

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 11 日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22791423

研究課題名（和文） オピオイドの長期投与と血管新生

研究課題名（英文） Chronic morphine treatment and angiogenesis

研究代表者

石田 高志（ISHIDA TAKASHI）

信州大学・医学部附属病院・特任研究員

研究者番号：60531952

研究成果の概要（和文）：C57BL/6 マウスにおいて低容量(0.1-3 mg/kg/day)のモルヒネ持続投与は Lewis Lung Carcinoma 細胞の増大を抑制したが，高容量(10 mg/kg/day)ではコントロール群と同等であった．以上よりモルヒネが悪性腫瘍の進展に及ぼす影響は 2 層性である可能性が示唆された．

研究成果の概要（英文）：Chronic treatment of morphine at low doses (0.1-3 mg/kg/day) attenuated the growth of Lewis lung carcinoma (LLC) in C57BL/6 mice. However, higher dose (10mg/kg/day) of morphine does not affect LLC growth. These results suggest that effects of chronic morphine treatment on growth of LLC may be biphasic alteration.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

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：オピオイド，腫瘍増大，血管新生，CGRP，アドレノメデュリン

1. 研究開始当初の背景

(1) オピオイドの全身投与は癌性疼痛のみならず，非癌性疼痛にも，広く使用されるようになった．しかし，オピオイド長期使用は，オピオイド耐性や，痛覚過敏を引き起こすことが知られている（Angst & Clark, *Anesthesiology*, 2006）．さらに最近，オピオイドを長期使用すると，創治癒を遷延させた

り，悪性腫瘍の増大をきたす，との報告がなされている（Rook et al., *Biochem Pharmacol*, 2007; Lam et al., *Anesth Analg*, 2008; Rock et al., *Anesthesiology*, 2008; Gupa et al., *Can Res*, 200）．

(2) オピオイドによる創治癒の遷延は，創部で血管新生が抑制されるために起こるとされる（Lam et al., *Anesth Analg*, 2008;）

Rock et al., *Anesthesiology*, 2008). しかし、オピオイドの長期投与による悪性腫瘍の増大は、血管新生の促進に起因するとされる (Gupa et al., *Can Res*, 2002). また、モルヒネを長期間、クモ膜下投与すると、カテーテル先端に肉芽腫が起きるが、こうした肉芽腫の発生も、血管新生の亢進が関与している可能性がある (De Filippis et al., *Br J Pharmacol*, 2008).

(3) このように、オピオイドの長期投与に際し、血管新生においては、相反する作用が出現するが、このことと、モルヒネの長期投与で、モルヒネの作用が鎮痛効果から痛覚過敏へと変容することとの間には、関連性があるのだろうか。

(4) オピオイドは、脊髄において、一次知覚神経からのカルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) やサブスタンス (SP) の放出を抑制し、鎮痛効果を発現するとされる (Julias & Basbaum, *Nature*, 2001). 同時に、オピオイドは末梢レベルにも作用し、一次知覚神経から末梢に放出される CGRP や SP 量を抑制するとされる. 一方、長期のオピオイド投与では、後根神経節 (dorsal root ganglia: DRG) には CGRP や SP 発現細胞が増加し、脊髄や末梢への CGRP や SP 放出量が増加し、これが痛覚過敏の原因と考えられている.

(5) 一方、CGRP は強力な血管新生の促進因子である. 末梢における CGRP の増加は、CGRP 受容体を介してケラチノサイトの cAMP の増加、PKA の活性化、extracellular signal-regulated kinase (ERK) をリン酸化させ、血管内皮増殖因子 (Vascular Endothelial Growth Factor: VEGF) を増加させる (Yu et al., *Regul Pept*, 2006).

(6) こうして、創傷急性期には、オピオイドの投与により、CGRP の末梢での放出量が低下し、血管新生が抑制されるため、創傷治癒が遅れると考えられる. 一方、オピオイドの長期投与、あるいは大量投与時には、逆に、CGRP 放出量が増加し、血管新生が促進する可能性がある.

(7) このように、オピオイドの長期投与に伴い、CGRP の放出量が増加し、それに伴い血管新生に相反する効果が生じるならば、オピオイドによる肉芽腫の出現や、悪性腫瘍の増大も、組織における CGRP の放出量に依存している可能性が考えられる.

(8) 最近、副腎で発見された強力な降圧作用を持つアデノメデュリン (AM) は、CGRP

ファミリーに属するペプチドで、CGRP と類似の構造を持ち、CGRP よりも強力な血管新生作用を有する (Ribati et al., *Peptides*, 2005). 最近、AM が後根神経節細胞で CGRP と共存しており、痛みの伝達物質でもあるとの報告がなされた (Ma et al., *PNAS*, 2004). AM の末梢投与は、CGRP より長時間の痛覚過敏を引き起こし、AM が CGRP よりも疼痛や血管新生でより重要な役割を担っている可能性が考えられている.

(9) こうして、モルヒネ長期投与時の GRP と AM の末梢や脊髄における発現量が、痛覚過敏と血管新生の共通の機序である可能性がある. こうして、オピオイド投与による悪性腫瘍の増大や、肉芽腫の出現などのメカニズムを、血管新生の立場から検討するは、オピオイド研究をさらに発展させる可能性がある.

2. 研究の目的

本研究では、オピオイドの長期投与時に、(1) 創治癒が遅延するかどうか、(2) 悪性腫瘍の増大が起こるかを、血管新生の点から検討する.

3. 研究の方法

(1) 5~7 週齢雄性 C57BL/6 マウスの右大腿後面皮下に Lewis Lung Carcinoma (LLC) を 1×10^6 個移植し、7 日後および 14 日後に magnetic resonance imaging (MRI) を用いて腫瘍体積を測定した. このモデルの背部皮下に LLC 移植と同時に浸透圧ポンプ (Alzet) を移植し、モルヒネ塩酸塩 0.1, 0.3, 1, 3, 10 mg/kg/day を持続皮下投与する群と生理食塩水 (コントロール群) を持続皮下投与する群に分け、腫瘍体積を比較した.

(2) 5 週齢雄性 C57BL/6 マウスを全身麻酔下に L1-L6 神経根を露出し、これを中枢側で 5-0 ナイロン糸を用いて結紮した後切断した. 14 日の回復期を経た後、(1) 同様に LLC 接種と MRI による腫瘍体積測定を行ない、擬似手術群と腫瘍体積を比較した.

(3) 5~7 週齢雄性カルシトニン遺伝子関連ペプチドノックアウトマウス (CGRP/KO) に (1) と同様に LLC 接種と MRI による腫瘍体積測定を行ない、C57BL/6 ワイルドタイプ (WT) 群と腫瘍体積を比較した.

(4) 5~7 週齢雄性カプサイシン受容体ノックアウトマウス (TRPV1/KO) に (1) と同様に LLC 接種と MRI による腫瘍体積測定を行ない、C57BL/6WT 群と腫瘍体積を比較した.

4. 研究成果

(1) 7 日後の測定では各群間の腫瘍体積に有意差は認められなかった. 14 日後の測定ではコントロール群に対して 0.1-3 mg/kg/day の群では有意に腫瘍体積が小さかったが, 10 mg/kg/day の群では有意差を認めなかった (Fig. 1). 本結果よりモルヒネが悪性腫瘍の進展に及ぼす影響は 2 層性である可能性が示唆された.

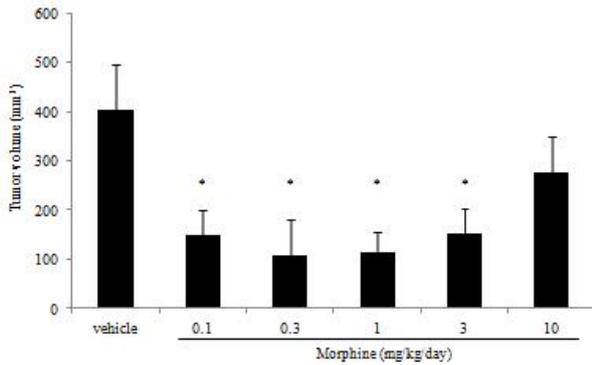


Figure 1. Effects of chronic morphine treatment on growth of Lewis lung carcinoma cells at day 14 after injection. Data were presented as mean \pm SE. * $P < 0.05$ compared to vehicle.

(2) 7 日後の測定では 2 群間の腫瘍体積に有意差は認められなかった. 14 日後の測定では擬似手術群に比べ L1-L6 神経根切断群で有意に腫瘍体積が小さかった (Fig. 2).

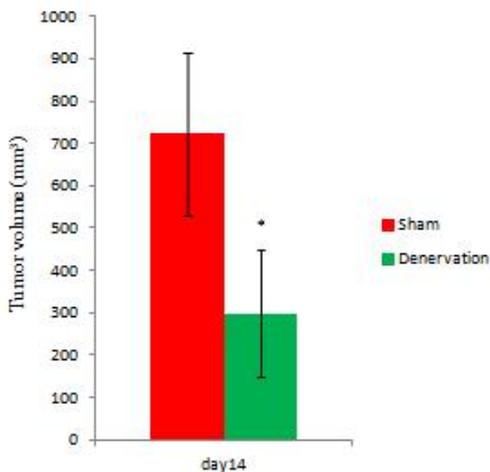


Figure 2 Effect of L1-L6 root denervation on growth of Lewis lung carcinoma cells at day 14 after injection. Data were presented as mean \pm SE. * $P < 0.05$ compared to vehicle.

(3) 7 日後の測定では 2 群間の腫瘍体積に有意差は認められなかった. 14 日後の測定では C57BL/6WT 群に比べ CGRP/KO 群において有意に腫瘍体積が小さかった (Fig. 3).

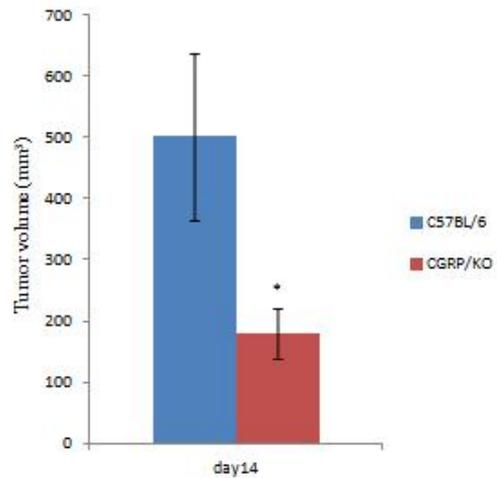


Figure 3. Growth of Lewis lung carcinoma cells in C57BL/6 mice and CGRP/KO mice at day 14 after injection. Data were presented as mean \pm SE. * $P < 0.05$ compared to vehicle.

(4) 7 日後および 14 日後の測定において C57BL/6WT 群と TRPV1/KO 群の 2 群間に腫瘍体積の有意な差は認められなかった (Fig. 4)

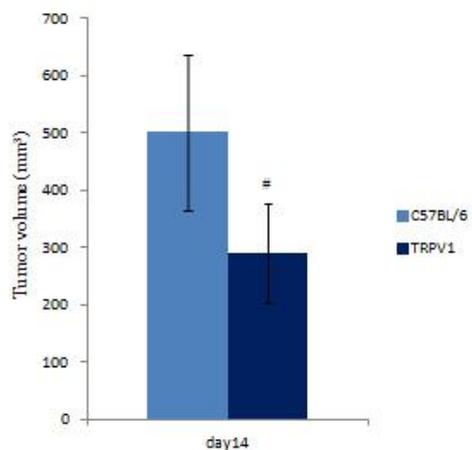


Figure 4. Growth of Lewis lung carcinoma cells in C57BL/6 mice and TRPV1/KO mice at day 14 after injection. Data were presented as mean \pm SE. # $P > 0.05$ compared to vehicle.

(5) 本研究ではモルヒネの投与量によりに腫瘍増大に二相性の変化を認め, CGRP/KO 群において腫瘍増大が有意に低下していた. このことから腫瘍増大に CGRP の関与し, モルヒネによる鎮痛は腫瘍増大を抑制することが示唆された. 今後はモルヒネ投与量と CGRP の放出量の評価を行い適切なモルヒネ投与量を決定する.

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 1 件)

- ① 田尻治, 石田高志, 川真田樹人. 産科出血に対する自己血回収装置の使用について. 臨床麻酔 査読有 2011; 35: 713-716.

[学会発表] (計 2 件)

- ① Ishida T, Tanaka S, Tanaka H, Kawamata M. Efficacy and Safety of Transversus Abdominis Plane Block with Levobupivacaine for gynecologic surgery. Anesthesiology: A1745, Oct. 15-19, 2011
- ② Ishida T, Tanaka S, Kawamata M. Plasma concentration of Levobupivacaine after Transversus Abdominis Plane Block. Anesthesiology: A283, Oct. 16-20, 2010

[図書] (計 1 件)

- ① 石田高志, 川真田樹人 **Awake Craniotomy** の麻酔. 麻酔科研修ノート. 稲田英一他編. 東京, 診断と治療社, 2010, pp. 457-459.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石田 高志 (ISHIDA TAKASHI)
信州大学・医学部附属病院・特任研究員
研究者番号: 60531952

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: