



# トラマドールの膵癌モデルにおける抗腫瘍・抗炎症効果

蔵持智也<sup>1</sup>、竹中彩乃<sup>1</sup>、梶原一絵<sup>1</sup>、大島雪乃<sup>1</sup>、佐野 誠<sup>2</sup>、鈴木孝浩<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日本大学医学部麻酔科,

<sup>2</sup>日本大学医学部医学研究企画・推進室

# COI開示

演者 ◎

(◎発表者)

事項	条件	状況	企業・団体名
1. 役員・顧問職	年間100万以上	有・無	
2. 株式	年間100万円以上の利益、当該発行済株式数の5%以上保有	有・無	
3. 特許権使用料	年間100万円以上	有・無	
4. 日当・出席料・講演料等	年間50万円以上/1企業	有・無	
5. 寄附講座	所属の有無および給与の有無	有・無	
6. 原稿料	年間50万円/1企業	有・無	
7. 研究費	年間100万円以上/1臨床研究	有・無	
8. 奨学寄付金	年間100万円以上	有・無	
9. その他1	年間5万円以上の贈答他	有・無	
10. その他2	企業からの物品・施設・役務の受領および、 <u>現あるいは前</u> 企業研究者の研究へ参画の有無。参画がある場合はその企業名。	有・無	

# 背景

- トラマドール(TRA)が抗腫瘍・抗炎症効果を示すことが報告されているが、膵癌に対する効果は未だに不明な点が多い。
- 今回われわれは膵癌の自然発症モデルを用いて、TRAの膵癌ならびに炎症細胞に対する影響を検討した。

# 膵癌マウスモデル



## ●移植モデル

腫瘍血管が豊富で間質に乏しい  
ヒト膵癌の病態と大きく異なる

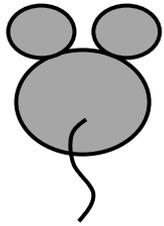
## ●自然発症モデル

腫瘍血管が少なく、間質も豊富  
自然免疫状態のモデル  
臨床に近い解析が可能

*LSL-Kras<sup>G12D/+</sup>;Trp53<sup>flox/+</sup>;Pdx-1<sup>cre/+</sup>*  
(KPPC マウス)

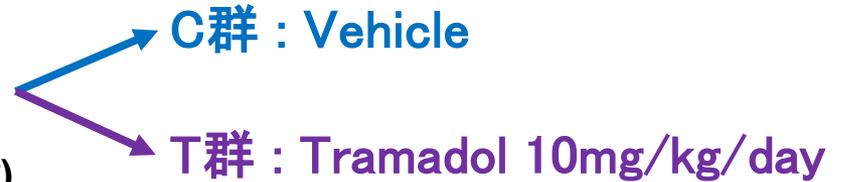
*LSL-Kras<sup>G12D/+</sup>;LSL-Trp53<sup>R172H/+</sup>;Pdx-1<sup>cre/+</sup>*  
(KPC マウス)

# 方法



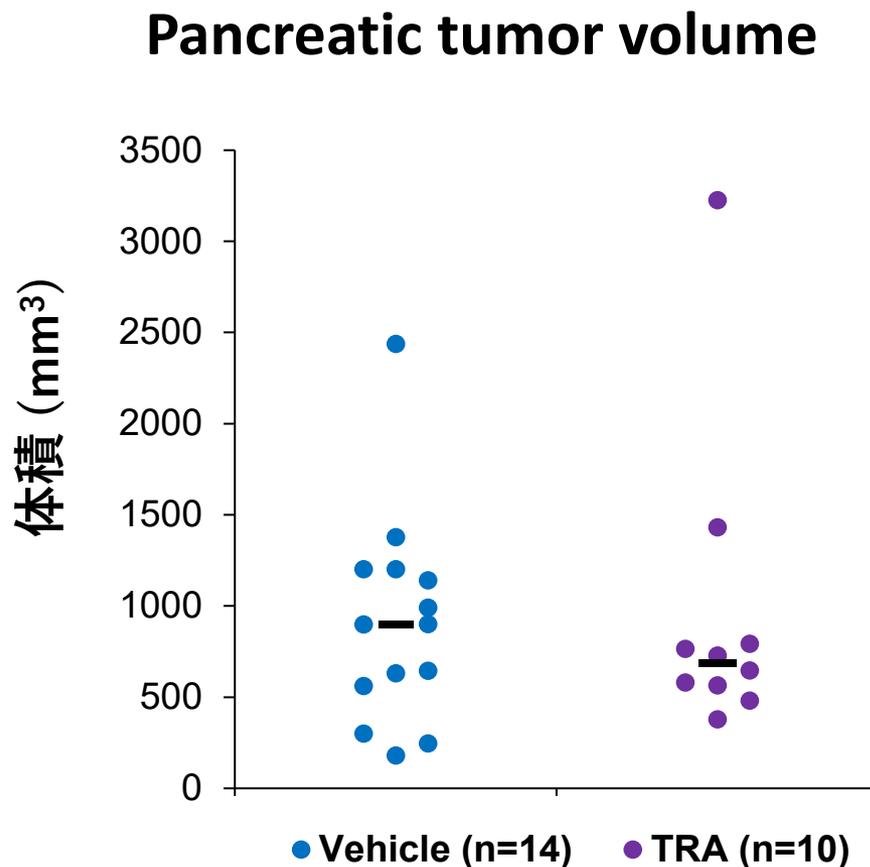
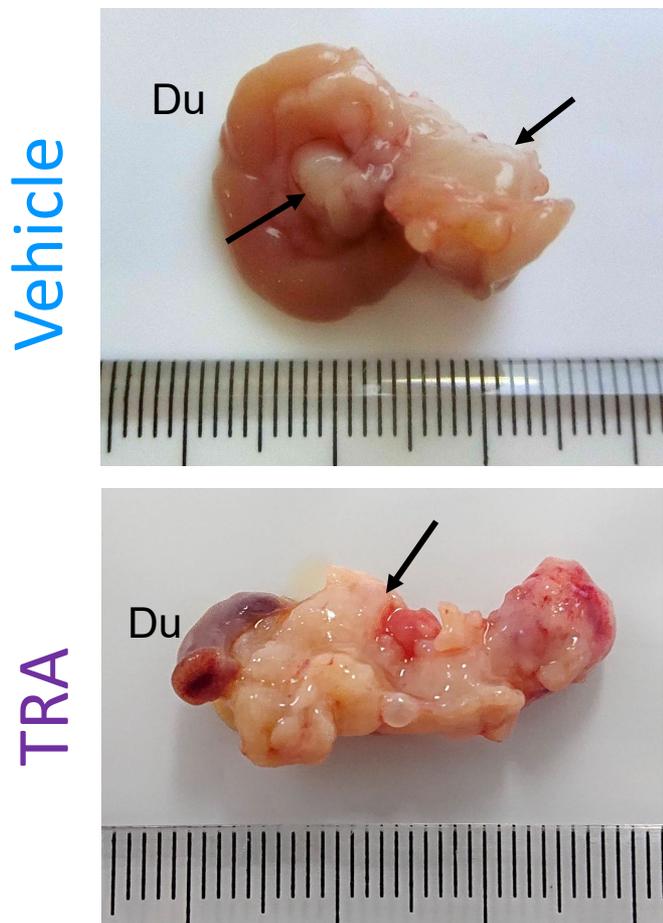
膵癌自然発症モデル(6週齢)

(*LSL-Kras<sup>G12D</sup>; Trp53<sup>flox/flox</sup>; Pdx1<sup>cre/+</sup>*)



- 膵癌マウスをTRA投与群 (T群 n=10)、非投与群 (C群 n=14)の2群に分け、T群では6週齢からTRA(10 mg/kg/日)を連日経口投与した。
- エンドポイント時に膵腫瘍をサンプリングしMann-Whitney U検定にて統計解析を行った。
- 生存曲線はKaplan Meier法により求め、ログランク検定を行った。
- 局所の炎症細胞浸潤を免疫染色にて求め、*t*検定もしくはMann-Whitney U検定にて統計解析を行った。 $p < 0.05$ を有意差ありとした。
- 膵癌細胞株に対するTRAの増殖抑制能をアラマーブルー法により決定した。

# 結果① TRA群とコントロール群の腫瘍体積は有意差なし



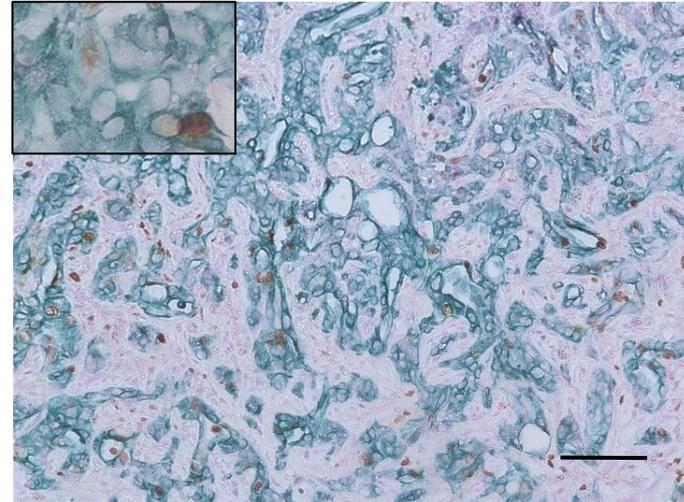
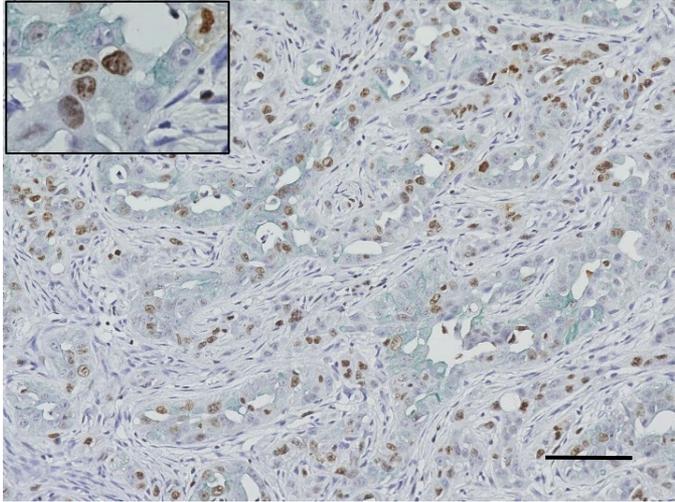
● 膵腫瘍体積: 899.0 mm<sup>3</sup> (C群) vs 686.5 mm<sup>3</sup> (T群)

# 結果② TRAは膵癌の増殖能を有意に抑制する

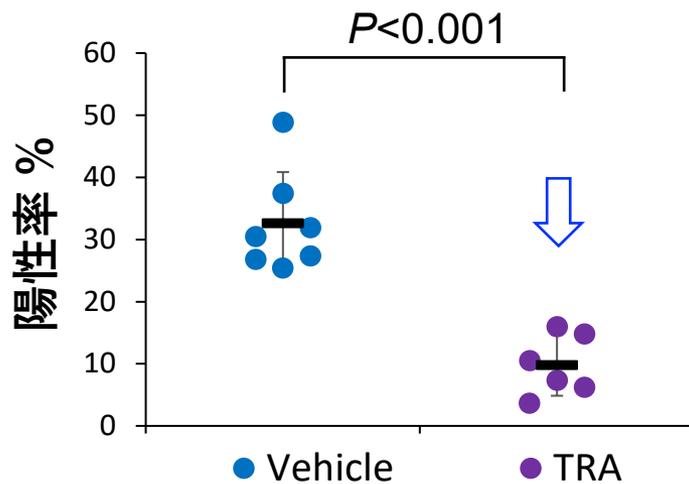
Vehicle

TRA

Ki-67/K19



Ki-67



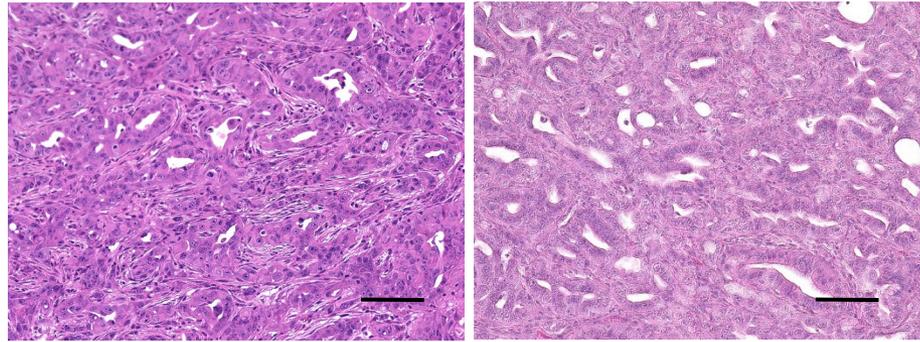
- Ki-67陽性率:  
32.6% (C群) vs 9.8% (T群)

# 結果③ TRAは $\alpha$ SMA弱陽性癌関連線維芽細胞(CAF)の増殖を有意に抑制する

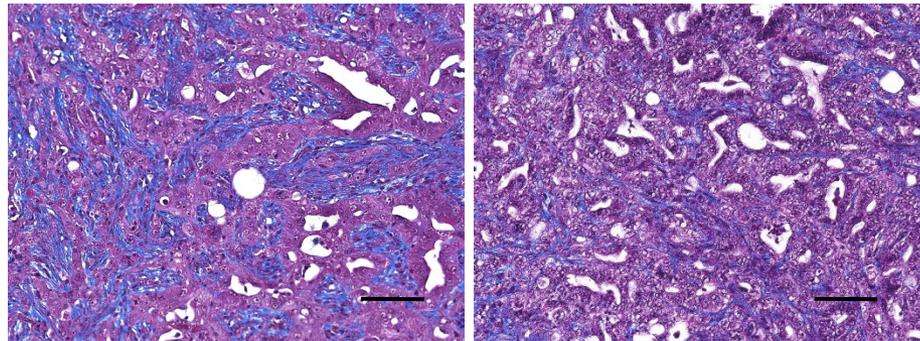
Vehicle

TRA

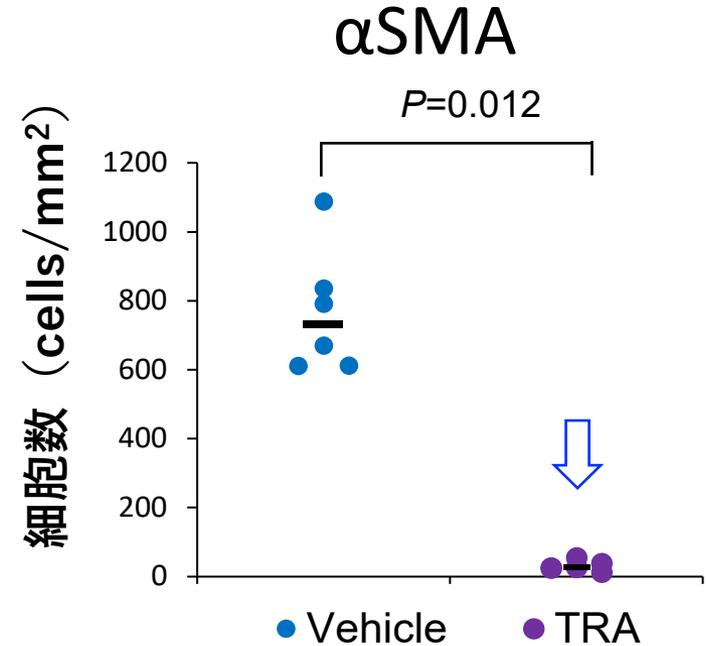
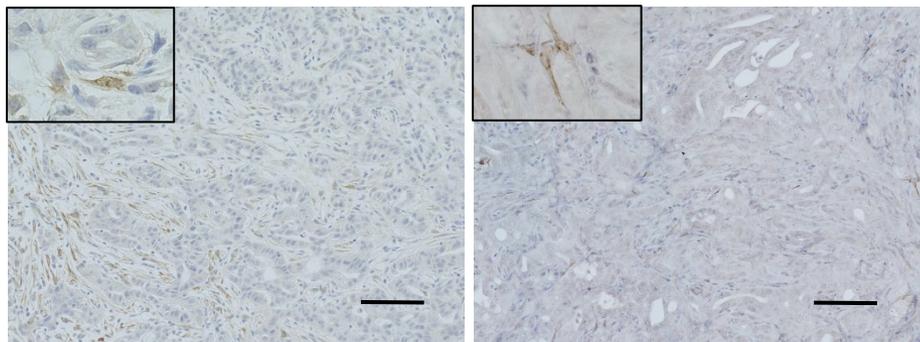
HE



MT



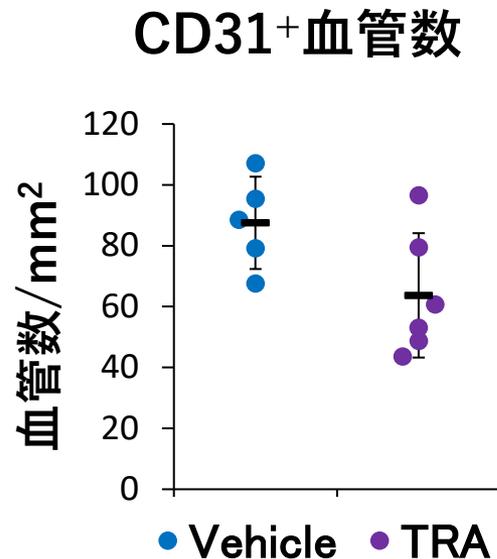
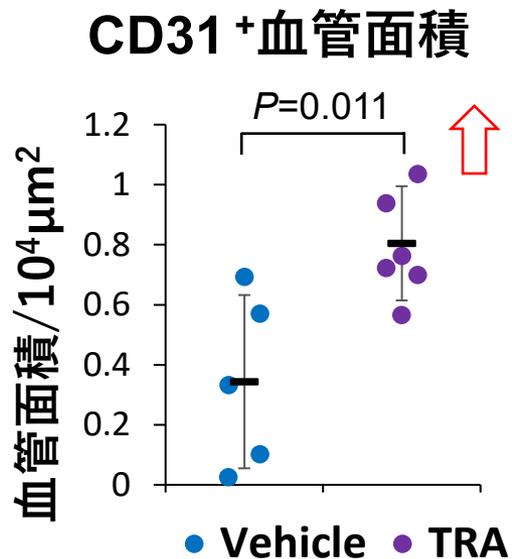
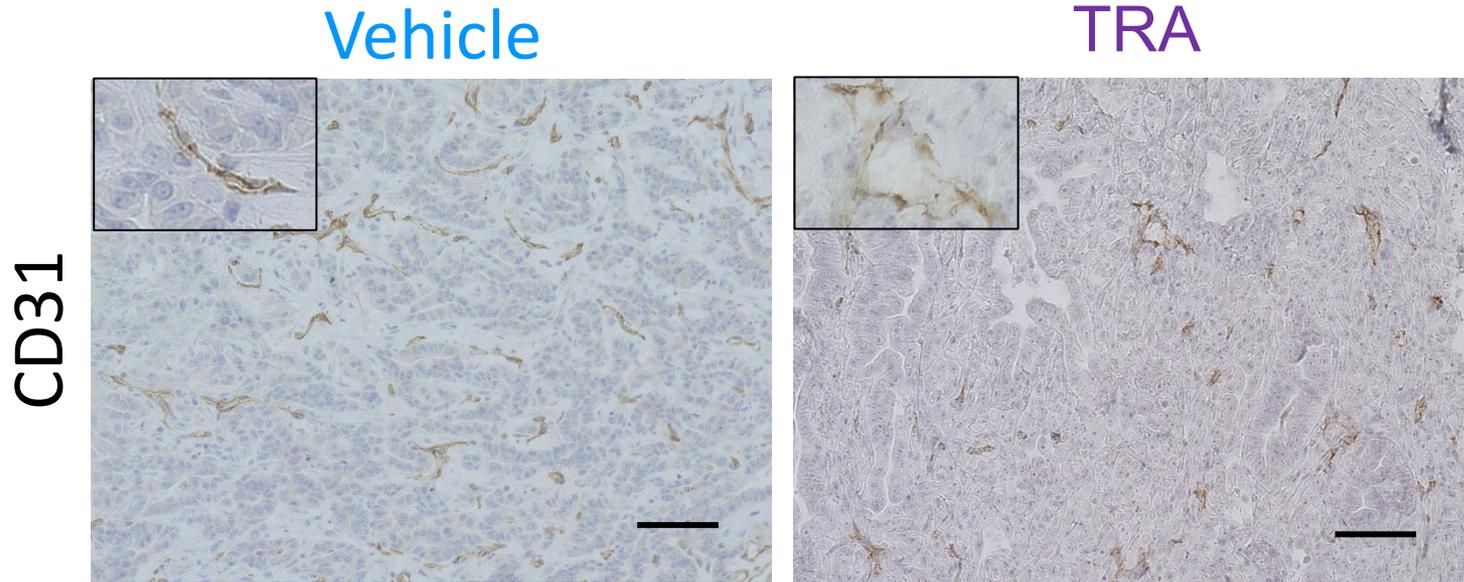
$\alpha$ SMA



$\alpha$ SMA弱陽性細胞 (cells/mm<sup>2</sup>)

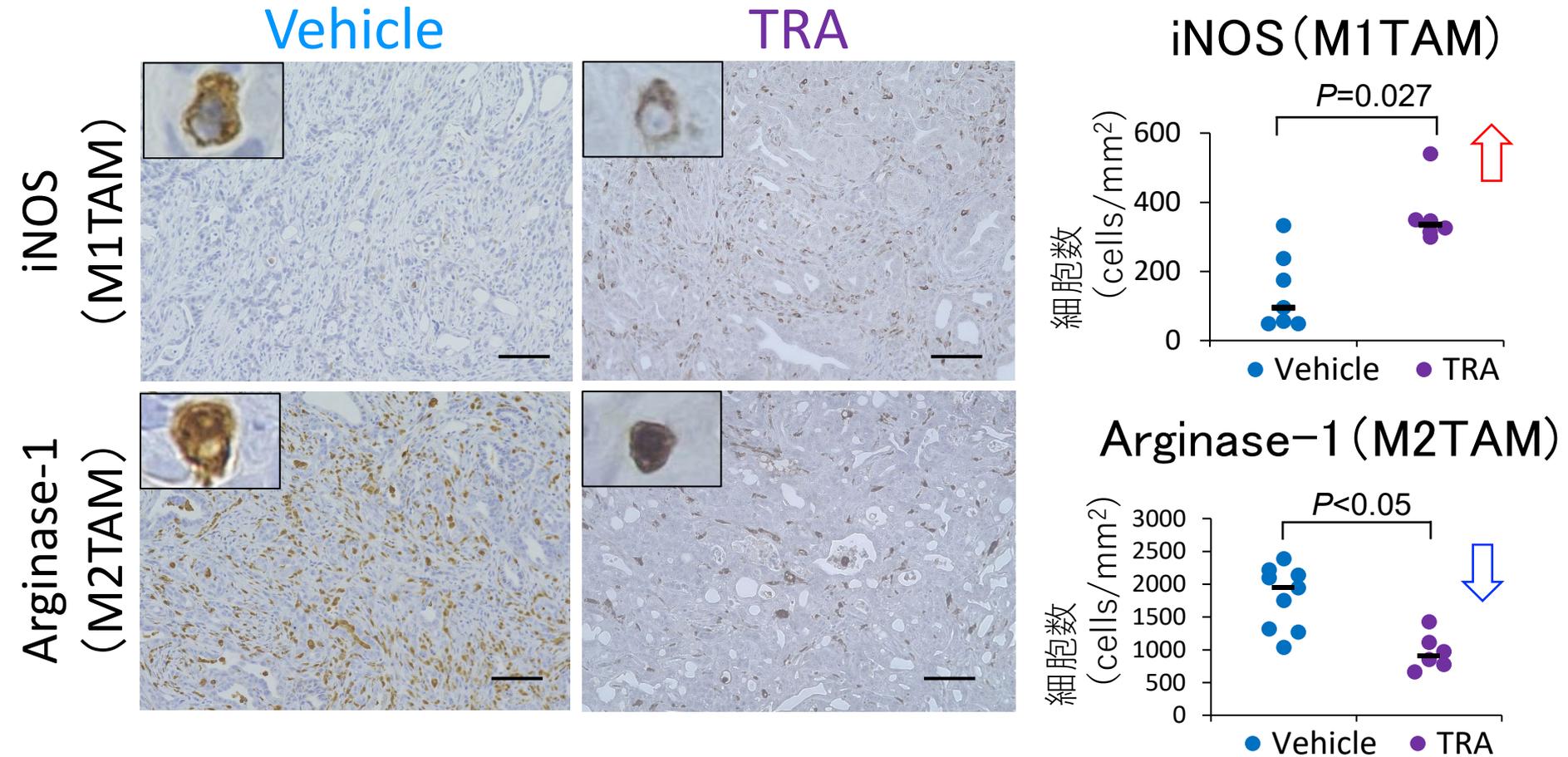
730.8 (C群) vs 25.9 (T群)

# 結果④ TRAはCD31陽性腫瘍血管面積を保持する



- CD31+ 血管面積( $10^4\mu\text{m}^2$ ):  
0.34 (C群) vs 0.80 (T群)
- CD31+ 血管数(/ $\text{mm}^2$ ):  
87.5 (C群) vs 63.6 (T群)

# 結果⑤ TRAはM1様腫瘍関連マクロファージ(TAM)の局所浸潤を増加させ、M2様TAMの局所浸潤を抑制する



● iNOS陽性細胞 (cells/mm<sup>2</sup>): 95.4 (C群) vs 335.8 (T群)

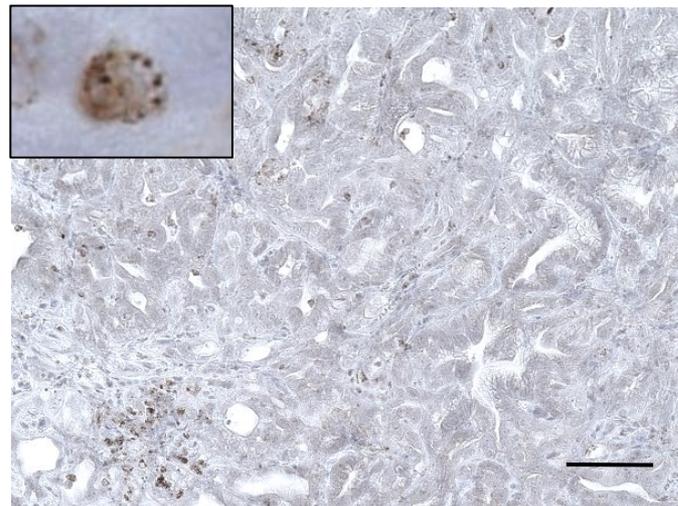
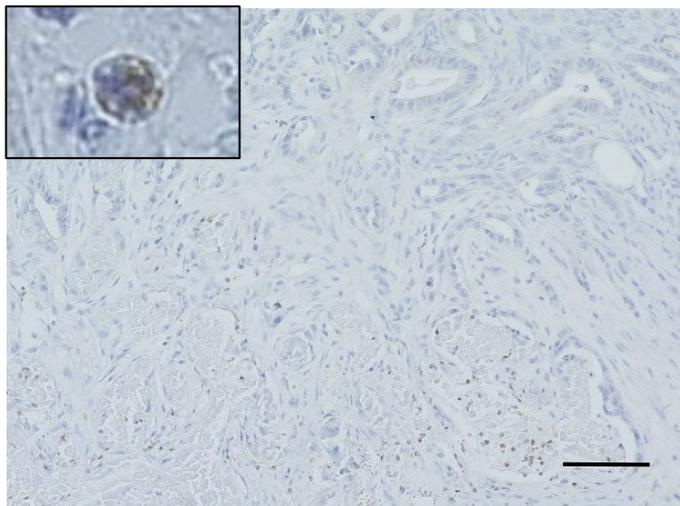
● Arginase-1 陽性細胞 (cells/mm<sup>2</sup>): 1945.8 (C群) vs 910.9 (T群)

# 結果⑥ TRAは腫瘍関連好中球(TAN)の局所浸潤に影響を与えない

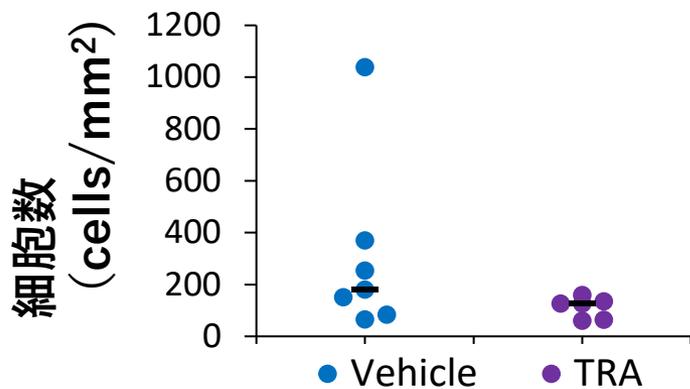
## Vehicle

## TRA

MPO

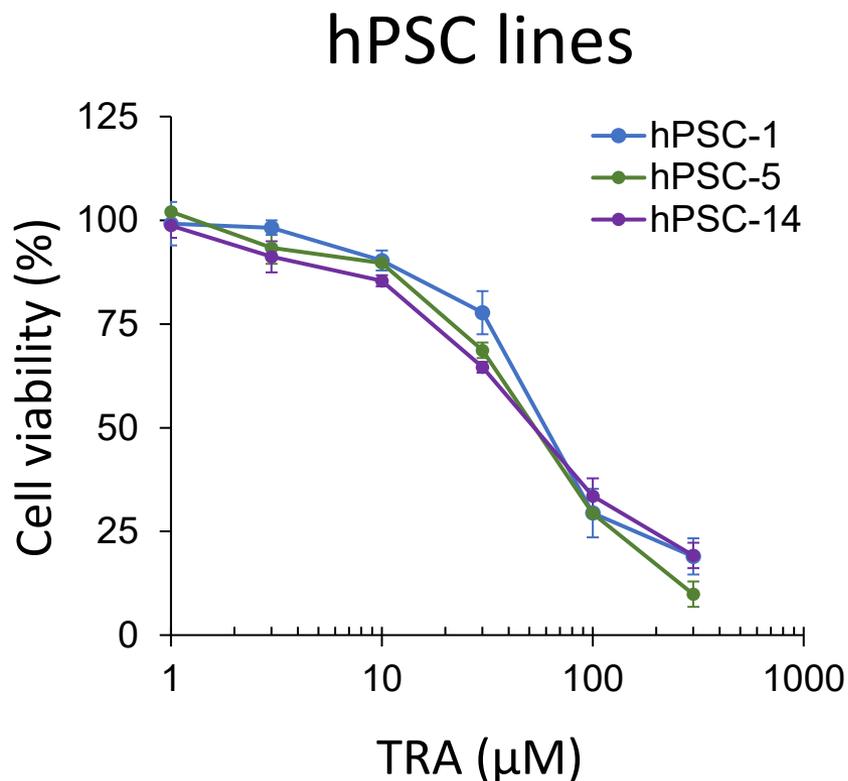
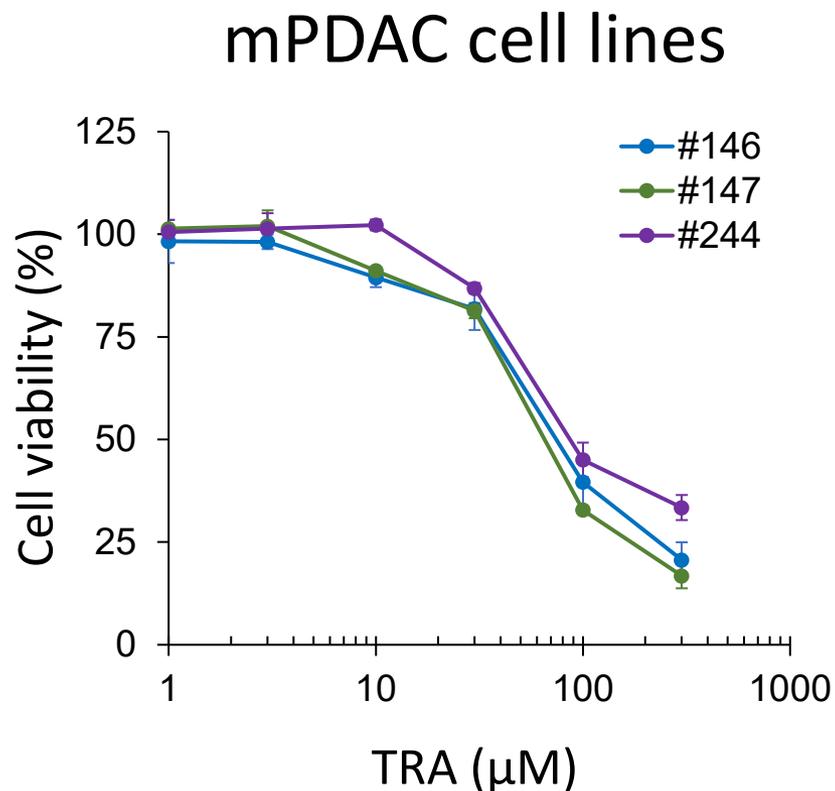


## MPO



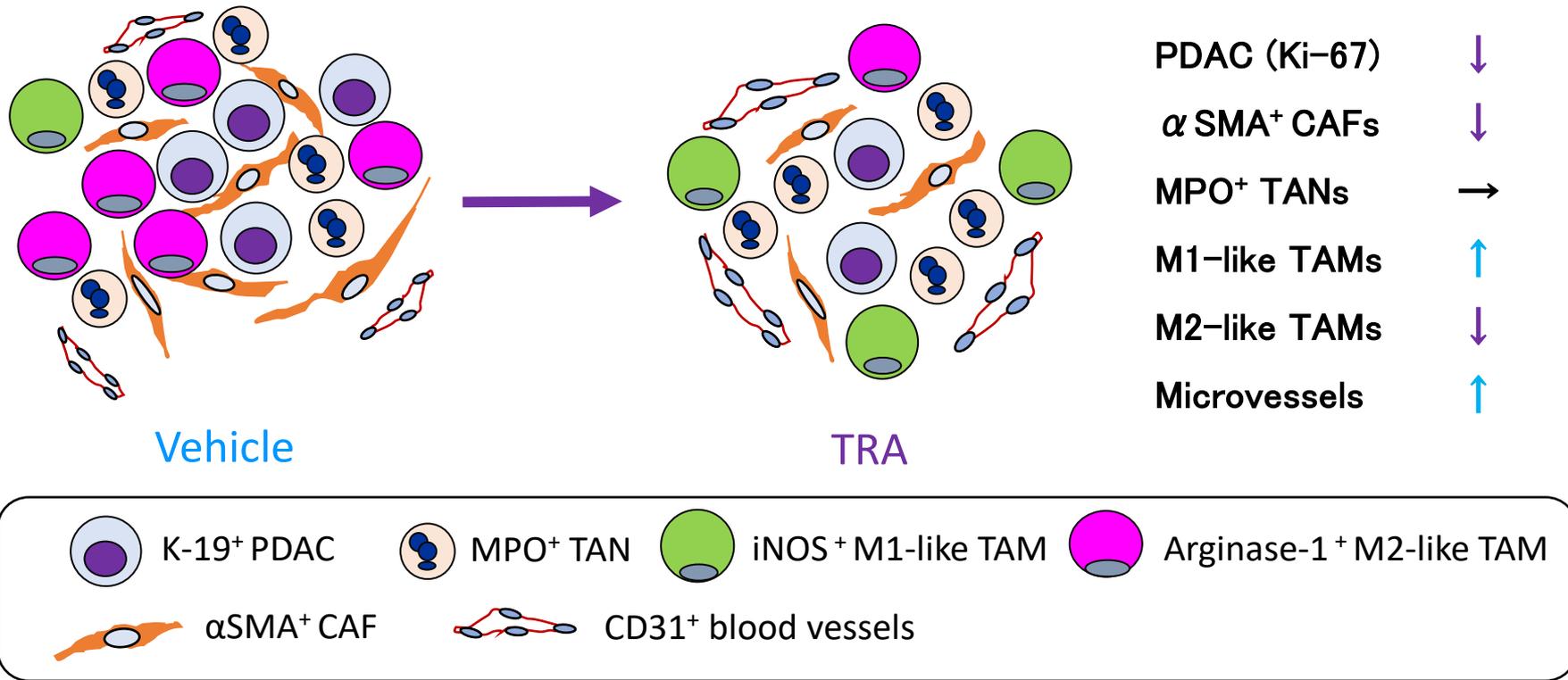
● MPO陽性細胞 (cells/mm<sup>2</sup>):  
179.8 (C群) vs 125.6 (T群)

# 結果⑦ TRAは膵癌細胞と膵星状細胞の増殖を抑制する



- TRA はマウス膵癌細胞株の増殖能を抑制した(最小 $\text{IC}_{50}$ =65.3  $\mu\text{M}$ )
- TRA はCAFの起源の一つとして知られているヒト膵星状細胞株(hPSC)の増殖能を抑制した(最小 $\text{IC}_{50}$ =52.8  $\mu\text{M}$ )

# 結果のまとめ



- CAF/PSCをin vivo、in vitroで抑制した。
- 膠原繊維を低下させ、腫瘍血管面積を保持させていた。
- M1様TAMの局所浸潤を増加させ、M2様TAMの局所浸潤を抑制した。

# 考察 ①

- がん細胞へのTRAの作用機序として、 $\mu$ オピオイド受容体や $\alpha 2$ アドレナリン受容体が関与しているとの報告があり、今後、その詳細を検討する予定である。<sup>1,2)</sup>
- TRAがin vivoならびにin vitroにおいて癌の増殖を抑制したのにも関わらず、腫瘍体積に有意差が認められなかった点に関しては、TRA群において腫瘍内出血を伴う症例があったことが考えられた。
- 癌細胞とCAFはサイトカインを介して刺激し、腫瘍増大に関わっており<sup>3)</sup>、両細胞に対する増殖抑制能は癌間質相互作用を効果的に抑制し、抗腫瘍効果を発揮することが示唆された。

1. Curr Oncol Rep. 2021; 23: 111
2. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2016; 20: 157-165
3. Oncogenesis. 2019; 18: 8

## 考察 ②

- 胃がん、乳がん、子宮がん患者へのTRA投与は、モルヒネ投与群と比べ、NK細胞活性低下が軽減されたとの報告がある<sup>4-6)</sup>。
- TRA群とC群の両群で局所NK細胞はほとんど観察されないことから、TRAによるNK細胞活性低下の軽減が腫瘍へ影響した可能性は低いと思われる。
- 臍帯血マクロファージを用いた実験系では、M2マクロファージを促進し、M1マクロファージを阻害するとの報告がある<sup>7)</sup>。
- 今回の腫瘍モデルにおいては、腫瘍促進に関わるM2様TAMが低下し、抗腫瘍効果を有するM1様TAMの増加が認められ、正常マクロファージとTAMに対するTRAの作用の違いによることが示唆された。

4. Clin Chim Acta. 2006; 369: 40-45

5. Clin J Pain. 2016; 32: 889-897

6. Anesth Analg. 2000; 90: 1411-1414

7. Inflammopharmacology. 2017; 25: 533-541

# 結 語

TRAは膵癌細胞とCAFの増殖抑制ならびにTAMを制御して抗腫瘍効果を発揮する。