y, Uezono Y, Kanaide M, Ando Y, Enjoji A, Kanematsu T, Taniyama K. Presence of GABA_B receptors forming heterodimers with GABA_{B1} and GABA_{B2} subunits in human lower esophageal sphincter. *J Pharmacol Sci*, 111 (3): 253-259, 2009.
3. 上園保仁. がん対策基本法とがん疼痛基礎医学研究. がん患者と対症療法, 20 (2), 71-73, 2009.
4. 上園保仁. 自律神経の薬理. 自律神経, 46 (3), 139-146, 2009.
5. 上園保仁, 須藤結香. 急速に世界に広まった TRPV6 チャネル変異体のチャネル特性の解析 - TRPV6 クローン発現細胞を用いての解析-. 自律神経, 46 (3), 190-197, 2009.
6. Minami K, Sudo Y, Shiraishi S, Seo M, Uezono Y. The analysis of the effects of anesthetics and ethanol on μ -opioid receptors. *J Pharmacol Sci*, 112 (4): 424-431, 2010.
7. Miyano K, Morioka N, Sugimoto T, Shiraishi S, Uezono Y, Nakata Y. Activation of the neurokinin-1 receptor in rat spinal astrocytes induces Ca²⁺ release from IP₃-sensitive Ca²⁺ stores and extracellular Ca²⁺ influx through TRPC3. *Neurochem Int*, 57 (8): 923-934, 2010.
8. 白石成二. ストレスと副腎髄質と麻酔 *Anesthesia Century* 21, 12: 4-10, 2010.
9. 鈴木雅美, 上園保仁. 鎮痛剤による臓器障害. *ペインクリニック*, 31 (9): 1177-1183, 2010.
10. 今井哲司, 成田年, 富安志郎, 的場元弘, 木下浩之, 上園保仁, 葛巻直子, 鈴木勉. オピオイドの薬理学. *Mebio*, 27 (8): 70-78, 2010.
11. 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.
12. 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.
13. Ando Y, Hojo M, Kanaide M, Takada M, Sudo Y, Shiraishi S, Sumikawa K, Uezono Y. S(+)-ketamine suppresses desensitization of γ -aminobutyric acid type B receptor-mediated signaling by inhibition of the interaction of γ -aminobutyric acid type B receptors with G protein-coupled receptor kinase 4 or 5. *Anesthesiology*, 114 (2): 401-411, 2011.
 14. 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 β in adrenal chromaffin cells: enhancement of $^{22}\text{Na}^+$ influx, $^{45}\text{Ca}^{2+}$ influx and catecholamine secretion. *Neuropharmacology*, 61 (8): 1265-1274, 2011.
 15. Minami K, Sudo Y, Yokoyama T, Ogata J, Takeuchi M, Uezono Y. Sevoflurane inhibits the μ -opioid receptor function expressed in *Xenopus* oocytes. *Pharmacology*, 88 (3-4): 127-132, 2011.
 16. 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 β -endorphin in a loss of the coordinated balance of μ -opioid receptors trafficking processes by fentanyl. *Synapse*, 65 (9): 962-966, 2011.
 17. 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.
 18. 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.
2. 学会発表
 1. Ando Y, Uezono Y, et al. Opioid receptors show distinct internalization/recycling profiles in a cellular chronic model. American Society of Anesthesiologists, New Orleans, 2009.
 2. Kurata S, Uezono Y, et al. Remifentanil-induced internalization and impaired recycling profiles of μ -opioid receptor: implication of acute tolerance of remifentanil and possible improvement by S(+)-ketamine

- co-treatment. American Society of Anesthesiologists, New Orleans, 2009.
3. 安藤優子, 上園保仁, 他. 医療用麻薬による μ オピオイド受容体の細胞内移行と再感作の新たな知見: 疼痛下におけるオピオイド鎮痛耐性発現の解釈と誤解. 日本麻酔科学会第 56 回学術集会, 神戸, 2009.
 4. 上園保仁. 「緩和医療による生活の質向上を求めて—基礎から臨床まで 根拠を踏まえた情報提供のありかたを探る—」緩和医療による患者さんの生活向上を目指して—基礎医学者のできること. 第 19 回日本医療薬学会年会, 長崎, 2009.
 5. 鈴木雅美, 寺脇潔, 白石成二, 佐々木博己, 的場元弘, 上園保仁. シンポジウム「末梢性疾患発現における中枢神経機能制御: 中枢神経をターゲットとした新たな治療戦略」がん性悪液質の病因、臨床的意義とその治療戦略. 第 83 回日本薬理学会年会, 大阪, 2010.
 6. 鈴木勉, 今井哲司, 鈴木雅美, 的場元弘, 上園保仁, 葛巻直子, 成田年. シンポジウム「難治性疼痛治療薬へのシーズ創出研究最前線」マウスモデルにおけるがん疼痛の発症機構を基軸としたがん疼痛の薬物治療アルゴリズム: オピオイドの有用性. 第 83 回日本薬理学会年会, 大阪, 2010.
 7. 須藤結香, 北條美能留, 安藤優子, 白石成二, 寺脇潔, 鈴木雅美, 上園保仁. μ -CB1 ヘテロ二量体と、それぞれのホモ受容体とのインターナリゼーション様式の違い. 第 83 回日本薬理学会年会, 大阪, 2010.
 8. 中口加奈子, 上園保仁, 他. 神経障害性疼痛下での fentanyl 鎮痛耐性形成機構における PKC の役割. 第 83 回日本薬理学会年会, 大阪, 2010.
 9. Ando Y, Uezono Y, et al., Internalization and recycling profiles of μ - and dimerized μ - δ opioid receptors induced by remifentanyl: implication of acute tolerance of remifentanyl. International Anesthesia Research Society, Honolulu, 2010.
 10. Hojo M, Sudo Y, Ando Y, Takada Y, Uezono Y, Sumikawa, K. Cellular signaling and internalization profiles of heterodimerized cannabinoid CB1 and opioid μ receptors: implication of cannabinoid/opioid interaction at the receptor levels. International Anesthesia Research Society 2010, Honolulu, 2010.
 11. 白石成二. 疼痛治療の新しいターゲットとしての TRPV1. 社団法人日本麻酔科学会第 57 回学術集会, 福岡, 2010.
 12. 白石成二. アセトアミノフェン: 古い薬の新たな展望. 社団法人日本麻酔科学会第 57 回学術集会, 福岡, 2010.
 13. 白石成二, 南浩一郎, 上園保仁. アセトアミノフェンとプロポフォールの鎮静鎮痛効果の相互作用. 日本ペインク

- リニック学会第 44 回大会, 京都, 2010.
14. 上園保仁. シンポジウム「統合医療」緩和ケア推進から 3 年—緩和医療研究における基礎医学の役割: 経験を科学に. 第 16 回日本行動医学会学術総会, 鹿児島, 2010.
 15. Suzuki M, Matoba M, Sasaki H, Terawaki K, Shiraishi S, Uezono Y. Development of rat model for cancerous peritonitis pain. 13th World Congress on Pain, Montoreal, 2010.
 16. 須藤結香, 白石成二, 寺脇潔, 鈴木雅美, 宮野加奈子, 上園保仁. μ -CB₁ヘテロ二量体化受容体はそれぞれの受容体と異なるインターナリゼーション様式を呈する. 第 69 回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010.
 17. 宮野加奈子, 仲田義啓, 白石成二, 上園保仁. Paclitaxel は conventional PKC 活性化による TRP チャネルの開口を介して脊髄後根神経節細胞から substance P を遊離させる. 第 69 回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010.
 18. Suzuki M, Matoba M, Sasaki H, Uezono Y. The effect of systemic lidocaine on the abdominal pain due to peritonitis of cancer in rats. 第 4 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム, 東京, 2010.
 19. 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. がん性悪液質の治療を目指した薬理的アプローチによる研究 (シンポジウム). 第 84 回日本薬理学会年会, 横浜, 2011.
 20. 上園保仁, 安藤優子, 北條美能留, 高田正史, 須藤結香, 澄川耕二. ケタミンは、GABA_B受容体と GRK4, GRK5 の相互作用を抑制することにより GABA_B受容体の脱感作を抑制する. 第 84 回日本薬理学会年会, 横浜, 2011.
 21. 須藤結香, 北條美能留, 安藤優子, 西田教行, 上園保仁. GABA_B受容体はバクロフェンで刺激されても β アレスチンと会合せずインターナリゼーションも起こさない: オピオイド μ 受容体との比較解析. 第 84 回日本薬理学会年会, 横浜, 2011.
 22. 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.
 23. 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.
 24. 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.
 25. 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.
26. 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.
27. 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.
28. 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.
29. 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 μ -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.
30. 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.
- G. 知的所有権の取得状況
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 WIN55, 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、非疼痛下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 WIN55, 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カンナビノイド受容体を刺激することにより、モルヒネによる精神依存を抑制作用が関与している事も明らかになった。また、WIN55, 212-2 は慢性投与において身体依存は認められなかった。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 Δ^9 -テトラヒドロカンナビノール：THC）はマリノール®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 受容体サブタイプの存在が知ら

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®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。

B. 研究方法

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。カニューレシオン後、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。

(倫理面への配慮)

なお、本研究を遂行するにあたり、星薬科大学動物実験指針に従い、本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

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。

D. 考察

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。

カンナビノイド受容体作動薬CP-55,940の弁別刺激効果に対してドロナビノールが般化したことにより、ドロナビノールの弁別刺激効果は、カンナビノイド受容体を介して発現し、カンナビノイド受容体作動薬は類似した弁別刺激（感覚）効果を発現することが確認された。

カンナビノイド受容体作動薬であるドロナビノールならびにWIN-55,212-2の精神依存を検討したところ、いずれも精神依存は認められなかった。さらに、これらのカンナビノイド受容体作動薬により、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の形成には、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、モルヒネによる腹側被蓋野でのGABAの遊離低下が重要な役割を果たしている。本研究により、CB1受容体が腹側被蓋野のGABA神経系に存在し、モルヒネによるGABA神経系の抑制をカンナビノイド受容体作動薬が抑制し、モルヒネの精神依存を抑制していることが明らかとなった。

E. 結論

神経障害性疼痛下においてモルヒネの鎮痛効果を有意に増強し、この増強効果には鎮痛耐性が認められなかった。さらに、ドロナビノールのようなカンナビノイド受容体作動薬は、身体依存を形成することなく、モルヒネの精神依存形成を抑制した。これらのことから、ドロナビノールは、オピオイド鎮痛薬のがん疼痛コントロールに対する鎮痛補助薬として有用であると考えられ