

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 10 日現在

機関番号：82606  
研究種目：若手研究(B)  
研究期間：2011～2012年  
課題番号：23790654  
研究課題名（和文）  
モルヒネの効かない癌疼痛進展に対するケモカインの関与：腹膜播種モデルを用いて  
研究課題名（英文）  
Involvement of chemokines in abdominal pain induced by peritoneal carcinomatosis  
研究代表者  
鈴木 雅美（SUZUKI MASAMI）  
独立行政法人 国立がん研究センター・研究所・研究員  
研究者番号：80434182

## 研究成果の概要（和文）：

本研究では、臨床像に類似した癌性腹膜炎疼痛モデルを世界で初めて確立した。癌の腹膜播種に伴う腹痛には、疼痛関連神経ペプチドである substance P の発現増加が関与し、このような痛みに対して substance P 受容体拮抗薬が有用である可能性を明らかにした。一方、これらの病態下では、各種ケモカインリガンドならびに受容体の発現に大きな変化は認められなかった。さらに、腹膜播種病態下では、モルヒネの作用分子である  $\mu$ -オピオイド受容体が減少していることを明らかにし、モルヒネ抵抗性の痛みのメカニズムを立証した。

## 研究成果の概要（英文）：

In the present study, I developed a novel mouse model for abdominal pain due to cancerous peritonitis. Mice with peritoneal carcinomatosis exhibit hypersensitivity to mechanical stimulation and visceral pain-like behavior. In the current model, I observed a dramatic increase in the expression of substance P, but not chemokines, in the dorsal root ganglia (DRG) of mice with peritoneal dissemination, suggesting that the up-regulation of substance P may be responsible for the abdominal pain due to peritoneal carcinomatosis. Another key finding in the present study was that peritoneal dissemination decreased the expression of  $\mu$ -opioid receptor (MOR) in the DRG. In relation to the down-regulation of MOR, the effect of morphine was less in tumor-bearing mice than that in inflammatory pain model mice. This newly developed model may be important for studying the pathogenesis of abdominal pain due to cancerous peritonitis.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・疼痛学

キーワード：疼痛, 腹膜播種, モルヒネ, ケモカイン, オピオイド受容体, 脊髄後根神経節

## 1. 研究開始当初の背景

がん疼痛は体性痛、内臓痛、神経障害性疼痛に分類される。このうち神経障害性疼痛は、腫瘍の脊髄や神経への圧迫・浸潤により生じる痛みであり、モルヒネの効きにくい痛みとされている。進行がん患者の約 10-20% にモルヒネ抵抗性の難治性疼痛が出現するが、この疼痛治療法は未だ確立されていない。最近の臨床知見において、癌性腹膜炎による腹痛はモルヒネの効きにくい痛みであることが知られてきた。これは、腹膜内の痛みを受容する神経線維が腫瘍により圧迫/浸潤されることに起因していると考えられるが、その詳細なメカニズムは明らかではない。一方、近年、ケモカインシグナルは神経障害性疼痛の発現に関与する可能性が示唆されている。またケモカインは炎症反応のみならず、癌の浸潤・転移を促進することが報告されている。したがって、癌細胞と神経細胞が共通して有するケモカインシグナルが、モルヒネの効かない難治性疼痛の発現に関与している可能性が示唆されるが、その関与についてはほとんど明らかにされていない。

## 2. 研究の目的

本研究では、臨床像に類似した癌性腹膜炎疼痛モデルを確立し、モルヒネの効きにくい痛みの新たな鎮痛治療法開発を目的として、癌の腹膜播種による痛みの病態生理、特にケモカインシグナルに着目して解析を行った。

## 3. 研究の方法

癌性腹膜炎モデルマウスは、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,  $1 \times 10^6$  cell）を

C.B.17/Icr-scid マウスに腹腔内移植することにより作製した。癌性腹膜炎による腹痛は、刺激に対する逃避行動ならびにうずくまり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。

## 4. 研究成果

低分化型胃癌の腹膜播種モデルを作製し、経時的な疼痛評価を行ったところ、少量の腹水が貯留する移植後 4 週目において、顕著な疼痛行動が認められた。疼痛行動が認められたマウスの脊髄凍結切片を作製し、神経の興奮マーカーである c-fos の発現変化を免疫組織染色により解析したところ、癌移植群では、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。次に疼痛行動が認められたマウスの脊髄後根神経節を摘出し、各種ケモカインリガンドならびに受容体の発現について解析したところ、いずれも対照群と比較し大きな変化は認められなかった。これらのことから、中枢神経レベルでは、腹膜播種に伴う痛みに対してケモカインシグナルは関与していない可能性が考えられる。次にモルヒネの作用分子である  $\mu$ -opioid receptor (MOR) 発現量の変化を解析したところ、癌移植群において有意な減少が認められた。さらにこれらの痛みに対するモルヒネの効果を解析したところ、高用量のモルヒネを投与しても部分的な鎮痛効果しか認められなかった。一般に MOR は、substance P な

どの一次求心性神経末端に局在し、痛み物質の遊離を抑制する。そこで、脊髄後根神経節の substance P 陽性細胞数をカウントしたところ、癌移植群では、substance P 陽性細胞数が増加していた。さらに substance P と MOR の共局在を解析したところ、substance P 陽性細胞に発現する MOR が減少していた。これらのマウスに substance P 受容体拮抗薬を髄腔内投与したところ、疼痛行動は有意に抑制された。以上のことから、がんの腹膜播種に伴う腹痛には、substance P の発現増加が関与していることが考えられ、このような痛みには、substance P 受容体拮抗薬が有効である可能性が示唆された。また、腹膜播種病態下ではモルヒネの受容体の発現が著しく減少していることから、モルヒネを増量してもさらなる鎮痛効果が認められないことが明らかとなった。

#### 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 7 件)

(1) Suzuki M, Narita M, Hasegawa M, Furuta S, Kawamata T, Ashikawa M, Miyano K, Yanagihara K, Chiwaki F, Ochiya T, Suzuki T, Matoba M, Sasaki H, Uezono Y: Sensation of abdominal pain induced by peritoneal carcinomatosis is accompanied by changes in the expression of substance P and  $\mu$ -opioid receptors in the spinal cord of mice. *Anesthesiology*, 査読有, 2012, 117:847-856, PMID 22913923.

(2) 鈴木雅美, 成田 年, 川股知之, 的場元弘, 上園保仁: がん性腹膜炎による難治性疼痛の病態解析. *ペインクリニック*, 査読

無, 2012, 34:255-262.

(3) Suzuki M, Narita M, Ashikawa M, Furuta S, Matoba M, Sasaki H, Yanagihara K, Terawaki K, Suzuki T, Uezono Y: Changes in the melancortin receptors in the hypothalamus of a rat model of cancer cachexia. *Synapse*, 査読有, 2012, 66:747-751, PMID 22460823.

[学会発表] (計 21 件)

(1) 鈴木雅美, Tumor-induced nerve damage on the parietal peritoneum in a pain model of peritoneal carcinomatosis. 第 86 回日本薬理学会年会, 2013 年 3 月 21-23 日, 福岡/博多.

(2) Suzuki M, Sensation of abdominal pain induced by peritoneal carcinomatosis is accompanied by change in the expression of substance P in the spinal cord of mice. 第 6 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム, 2012 年 11 月 23-24 日, 京都.

(3) 鈴木雅美, がんの腹膜播種病態下におけるモルヒネ抵抗性メカニズムの解析. 第 32 回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム, 2012 年 9 月 15-16 日, 東京.

(4) 鈴木雅美, がんによる神経障害に起因する難治性疼痛発現メカニズムの解析. 第 5 回日本緩和医療薬学会年会, 2011 年 9 月 24-25 日, 千葉/幕張.

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 抗がん剤の作用を増強する医薬組成物、がん治療用キット、診断薬、及びスクリーニ

ング方法

発明者：佐々木博己，上園保仁，鈴木雅美，  
長瀬 博，鈴木 勉，成田 年

権利者：独立行政法人国立がん研究センター

種類：特許

番号：PCT/JP2013/53522

出願年月日：2013年2月14日

国内外の別：外国

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

鈴木 雅美 (SUZUKI MASAMI)

独立行政法人国立がん研究センター・研究  
所・研究員

研究者番号：80434182