

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：11101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25861353

研究課題名(和文) 麻酔薬ケタミンのNatural Killer cell活性に与える影響

研究課題名(英文) The effect of ketamine on natural killer cell cytotoxicity

研究代表者

丹羽 英智 (Hidetomo, Niwa)

弘前大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20374845

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：全身麻酔薬であるケタミンを脳腫瘍細胞(グリオーマ)に添加し、培養するとグリオーマ細胞の増殖が抑制されることが分かった。

ケタミンは現在の医療現場では、小児から成人まで幅広く使用されている静脈麻酔薬である。本研究で用いた脳腫瘍細胞は、ラット由来のものであり、今回の研究結果をそのまま、人間に当てはめることは、時期尚早であるが、グリオーマは予後不良の疾患であり、未だに外科的切除が治療の第一選択である中、本研究結果は、手術で使用する全身麻酔薬が、癌根治に貢献できる可能性を示したと思われる。

研究成果の概要(英文)：ketamine is very familiar with us since it is commonly used in radical surgery as an anesthetic agent. Unfortunately, even basic data on the anti-tumor effects of ketamine is lacking. In the present study, we found that ketamine induced cell death due to apoptosis, which resulted in suppressing the growth of glioma cells. We know that it may be difficult to apply the results of the basic study to human cases. But, in the current clinical practice, ketamine is the only viable anesthetic option among NMDAR antagonists, and it can be used in neurosurgery. Our results suggest that ketamine is an anesthetic candidate providing potential benefit for glioma resection. Our results suggest that ketamine is an anesthetic candidate providing potential benefit for glioma resection.

研究分野：麻酔科学

キーワード：ケタミン グリオーマ NMDA受容体拮抗薬

1. 研究開始当初の背景

医療の発達に伴い、早期発見が可能になった現在、癌の原発巣の多くは、手術で完全に切除可能になりつつあるが、日本における死因の第1位は依然、癌死である。これは、原発巣を完璧に切除しても、癌は根治されず、再発、転移により、多くの人々が命を落としていることを意味している。近年、自然免疫の一つであり、腫瘍細胞を非自己として殺傷するNK細胞が、抗腫瘍免疫として注目されている。術後は、NK細胞活性を高く維持することで、癌を根治に導くことができると考えられている。これまでに、麻酔薬はNK細胞活性に重大な影響を与えることがいくつかの基礎研究で示唆されているが、ケタミンに関してはデータがほとんどない。

2. 研究の目的

本研究ではケタミンがNK細胞傷害活性にどのような影響を与えるのかに焦点を当て解析する予定であったが、測定機器の問題が発生したため、予定の実験を中止し、代わりにケタミンの腫瘍細胞への直接的作用(腫瘍細胞の増殖を抑制するかどうか)を検討することとした。

3. 研究の方法

脳腫瘍細胞(グリオーマ)を麻酔薬であるケタミン(濃度 0 - 100 μM)を添加した培養液で培養し、細胞の増殖状態を以下の手順で評価した。

細胞増殖に関する遺伝子発現の変化を網羅的に調べた(cDNA マイクロアレイアッセイ)。

増殖した細胞数を実際に数えて、細胞増殖の程度が、ケタミンの添加で変化があったか、検討した。

培養した腫瘍細胞に特殊な染色を施し、細胞死(アポトーシス)の有無を検討した。

上記の実験を、非癌細胞(対照)と共に行い、増殖に関する比較を行った。

4. 研究成果

遺伝子発現について

ケタミンは脳腫瘍細胞(グリオーマ)の細胞増殖に関連する遺伝子発現(各種転写因子、成長因子)を抑制することが示唆された(Table 1)。

Table 1

The gene expression ratio of cell growth in C6 cells with cDNA microarray analysis

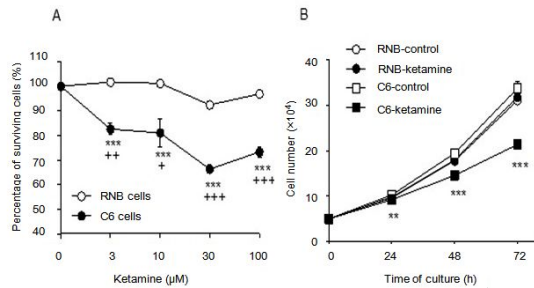
Gene name	Gene ID	Log expression ratio (N)	Regulation
Growth factors			
Bone morphogenetic protein 6	25644	-0.15 ± 0.62 (8)	
Brain derived neurotrophic factor	24225	-1.23 ± 0.50 (4)	d
Connective tissue growth factor	64032	0.10 ± 0.09 (4)	
Early B-cell factor	116543	-0.35 ± 0.72 (4)	d
(olfactory neuronal transcription factor 1)			
Early growth response 1	24330	0.08 ± 0.15 (2)	
Epidermal growth factor	25313	-1.29 ± 0.33 (2)	d
Growth arrest and DNA-damage-inducible -45 alpha	25112	-0.11 ± 0.76 (4)	
Growth factor receptor bound protein 2	81504	-0.12 ± 0.11 (4)	
Insulin-like growth factor 1	24482	0.49 ± 0.48 (2)	u
Insulin-like growth factor binding protein 1	25685	-0.49 ± 0.50 (4)	d
Insulin-like growth factor binding protein 2	25662	-0.22 ± 0.93 (4)	
Insulin-like growth factor binding protein 3	24484	-0.16 ± 0.54 (6)	
Insulin-like growth factor binding protein, acid labile subunit	79438	-0.43 ± 0.37 (2)	d
Insulin-like growth factor II (somatomedin A)	24483	0.06 ± 0.24 (2)	
Insulin-like growth factor-binding protein 5	25285	-0.29 ± 0.81 (6)	
Midkine	81517	-1.07 ± 0.30 (4)	d
Neural cell adhesion molecule	24586	-0.32 ± 1.00 (4)	d
Platelet-derived growth factor A chain	25266	-0.01 ± 0.13 (2)	
Platelet-derived growth factor-receptor alpha	25267	-0.17 ± 0.73 (4)	
Latent TGF beta binding protein 1	59107	0.32 ± 0.28 (2)	u
TGF beta inducible early growth response	81813	-0.38 ± 0.15 (2)	d
TGF beta 1 induced transcript 1	84574	-0.34 ± 0.42 (2)	d
TGF beta 3	25717	-0.79 ± 0.47 (4)	d
Vascular endothelial growth factor	83785	0.16 ± 0.06 (2)	
Vascular endothelial growth factor C	114111	0.44 ± 0.37 (2)	u
Transcriptional regulators			
Nuclear factor kappa B p105 subunit	81736	0.57 ± 0.63 (2)	u
V-myc avian myelocytomatosis viral - oncogene homolog	24577	0.37 ± 0.75 (4)	u
Wilms tumor 1	24883	-0.72 ± 1.37 (4)	d
PRKC, apoptosis, WT1, regulator	64513	-0.88 ± 0.32 (4)	d

ケタミンは、実際に脳腫瘍細胞の増殖を抑制した (Fig.1)

黒丸：腫瘍細胞の増殖グラフ

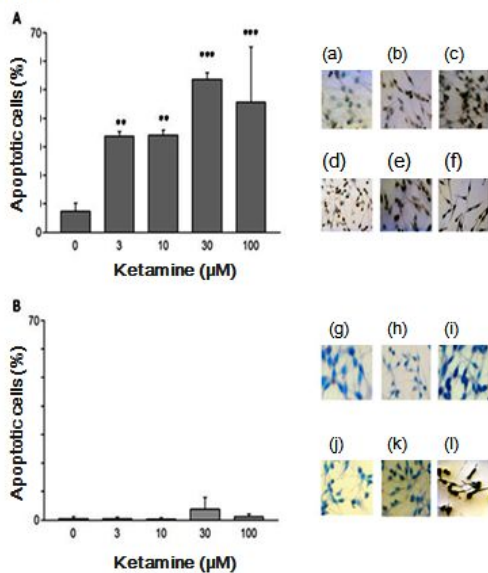
白丸：非癌細胞の増殖グラフ

Fig. 1



腫瘍細胞は、ケタミンによって細胞死(アポトーシス)が誘発されることで、増殖が抑制されることが分かった。ケタミンの濃度依存性に腫瘍細胞の細胞死の割合が増殖している。(Fig.2A)。

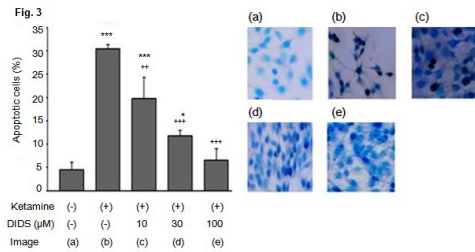
Fig. 2



ケタミンによる細胞死は、非腫瘍細胞における実験では、観察されなかった (Fig.2B)。

細胞死(アポトーシス)を抑制する薬物を添加したところ、腫瘍細胞の細胞死が

誘発されなかったことから、ケタミンによりアポトーシスが誘発されていることが証明された (Fig.3)。



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. Niwa H, Rowbotham DJ, Lambert DG, Buggy DJ. Can anesthetic techniques or drugs affect cancer recurrence in patients undergoing cancer surgery? J Anesth. 2013;27:731-41 (査読あり)

[学会発表](計2件)

1. 丹羽英智, Ketamine suppresses the proliferation of C6 glioma cells. 第57回日本麻酔科学会学術集会, 2010. 6.4, 福岡国際会議場 (福岡県、福岡市)
2. Hidetomo Niwa, Ketamine: is it a difficult drug to handle in a clinical setting? Pusan National University Hospital Medical Lecture, Pusan University Hospital (Pusan, Korea)

[図書](計1件)

1. 廣田和美編, 克誠堂出版. 麻酔科医のた

〔産業財産権〕

出願状況（計0件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

丹羽 英智 (Hidetomo Niwa)

弘前大学大学院医学研究科、助教

研究者番号：20374845