

機関番号：13601

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2010

課題番号：19390407

研究課題名（和文）内因性大麻受容体活性化による鎮痛機構の神経科学的基盤と難治性がん疼痛治療への応用

研究課題名（英文）Mechanisms of endogenous cannabinoid receptor activation-induced analgesia and its application to intractable cancer pain

研究代表者

川股 知之（KAWAMATA TOMOYUKI）

信州大学・医学部・准教授

研究者番号：80336388

研究成果の概要（和文）：難治性がん疼痛の新たな治療法として脊髄大麻受容体（CB1）に注目しその鎮痛機序とがん疼痛治療への応用について研究を行った。CB1は脊髄興奮性介在神経の軸索終末に特異的に発現しており、神経伝達物質放出抑制によって鎮痛に作用することが示唆された。骨がん疼痛状態では脊髄 $\mu$ オピオイド受容体は発現低下するがCB1発現に変化なく、CB1活性化により骨がん疼痛が減弱することが明らかとなった。CB1は骨がん疼痛治療の新たな標的として期待される。

研究成果の概要（英文）：This study was planned to clarify the mechanism of CB1 activation-induced analgesia the analgesic effects of CB1 on bone cancer pain. Immunohistochemical experiments showed that, although  $\mu$  opioid receptor 1 expression was reduced in the superficial dorsal horn, CB1 expression was preserved. In addition, CB1 was mainly expressed in the axon terminals of spinal excitatory interneurons. Spinal CB1 activation reduced bone cancer-related pain behaviors, including behaviors related to spontaneous pain and movement-evoked pain. Spinal CB1 activation reduced bone cancer-related pain behavior. Presynaptic inhibition may contribute to the analgesic effects of spinal CB1 activation. These findings may lead to novel strategies for the treatment of bone cancer pain.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	7,900,000	2,370,000	10,270,000
2008年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
総計	14,600,000	4,380,000	18,980,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：がん疼痛，大麻，鎮痛

## 1. 研究開始当初の背景

近年のがん治療の飛躍的な発展にも拘わらず、わが国の死因の第一位はがんであり、3人に1人はがんで亡くなっている。進行がん患者に頻発する症状として全身倦怠感、食欲不振、痛み、便秘、不眠などが挙げられるが、中でも痛みはがん病変の治療を受けている患者の

30-50%に、進行がん患者では70-90%の高率で認められる。したがって、最優先で対応すべき症状である。がん疼痛治療に対してオピオイドを中心としたWHO方式がん疼痛治療法が考案され、その普及によりがん疼痛治療成績は向上したものの、最近の調査ではその完全除痛率は横ばいであり、進行がん患者の約30%

は痛みの中で死を迎えている。がん疼痛の中でも骨転移による痛みは難治性疼痛であり、オピオイドの増量を余儀なくされるが、十分な鎮痛が得られず、オピオイドの副作用に悩まされる。したがって、難治性がん疼痛の新たな治療法の開発が急務である。

## 2. 研究の目的

脊髄大麻受容体 (CB1) に注目し、

- (1) 脊髄 CB1 活性化による鎮痛作用の神経科学的基盤の解明
- (2) CB1 作動薬の難治性がん疼痛治療応用

を明らかにし、新たな治療法を開発する。

## 3. 研究の方法

骨がん疼痛モデルマウスと正常マウスを用いて次の事項を検討した。

- (1) 脊髄での CB1 の発現と分布について免疫組織化学的手法を用いて解析した。
- (2) 内因性カンナビノイドによる侵害情報伝達制御とがん疼痛制御の解析についてカンナビノイド分解酵素阻害薬を用いて行動薬理的に解析した。
- (3) CB1 作動薬の鎮痛作用について行動薬理的に解析した。
- (4) CB1 作動薬のシナプス伝達に及ぼす作用について脊髄スライス標本作製し、パッチクランプ法を用いて解析した。

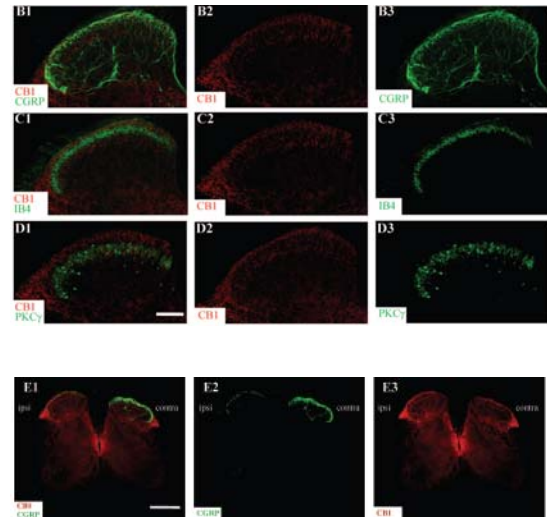
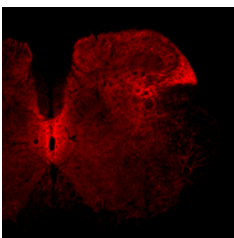
## 4. 研究成果

- (1) 正常マウスでの解析

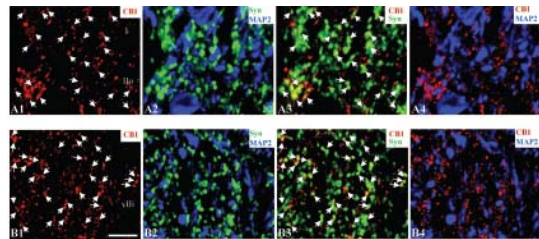
### ①脊髄での CB1 の発現と分布

免疫組織化学的解析によって野生型マウス脊髄における CB1 受容体の発現を調べた。その結果、野生型マウスにおいて脊髄表層、深層、中心管周囲に強い CB1 免疫反応を認めた。また、脊髄表層では最外層と内側に 2 層性の CB1 免疫反応を認めた (図 1)。さらに、マウス脊髄後角表層は、CGRP, IB4, PKC $\gamma$  の 3 つの神経マーカーによって、I 層 + II 層外側, II 層内背側と II 層内腹側に区別される。それら神経マーカーと CB1 の多重染色を行った結果、CB1 は脊髄後角表層において、I 層と II 層外側と II 層内腹側に分布し、II 層内側の背側には分布が少ないことが明らかとなった (図 2)。

また、神経根切断によって脊髄表層での CB1 免疫陽性が変化しなかったことから、脊髄表層での CB1 は末梢神経終末ではなく、脊髄神経に発現していることが示唆された。

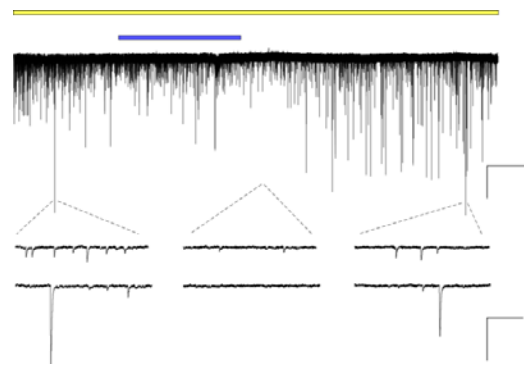


次に脊髄後角表層における CB1 の局在について調べた。多くの CB1 は、シナプス前終末のマーカーである synaptophysin と共存したが、シナプス後終末のマーカーである MAP2 との共存はほとんど認められず、CB1 は主にシナプス前終末に発現していることが明らかとなった (図 4)。



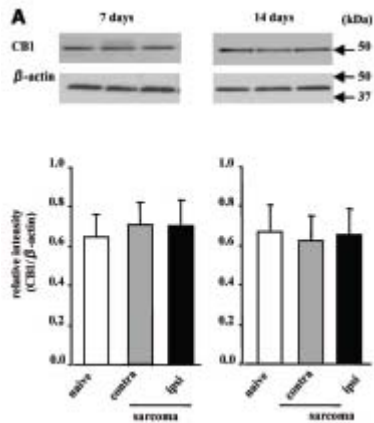
### ②脊髄スライスによる CB1 活性化のシナプス伝達に及ぼす作用

後根を付した正常マウスのスライス標本作製し、後根刺激による脊髄シナプス伝達に及ぼす CB1 作動薬 ACEA の効果を検討した。CB1 活性化により C 線維誘起 EPSC の頻度が減少することが明らかとなった。CB1 はシナプス前終末に局在することから、CB1 活性化によりグルタミン酸放出が抑制されることが明らかとなった (図 5)。



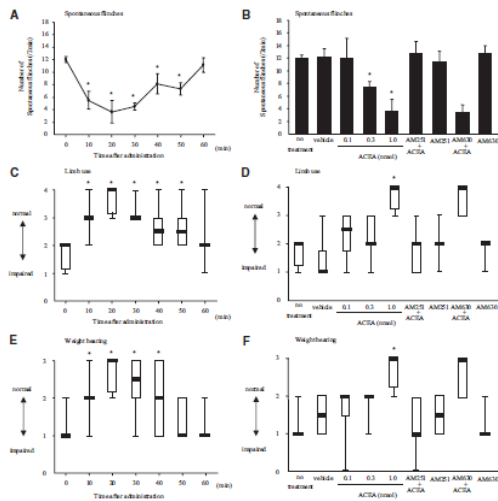
(2) 骨がん疼痛モデルマウスでの解析

①骨がん疼痛モデルマウスでの脊髄 CB1 発現  
骨がん疼痛モデルマウスの患側脊髄 CB1 分布は健側脊髄および野生型マウス脊髄とくらべ変化はなかった。また、Western blot による患側脊髄 CB1 タンパク発現量も健側脊髄および野生型マウス脊髄とくらべ有意な差はなかった (図 5)。



②骨がん疼痛に対する脊髄 CB1 活性化の鎮痛効果

CB1 作動薬 ACEA のくも膜下投与(0.1, 0.3, 1.0 nmol/2μL)は、溶媒投与した群と比較して、用量依存性に有意に疼痛関連行動を改善させた (P<0.05)。また、ACEA の効果は CB1 拮抗薬である AM251 の同時投与により完全に消失した (図 6)。



③脊髄内因性カナビノイド系の促進の鎮痛効果

次に、内因性カナビノイドの分解酵素阻害薬の鎮痛効果について検討したが、鎮痛効果は認められなかった。

(3) 結果のまとめ

①正常マウス脊髄の解析では CB1 は脊髄介在神経軸索終末に発現しており、電気生理学的解析から興奮性神経伝達物質の放出を抑制する。したがって、CB1 活性化による鎮痛作用機序として興奮性脊髄介在神経に対するシナプス前抑制が示唆された。

②骨がん疼痛状態でも CB1 の脊髄での発現分布は変わらない。CB1 作動薬による脊髄 CB1 活性化により骨がん疼痛の減弱が得られる。しかしながら、内因性カナビノイド分解酵素阻害薬により鎮痛効果が認められないことから脊髄内因性カナビノイド系は骨がん疼痛状態では tonic に活性化されていないことが明らかとなった。

研究代表者のこれまでの研究で、骨がん状態では脊髄 mu オピオイド受容体発現が低下しモルヒネの鎮痛効果が減弱することを明らかにした。一方、本研究により脊髄 CB1 は骨がん状態でも発現は変化しないことから脊髄 CB1 は骨がん疼痛治療の新たな標的となることが示された。

今後、脊髄 CB1 活性化の副作用について検討し、臨床応用を目指して研究を継続する予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

1. Kiya T, Kawamata T, Namiki A, Yamakage M: Role of satellite cell-derived L-serine in the dorsal root ganglion in paclitaxel-induced painful peripheral neuropathy. *Neuroscience* 2011;174:190-199 【査読有】
2. Kawamata T, Niiyama Y, Yamamoto J, Furuse S: Reduction of bone cancer pain by CB1 activation and TRPV1 inhibition. *J Anesth* 2010;24:328-332. 【査読有】
3. Yanagisawa Y, Furue H, Kawamata T, Uta D, Yamamoto J, Furuse S, Katafuchi T, Imoto K, Iwamoto Y, Yoshimura M: Bone cancer induces a unique central sensitization through synaptic changes in a wide area of the spinal cord. *Mol Pain* 2010; 6: 38 【査読有】

4. Liang J, Kawamata T, Ji W: Molecular signaling of pruritus induced by endothelin-1 in mice. *Exp Biol Med* 2010; 235: 1300-5 【査読有】
  5. Narimatsu E, Niiya T, Kawamata T, Kawamata M, Yamakage M: Effects of atropine and pralidoxime on neuronal actions of paraoxon in rat hippocampal slices. *Neurosci Res* 2010; 68: 276-84 【査読有】
  6. Kawamata T, Wenjin J, Yamamoto J, Niiyama Y, Furuse S, Omote K, Namiki A. Involvement of TRPV1 in endothelin-1-induced pain-like behavior. *Neuroreport* 2009; 20: 233-237. 【査読有】
  7. Niiyama Y, Kawamata T, Yamamoto J, Furuse S, Namiki A. SB366791, a TRPV1 antagonist, potentiates analgesic effects of systemic morphine in a murine model of bone cancer pain. *Brit J Anaesth* 2009; 102: 251-258. 【査読有】
  8. Furuse S, Kawamata T, Yamamoto J, Niiyama Y, Omote K, Watanabe M, Namiki A. Reduction of bone cancer pain by activation of spinal cannabinoid receptor 1 and its expression in the superficial dorsal horn of the spinal cord in a murine model of bone cancer pain. *Anesthesiology* 2009; 111:173-186 【査読有】
  9. Yamamoto J, Kawamata T, Niiyama Y, Omote K, Namiki A. Down-regulation of mu opioid receptor expression within distinct subpopulations of dorsal root ganglion neurons in a murine model of bone cancer pain. *Neuroscience* 2008;151: 843-53. 【査読有】
  10. Kawamata T, Ji W, Yamamoto J, Niiyama Y, Furuse S, Namiki A. Contribution of transient receptor potential vanilloid subfamily 1 to endothelin-1-induced thermal hyperalgesia. *Neuroscience* 2008;154:1067-1076. 【査読有】
  11. Kikuchi S, Ninomiya T, Kawamata T, Tatsumi H. Expression of ASIC2 in ciliated cells and stereociliated cells. *Cell Tissue Res* 2008;333:217-24 【査読有】
  12. Niiyama Y, Kawamata T, Yamamoto J, Omote K, Namiki A. Bone cancer increases transient receptor potential vanilloid subfamily 1 expression within distinct subpopulations of dorsal root ganglion neurons. *Neuroscience* 2007 ;148 :560-72. 【査読有】
- 〔学会発表〕（計 13 件）
1. Kawamata T, Ide S, Shimizu F, Fuseya S, Kawamata M: Gq-Coupled Receptors Sensitize TRPV1 through PLC $\beta$ 3 Activation in Peripheral Nociceptive Neurons. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists, San Diego, USA, 2010.10.16-20
  2. Kawamata T, Mochizuki N, Furuse S, Tanaka H, Kawamata M: Analgesic Tolerance by Repeated Activation of Spinal Cannabinoid Receptor 1 in Bone Cancer Pain. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists, San Diego, USA, 2010.10.16-20
  3. Kawamata T, Fuseya S, Furuse S, Yamamoto K, Kawamata M: Spinal NMDA

- Receptor Is Involved in Bone Cancer-Induced Ongoing Pain but Not Movement-Evoked Pain. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists, San Diego, USA, 2010. 10.16-20
4. Yanagisawa Y, Furue H, Kawamata T, Uta D, Iwamoto Y, Imoto K, Yoshimura M. Enhancement of excitatory synaptic transmission in the substantia gelatinosa of the spinal cord in a mouse model of bone cancer pain. The 39th Annual Meeting of the Society for Neuroscience. 2009. 10.17-21 Chicago, USA
  5. Furuse S, Kawamata T, Niiyama Y, Yamamoto J, Kiya T, Namiki A. Effects of activation of spinal cannabinoid system on bone cancer pain. The 38th Annual Meeting of the Society for Neuroscience. 2008. 11.15-19 Washington D.C., USA
  6. Kiya T, Ninomiya T, Kawamata T, Furuse S, Namiki A. Change of TRPM8 expression in a rat model of paclitaxel-induced peripheral neuropathy. The 38th Annual Meeting of the Society for Neuroscience. 2008. 11.15-19 Washington D.C., USA
  7. Niiyama Y, Kawamata T, Niiyama Y, Furuse S, Namiki A. Analgesic effects of a novel TRPV1 antagonist and its interaction with morphine on bone cancer pain. 12<sup>th</sup> World Congress of Pain. 2008. 8.17-22 Glasgow, UK.
  8. Kawamata T, Furuse S, Yamamoto J, Namiki A. Expression of phospholipase C  $\beta$  3 and  $\beta$  4 in the spinal cord. 12<sup>th</sup> World Congress of Pain. 2008. 8.17-22 Glasgow, UK.
  9. Yanagisawa Y, Furue H, Kawamata T, Namiki A, Iwamoto Y and Yoshimura M. The behavioral and electrophysiological analysis of spinal nociceptive transmission in a murine model of bone cancer pain. The 3rd Asian Pain Symposium. 2008. 7.18-19 Fukuoka, Japan
  10. Yamamoto J, Kawamata T, Niiyama Y, Furuse S, Namiki A. Downregulation of mu opioid receptor and decreased analgesic effect of morphine on bone cancer pain. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists. 2007
  11. Niiyama Y, Kawamata T, Furuse S, Yamamoto J, Namiki A. Analgesic effects of a novel TRPV1 antagonist and its interaction with morphine on bone cancer pain. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists. 2007
  12. Furuse S, Kawamata T, Watanabe M, Niiyama Y, Yamamoto J, Namiki A. Activation of spinal CB1 receptor reduces bone cancer pain. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists. 2007
  13. Kawamata T, Watanabe M, Furuse S, Niiyama Y, Yamamoto J, Namiki A. Analgesic effect of spinal CB1 activation on bone cancer pain and analysis of spinal CB1 expression. Society for Neuroscience 37th Annual meeting Nov 3-7 San Diego USA 2007

〔図書〕(計13件)

1. 川股知之: 抗不整脈薬. For Professional Anesthesiologists 癌性疼痛. 花岡一雄編. 東京, 克誠堂出版, 2010, pp.174-177.
2. 高橋稔之, 川股知之: オピオイドローテーションとは. がん看護別冊 今日からできる緩和ケア. 小山富美子, 山下めぐみ, 服部政治編. 東京, 南江堂, 2010, pp170-173.
3. 川股知之: がん性疼痛. ペインクリニック別冊 がん疼痛管理に必要な知識. 小川節郎編. 東京, 真興交易(株)医書出版部, 東京, 2010, pps14-s25
4. 川股知之: 8節 脊髄腔内i. t. PGF2 投与モデル. 慢性疼痛治療における有効な薬剤選定と治療薬開発のパラダイム. 東京, 技術情報協会, 2010.
5. 川股知之: 9節 腰部脊柱管狭窄モデル. 慢性疼痛治療における有効な薬剤選定と治療薬開発のパラダイム. 東京, 技術情報協会, 2010.
6. 川股知之: 第1部 術前. IX章 中枢・末梢神経系. 非ステロイド性抗炎症薬を長期に内服している. 麻酔科トラブルシューティングA to Z. 高崎真弓, 河本昌志, 川真田樹人, 岡本浩嗣編. 東京, 文光堂, 2010, pp264-265.
7. 川股知之: 第1部 術前. IX章 中枢・末梢神経系. 長期にopioidを内服している. 麻酔科トラブルシューティングA to Z. 高崎真弓, 河本昌志, 川真田樹人, 岡本浩嗣編. 東京, 文光堂, 2010, pp266-267.
8. 川股知之. 抗うつ薬. 日常臨床に役立つ整形外科領域の痛みの知識. 山下敏彦編. 金原出版株式会社, 東京. p533-541. 2009.
9. 川股知之, 表 圭一, 並木昭義. 慢性疼

痛動物モデルの作り方. 神経障害性疼痛の基礎と臨床I. S73-S79, 2009

10. 川股知之. I. 疼痛コントロールに用いられる薬. 3. 鎮痛補助薬. すぐに役立つ がん患者の症状コントロールに用いられる薬の使い方と注意点. 並木昭義監. 川股知之編. 東京, 真興交易(株)医書出版部. 2008. p40-49.
11. 川股知之. I. オピオイド製剤の解説3. 硫酸モルヒネ細粒(モルペス®細粒). オピオイド研究と臨床応用の課題. 並木昭義編. 東京, 真興交易(株)医書出版部. 2008; 29: S550-S553.
12. 山本 純, 川股知之, 新山幸俊, 表 圭一, 並木昭義. 骨がん疼痛モデルにおけるMOR1発現とモルヒネ鎮痛効果. オピオイド研究と臨床応用の課題. 並木昭義編. 東京, 真興交易(株)医書出版部. 2008; 29: S339-S348
13. 川股知之. 癌疼痛治療のポイント. ペインクリニックのための痛み診療のコツと落とし穴. 宮崎東洋 編. 東京, 中山書店. 2007. p262-264.

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

川股 知之 (KAWAMATA TOMOYUKI)  
信州大学・医学部・准教授  
研究者番号: 80336388

##### (2) 研究分担者

渡辺 雅彦 (WATANABE MASAHIKO)  
北海道大学・医学研究科・教授  
研究者番号: 70210945

成松英智 (NARIMATSU EICHI)  
札幌医科大学・医学部・准教授  
研究者番号: 70295343