

## C. 研究結果

### 1. 進行肺癌患者のQOL改善に対するグレリンの臨床効果

肺癌患者における血漿アシルグレリンの平均値は $15.3 \pm 6.2$  fmol/ml、血漿デスアシルグレリンの平均値は $75.4 \pm 23.1$  fmol/ml、血漿総グレリンの平均値は $90.7 \pm 28.8$  fmol/mlであった。一方、年齢、性別、BMIをマッチさせた健常人では、血漿アシルグレリンの平均値は $8.7 \pm 1.4$  fmol/ml、血漿デスアシルグレリンの平均値は $32.1 \pm 3.4$  fmol/ml、血漿総グレリンの平均値は $40.8 \pm 4.6$  fmol/mlであった。血漿デスアシルグレリン、総グレリン値は健常者に比して肺癌患者で有意に高値であった。また、肺癌の有無、性別、年齢、BMIを調整すると、肺癌を有することは血漿総グレリン、アシルグレリン値が高値であることの独立した因子であった。また、これら化学療法を施行した患者では1コースの治療終了時に化学療法前と比較して、平均で1.7kgの体重減少を来しており、82%の患者では化学療法のday2からの7日間に60%以上の摂食量低下を認めた。体重が減少した患者のみを検討すると血漿アシルグレリン濃度の平均値が $3.6$  fmol/mlから $8.5$  fmol/mlへ上昇していた ( $p = 0.06$ )。

### 2. 食道癌術前化学療法に対するグレリンの効果

平成22年度は、シスプラチンを用いた化学療法を施行する食道癌患者に対するグレリンの臨床効果の探索的研究としてランダム化比較第II相試験のプロトコールを作成し、倫理委員会の審査、CRFの作製、薬剤の準備を行い、臨床試験に着手した。臨床試験の内容はUMINへ登録し、症例集積を開始した。

### 3. 進行膵癌患者のQOL改善に対するグレリンの効果

血漿デスアシルグレリンの平均値は $65.5 \pm 54.4$  fmol/ml、中央値 $53.8$  fmol/ml (95%信頼区間  $54.8$ - $76.3$  fmol/ml)、範囲  $8.12$ - $345.8$  fmol/mlであった。臨床データと合わせた検討では、血漿デスアシルグレリンは、CRPと正の相関関係、ヘモグロビンと負の相関関係を認めた。また、PS0の患者では $57.9 \pm 5.7$  fmol/ml、

PS1または2の患者では $76.5 \pm 9.7$  fmol/mlであり、PS低下例では血漿デスアシルグレリン濃度は高値であった。

### 4. 癌性カヘキシアに対するグレリン治療のメカニズム解明

グレリン欠損マウスと野生型マウスを用いて、脳(視床下部以外)、視床下部、肝臓、胃、白色脂肪組織における遺伝子変化をDNAマイクロアレイにて調べた。

視床下部以外の脳と視床下部では癌に関連した遺伝子発現変化は認められなかった。

肝臓では血管増殖因子である angiogenin が通常状態のグレリン欠損マウスにて増加、細胞分化増殖の関連因子である gastrokine 2が36時間絶食によって発現が上昇した。また36時間絶食で Junガン遺伝子の発現が低下した。

胃では幹細胞の分化に関与する prominin 1が通常状態のグレリン欠損マウスで上昇、白色脂肪組織においてはmetastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1遺伝子が36時間絶食のグレリン欠損マウスで発現が上昇した。

### 5. 進行肺癌におけるグレリンの抗カヘキシア作用の解明

Urethane投与5ヶ月後のマウス肺を解析した結果、高確率(18匹中17匹(94%))に両肺に多発する肺腫瘍形成を認めた。組織学的に肺腫瘍は腺癌であることを確認した。高確率に多数肺癌を形成することから、本マウスは、進行肺癌モデルとして有用と考えられる。

## D. 考察およびE. 結論

進行肺癌患者では、化学療法に伴って内因性グレリン産生が増加している可能性があり、これらの患者では抗癌剤投与後に薬理量のグレリン投与が有効であると期待された。

進行膵臓癌患者では、癌の状態が進行し予後不良群で血漿デスアシルグレリンが高値を示し、グレリン補充の有効性が期待された。

術前化学療法を行う食道癌患者ではグレリン投与のランダム化プラセボコントロール比較第II相試験を計画し、症例集積を開始した。二重

盲検試験であるため、キーオープンまで結果の検討はできないが、グレリン投与に関連した重篤な有害事象は生じておらず、順調に進捗している。

実験動物を用いた基礎研究では、グレリン欠損マウスでいくつかの細胞増殖・分化に関連した遺伝子発現が変化した。その意義付けにはさらなる検討が必要である。また、進行肺癌として有用な動物モデルを確立した。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Shimizu S, Akiyama T, Kawada T, Sonobe T, Kamiya A, Shishido T, Tokudome T, Hosoda H, Shirai M, Kangawa K, Sugimachi M: Centrally administered ghrelin activates cardiac vagal nerve in anesthetized rabbits. *Auton Neurosci*, in press
2. Iwakura H, Ariyasu H, Hosoda H, Yamada G, Hosoda K, Nakao K, Kangawa K, Akamizu T: Oxytocin and Dopamine Stimulate Ghrelin Secretion by the Ghrelin-Producing Cell Line, MGN3-1 in Vitro. *Endocrinology*. in press
3. Shiiya T, Ueno H, Toshinai K, Kawagoe T, Naito S, Tobina T, Nishida Y, Shindo M, Kangawa K, Tanaka H, Nakazato M: Significant lowering of plasma ghrelin but not des-acyl ghrelin in response to acute exercise in men. *Endocr J*, in press
4. Koizumi M, Hosoya Y, Dezaki K, Yada T, Hosoda H, Kangawa K, Nagai H, Lefor AT, Sata N, Yasuda Y: Postoperative weight loss does not resolve after esophagectomy despite normal serum ghrelin levels. *Ann Thorac Surg*, 91: 1032-1037, 2011.
5. Morozumi N, Hanada T, Habara H, Yamaki A, Furuya M, Nakatsuka T, Inomata N, Minamitake Y, Ohsuye K, Kangawa K: The role of C-terminal part of ghrelin in pharmacokinetic profile and biological activity in rats. *Peptides*, 32: 1001-1007, 2011.
6. Yoh J, Nishi Y, Hosoda H, Tajiri Y, Yamada K, Yanase T, Doi R, Yonemoto K, Kangawa K, Kojima M, Tanaka E, Kusukawa J: Plasma levels

of n-decanoyl ghrelin, another acyl- and active-form of ghrelin, in human subjects and the effect of glucose- or meal-ingestion on its dynamics. *Regul Pept*. 167: 140-148, 2011.

7. Akamizu T, Kangawa K: Ghrelin for cachexia. *J Cachex Sarcopenia Muscle*, 1: 169-176, 2010.
8. Yamada G, Ariyasu H, Iwakura H, Hosoda H, Akamizu T, Nakao K, Kangawa K: Generation of transgenic mice overexpressing a ghrelin analog. *Endocrinology*, 151: 5935-5940, 2010.
9. Akamizu T, Iwakura H, Ariyasu H, Kangawa K: Ghrelin and functional dyspepsia. *Int J Pept*, 2010: pii: 548457, 2010.
10. Koizumi M, Dezaki K, Hosoda H, Damdindorj B, Sone H, Ming L, Hosoya Y, Sata N, Kobayashi E, Kangawa K, Nagai H, Yasuda Y, Yada T: Reconstruction-dependent recovery from anorexia and time-related recovery of regulatory ghrelin system in gastrectomized rats. *Int J Pept*, 2010: pii: 365416, 2010.
11. Kojima M, Kangawa K: Ghrelin: more than endogenous growth hormone secretagogue. *Ann N Y Acad Sci*, 1200: 140-148, Review, 2010.
12. Nakahara K, Okame R, Katayama T, Miyazato M, Kangawa K, Murakami N: Nutritional and environmental factors affecting plasma ghrelin and leptin levels in rats. *J Endocrinol*, 207: 95-103, 2010.
13. Kaiya H, Miura T, Matsuda K, Miyazato M, Kangawa K: Two functional growth hormone secretagogue receptor (ghrelin receptor) type 1a and 2a in goldfish, *Carassius auratus*. *Mol Cell Endocrinol*, 327: 25-39, 2010.
14. Sugino T, Kawakita Y, Fukumori R, Hasegawa Y, Kojima M, Kangawa K, Obitsu T, Taniguchi K: Effects of glucose and amino acids on ghrelin secretion in sheep. *Anim Sci J*, 81: 199-204, 2010.
15. Ida T, Miyazato M, Lin XZ, Kaiya H, Sato T, Nakahara K, Murakami N, Kangawa K, Kojima M: Purification and characterization of caprine ghrelin and its effect on growth hormone release. *J Mol Neurosci*, 42: 99-105, 2010.

16. Schwenke DO, Pearson JT, Kangawa K, Cragg PA, Shirai M: Exogenous ghrelin accentuates the acute hypoxic ventilatory response after two weeks of chronic hypoxia in conscious rats. *Acta Physiol (Oxf)*, 200: 279-287, 2010.
  17. Iwakura H, Li Y, Ariyasu H, Hosoda H, Kanamoto N, Bando M, Yamada G, Hosoda H, Nakao K, Kangawa K, Akamizu T: Establishment of a novel ghrelin-producing cell line. *Endocrinology*, 151: 2940-2945, 2010.
  18. Nonoshita A, Nishi Y, Takushima S, Oshima M, Hosoda H, Kangawa K, Kojima M, Mifune H, Tanaka E, Hori D, Kamura T: Dynamics of placental ghrelin production and its receptor expression in a Dahl salt-sensitive rat model of intrauterine growth restriction. *Placenta*, 31: 358-364, 2010.
  19. Takahashi H, Kurose Y, Suzuki Y, Kojima M, Yamaguchi T, Yoshida Y, Azuma Y, Sugino T, Kojima M, Kangawa K, Hasegawa Y, Kobayashi S: Changes in blood pancreatic polypeptide and ghrelin concentrations in response to feeding in sheep. *J Anim Sci*, 88: 2103-2107, 2010.
  20. Ariyasu H, Iwakura H, Yamada G, Kanamoto N, Bando M, Kohno K, Sato T, Kojima M, Nakao K, Kangawa K, Akamizu T: A postweaning reduction in circulating ghrelin temporarily alters growth hormone (GH) responsiveness to GH-releasing hormone in male mice but does not affect somatic growth. *Endocrinology*, 151: 1743-1750, 2010.
  21. Inoue Y, Nakahara K, Kangawa K, Murakami N: Transitional change in rat fetal cell proliferation in response to ghrelin and des-acyl ghrelin during the last stage of pregnancy. *Biochem Biophys Res Commun*, 393: 455-460, 2010.
  22. Yamamoto K, Takiguchi S, Miyata H, Adachi S, Hiura Y, Yamasaki M, Nakajima K, Fujiwara Y, Mori M, Kangawa K, Doki Y: Randomized phase II study of clinical effects of ghrelin after esophagectomy with gastric tube reconstruction. *Surgery*, 148: 31-38, 2010.
  23. Adachi S, Takiguchi S, Okada K, Yamamoto K, Yamasaki M, Miyata H, Nakajima K, Fujiwara Y, Hosoda H, Kangawa K, Mori M, Doki Y: Effects of ghrelin administration after total gastrectomy: a prospective, randomized, placebo-controlled phase II study. *Gastroenterology*, 138: 1312-1320, 2010.
  24. Goto S, Nagao K, Bannai M, Takahashi M, Nakahara K, Kangawa K, Murakami N: Anorexia in rats caused by a valine-deficient diet is not ameliorated by systemic ghrelin treatment. *Neuroscience*, 166: 333-340, 2010.
  25. Kojima M, Kangawa K: Ghrelin: from gene to physiological function. *Results Probl Cell Differ*, 50: 185-205, Review, 2010.
  26. 赤水尚史, 寒川賢治: 摂食増進ペプチドグレリンの発見と高齢者診療への展望. *Geriatric Medicine*, 48: 1697-1700, 2010.
  27. 岸本一郎, 徳留 健, 寒川賢治: 【心臓血管の発生、疾患に関与する新しい注目すべき分子】 グレリンの心臓血管作用とその機序. *循環器内科*, 67: 171-177, 2010.
  28. 細田洋司, 寒川賢治: 【肥満症(第2版) 基礎・臨床研究の進歩 肥満基礎研究の進歩 エネルギー代謝とその調節機序】 肥満調節因子 摂食亢進を起こす因子系 消化管由来グレリン. *日本臨牀*, 68 増刊2: 150-155, 2010.
  29. 細田洋司, 寒川賢治: 【広範囲 血液・尿化学検査免疫学的検査(第7版) その数値をどう読むか】 内分泌学的検査 膵・消化管関係 グレリン. *日本臨牀*, 68 増刊7: 524-528, 2010.
2. 学会発表
    1. 寒川賢治: 未知の生体内ペプチドへの挑戦: 探索・発見から臨床応用へ. 第34回蛋白質と酵素の構造と機能に関する九州シンポジウム, 特別講演, 福岡, 9月11日, 2010.
    2. 寒川賢治: 未知のペプチドの探索・発見から臨床応用へ. 第62回日本生物工学会大会, シンポジウム, 宮崎, 10月27日, 2010.
    3. Kangawa K: Discovery of ghrelin and its clinical application. 第5回国際神経ペプチド学会

日本支部シンポジウム、特別講演、京都、12月7日、2010.

4. 寒川賢治：新規ホルモン“グレリン”：発見から臨床応用へ。第7回日本消化管学会総会学術集会、特別講演、京都、2月18日、2011.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 癌医療におけるグレリンの包括的QOL改善療法の開発研究

研究分担者 土岐 祐一郎

(大阪大学大学院医学系研究科 外科学講座消化器外科学 教授)

抗癌剤による消化器症状の副作用は患者のQOLを低下させ、化学療法の継続を困難にしている。今回、抗癌剤投与患者の副作用軽減に対するグレリンの臨床応用を目的として、ランダム化比較Ⅱ相試験を計画した。食道癌の抗癌剤投与患者に対するグレリン投与の臨床試験プロトコルを作成し、デザインや必要症例数、評価項目を決定し、倫理委員会による審査を終了した。ランダム化比較Ⅱ相試験であり、試験終了まで有効性の検討はできないが、現在の所重篤な有害事象は認めていない。

### A. 研究目的

シスプラチンは、消化器癌において代表的な抗癌剤である一方、急性の消化器症状を引き起こすことが知られている。このうち、シスプラチンによる食欲不振は、深刻な副作用の一つであり、食事摂取量の低下によって体重減少、免疫力低下などの原因となり得る。このシスプラチン投与期間の食事摂取量を増加させることによって、患者のQOL向上につながることを期待される。しかし、食欲不振については、現在のところ薬物的な対応を行っていないのが現状である。

グレリンは、胃から分泌される内因性ホルモンで、食欲促進や正のエネルギーバランスをもたらす生物作用を有することが報告されている。今回、シスプラチンによる化学療法を施行する食道癌患者に対して合成グレリン投与を行い、食欲、食事摂取量や化学療法によるその他の副作用さらにはQOLに対して有効な臨床効果を示すかどうかを検討することとした。これまでにグレリンの創薬に関する研究基盤は十分構築されており、本研究の事業期間に、抗癌剤治療を施行する癌患者に対するグレリンの治療応用に必要なエビデンスを得ることが可能である。

### B. 研究方法

本年度は、シスプラチンを用いた化学療法を施行する食道癌患者の副作用軽減に対するグレリンの臨床応用を目指し、以下のような方法で研究を展開した。

- 1) シスプラチンを用いた化学療法を施行する食道癌患者を対象に主評価項目として経時的なグレリンの測定を施行した。また、副次的評価項目として、化学療法施行前後と施行中に食事摂取量、食欲スケール (VAS)、栄養指標 (Rapid turnover protein)、ホルモン測定 (GH, leptin)、QOLスコア (EORTC) を評価した。
- 2) シスプラチンを用いた化学療法を施行する食道癌患者を対象にグレリンのランダム化比較Ⅱ相試験を計画した。実薬 (合成グレリン 3 $\mu$ g/kg) と偽薬 (生食) の2群に無作為化割付けし、化学療法施行中の朝夕2回7日間経静脈的に投与し、食事摂取量を主要評価項目として安全性と有効性を評価した。副次的評価項目として、化学療法施行前後と施行中に食事摂取量、食欲スケール (VAS)、栄養指標 (Rapid turnover protein)、ホルモン測定 (GH, leptin)、QOLスコア (EORTC) を評価した。また、2群間において副作用の発生頻度

を詳細に検討した。

#### (倫理面への配慮)

本研究においてヒトを対象とした研究を行うに際しては、各施設で定められた臨床研究の規定に従って実施した。

#### C. 研究結果及びD. 考察

平成22年度は、シスプラチンを用いた化学療法を施行する食道癌患者に対するグレリンの臨床効果の探索的研究としてランダム化比較第Ⅱ相試験のプロトコルを作成し、倫理委員会の審査、CRFの作製、薬剤の準備を行い、臨床試験に着手した。臨床試験の内容はUMINへ登録し、症例集積を開始した。

#### E. 結論

本年度は、化学療法を施行する食道癌患者に対するグレリンの臨床応用に向けて、2つのプロトコル作成と試験実施体制の確立を終了し、臨床試験を開始した。質の高いエビデンス確立には、試験デザインの計画、生物統計学に裏付けされた症例数設計、妥当性のある主要評価項目や必要症例数の設定、確実な実行性、割付けの適性と外部評価、が求められる。本臨床試験のデザインは過去のグレリン臨床試験の結果に基づいて作成した。ランダム化比較第Ⅱ相試験のため、試験終了まで結果の評価はできないが、これまでに被験者の安全性に問題はなく、臨床試験の継続が可能である。今後症例を集積して、実用化へ向けたエビデンスの確立を目指したい。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Adachi S, Takiguchi S, Okada K, Yamamoto K, Yamasaki M, Miyata H, Nakajima K, Fujiwara Y, Hosoda H, Kangawa K, Mori M, Doki Y: Effects of ghrelin administration after total gastrectomy: a prospective, randomized, placebo-controlled phase II study. *Gastroenterology*138: 1312-1320, 2010.
2. Yamamoto K, Takiguchi S, Miyata H, Adachi S,

Hiura Y, Yamasaki M, Nakajima K, Fujiwara Y, Mori M, Kangawa K, Doki Y: Randomized phase II study of clinical effects of ghrelin after esophagectomy with gastric tube reconstruction. *Surgery* 148: 31-38, 2010.

##### 2. 学会発表

1. 山本和義、瀧口修司、宮田博志、日浦祐一郎、山崎誠、中島清一、藤原義之、森正樹、土岐祐一郎：食道切除胃管再建術後患者に対するグレリン投与のランダム化第Ⅱ相臨床試験。第69回日本癌学会学術総会、一般ポスター、大阪、9月22日、2010.
2. 足立真一、瀧口修司、山崎誠、宮田博志、中島清一、藤原義之、森正樹、土岐祐一郎：胃切除術後長期経過した体重減少患者に対するグレリン投与の臨床効果に関する臨床試験。第110回日本外科学会定期学術集会、一般口演、名古屋、4月8日、2010.
3. 瀧口修司、山本和義、黒川幸典、山崎誠、宮田博志、中島清一、藤原義之、森正樹、土岐祐一郎：上部消化管術後患者におけるグレリン投与における臨床効果の検討。第42回胃病態機能研究会、シンポジウム、札幌、8月6日、2010.
4. Hiura Y, Takiguchi S, Yamamoto K, Kurokawa Y, Yamasaki M, Nakajima K, Miyata H, Fujiwara Y, Mori M, Doki Y: The serial change of plasma ghrelin concentration after esophagectomy in early perioperative period and the duration of systemic inflammatory response syndrome. 12th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus. 一般ポスター、鹿児島、9月2日、2010.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 癌医療におけるグレリンの包括的QOL改善療法の開発研究

研究分担者 児島 将康

（久留米大学 分子生命科学研究所 遺伝情報研究部門 教授）

グレリンは胃から分泌される強力な摂食亢進ホルモンであり、その投与によって慢性疾患のカヘキシアを改善する治療が試みられている。本研究では、グレリン欠損マウスを使って、通常の摂食状態と絶食状態における全身の臓器・組織の遺伝子発現変化をDNAマイクロアレイで調べた。グレリンの欠損、あるいは絶食状態に置くことによって、様々な遺伝子発現が変化した。

### A. 研究目的

グレリンは胃から分泌される強力な摂食亢進ホルモンであり、その血中投与あるいは皮下投与によって、摂食量を増加させ、さらにエネルギー代謝を抑制することで、体内にエネルギーを蓄える働きがある。そしてこの作用を応用して慢性消耗性疾患のカヘキシア状態を改善することが試みられている。本研究では、グレリン欠損マウスを用いて、通常の食事状態、あるいは絶食状態における、遺伝子発現の変化をDNAマイクロアレイによって調べた。特にガン遺伝子やガン抑制遺伝子、あるいはそのシグナル伝達因子について検討した。これによってグレリンによってどのような遺伝子が動き、それが代謝状態にどのように影響するかを調べることを計画した。

### B. 研究方法

グレリン欠損マウスは通常のノックアウトマウス作成方法によって作出した。グレリン遺伝子の4つのエキソンを全て欠失させたホモマウスを、C57BL/6Jマウスと10代以上バッククロスすることで遺伝的背景を整えた。このマウスと野生型マウスとを比較した。

マウスを通常の食事状態と絶食（36時間）において、脳（視床下部以外）、視床下部、肝臓、胃、白色脂肪組織からmRNAを抽出した。このmRNAを鋳

型にして蛍光プローブを合成、DNAマイクロアレイにて遺伝子発現の変化を比較した。

解析対象としては、アノテーション情報が付けられている遺伝子スポットのみを選択した。Net intensity が2,000以上で、2倍以上アップあるいはダウンしたデータのみを選んだ。

（倫理面への配慮）

グレリン欠損マウスは、「久留米大学遺伝子組換え実験安全委員会」の承認を得て使用した。また、本研究で行うすべての実験動物は、本学規定の拡散防止措置（PIA）を遵守して行い、倫理面においては年度毎に更新が必要な「久留米大学動物実験委員会」の承認を得て実施した。

### C. 研究結果

#### ①脳（視床下部以外）

グレリン欠損マウスと野生型マウスの比較において、通常の食事状態では、2つの遺伝子のみがグレリン欠損マウスで発現が上昇した（erythrocyte protein band 4.1-like 1と erythroid differentiation regulator 1）。また24遺伝子の発現が減少した。減少した遺伝子には insulin-like 5やnuclear receptor subfamily 4-member 2などがあったが、がんとの明確な関連を示すものはなかった。

36時間の絶食によってグレリン欠損マウスと野生型マウスでの遺伝子変化は激減し、発現が上昇したものは1種類、減少したものは2種類になった。この理由は不明である。

## ②視床下部

グレリン欠損マウスと野生型マウスの比較において、通常の食事状態では、発現が上昇したものはなく、減少したものが4つ見られた。特にガンとの関連するものはなかった。

36時間の絶食によって発現が上昇したものは3種類、減少したものは31種類あった。細胞の分化増殖に関与する遺伝子の変化は認められなかった。

## ③肝臓

グレリン欠損マウスと野生型マウスの比較において、通常の食事状態では、発現が上昇したものは2つ、減少したものが1つ見られた。発現が上昇したもののうち一つはangiogeninで血管増殖に関与するものであり、ガンとの関連が示唆された。

36時間の絶食によって発現が上昇したものは10種類、減少したものは22種類あった。発現が増加したものにはgastrokine 2があり、これは分子量18 kDaの分泌性タンパク質で、消化管粘膜の増殖・再生に重要な因子であり、胃がんで発現が低下している。また発現が減少したものにはガン遺伝子のJunが認められた。

## ④胃

グレリン欠損マウスと野生型マウスの比較において、通常の食事状態では、発現が上昇したものは20種類、減少したものが21種類見られた。発現が上昇したもののうち一つはprominin 1であり、これは幹細胞に発現して分化を抑制していると考えられ、いくつかのガンとの関連が示唆されている。

36時間の絶食によって発現が上昇したものは6種類、減少したものは15種類あった。細胞の増殖分化に関与する遺伝子の変化は認められなかった。

## ⑤白色脂肪組織

グレリン欠損マウスと野生型マウスの比較において、白色脂肪組織では、通常の食事状態および

36時間の絶食状態のいずれにおいても、多数の遺伝子発現の変化が認められた。

興味ある遺伝子の変化としては、metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1 遺伝子が36時間絶食状態のグレリン欠損マウスで発現上昇が認められた。他に細胞の分化増殖に関与する遺伝子の変化は認められなかった。

## D. 考察

グレリン欠損マウスと野生型マウスを用いて、脳(視床下部以外)、視床下部、肝臓、胃、白色脂肪組織における遺伝子変化をDNAマイクロアレイにて調べた。通常の食事状態と36時間絶食状態で検討した。36時間絶食状態では血中グレリン濃度の上昇があるのだが、これがグレリン欠損マウスではないことで、どのような遺伝子変化が見られるのかが興味ある。

結果として、細胞の分化増殖に関連するいくつかの遺伝子変化が認められた。

肝臓においてはangiogeninが通常状態のグレリン欠損マウスにて増加、gastrokine 2が36時間絶食によって発現が上昇した。また36時間絶食でJunガン遺伝子の発現が低下した。angiogeninは血管増殖因子であるので、腫瘍細胞の増殖に関与している可能性がある。またgastrokine 2やJunガン遺伝子も細胞の増殖分化に関与する因子であり、今後さらに検討していきたい。

また胃においては幹細胞の分化に関与するprominin 1が通常状態のグレリン欠損マウスで上昇、白色脂肪組織においてはmetastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1 遺伝子が36時間絶食のグレリン欠損マウスで発現が上昇した。

このようにいくつかの細胞増殖・分化に関連した遺伝子発現が変化したが、その意義付けにはさらに検討が必要と考える。さらに、今回検討した組織はまだ5種類なので、今後、肺、膵臓、前立腺、腎臓などの難治性の腫瘍が発生する組織・臓器においても、グレリン欠損や絶食状態によって変化する遺伝子を網羅的に解析し、ガンとの関連を検討していく必要がある。さらに将来的に、担癌モデル動物において、グレリン投与による遺伝



子発現の変化や、グレリン欠損マウスにガンを移植したときの遺伝子変化などを検討していきたい。

## E. 結論

グレリン欠損マウスの通常の食事状態と36時間絶食状態において変化する遺伝子群をDNAマイクロアレイにて解析した。細胞の分化増殖に関与するいくつかの遺伝子変化が認められたが、その意義については今後の検討がさらに必要である。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Yoh J, Nishi Y, Hosoda H, Tajiri Y, Yamada K, Yanase T, Doi R, Yonemoto K, Kangawa K, Kojima M, Tanaka E, Kusukawa J: Plasma levels of n-decanoyl ghrelin, another acyl- and active-form of ghrelin, in human subjects and the effect of glucose- or meal-ingestion on its dynamics. *Regul Pept*, 167: 140-148, 2011.
2. Nanjo Y, Adachi H, Hirai Y, Enomoto M, Fukami A, Otsuka M, Yoshikawa K, Yokoi K, Ogata K, Tsukagawa E, Kasahara A, Murayama K, Yasukawa H, Kojima M, Imaizumi T: Factors Associated with Plasma Ghrelin Level in Japanese General Population. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 74: 453-458, 2011.
3. Kojima M, Kangawa K: Ghrelin: more than endogenous growth hormone secretagogue. *Ann NY Acad Sci*, 1200: 140-148, 2010.
4. Sato T, Nakashima Y, Nakamura Y, Ida T, Kojima M: Continuous antagonism of the ghrelin receptor results in early induction of salt-sensitive hypertension. *J Mol Neurosci*, 43: 193-199, 2010.
5. Ida T, Miyazato M, Lin XZ, Kaiya H, Sato T, Nakahara K, Murakami N, Kangawa K, Kojima M: Purification and characterization of caprine ghrelin and its effect on growth hormone release. *J Mol Neurosci*. 42: 99-105, 2010.

### 2. 学会発表

1. 児島将康：成長ホルモン分泌と食欲を刺激

するホルモン“グレリン”の多彩な生理作用。第52回日本小児神経学会総会、特別講演、福岡、5月20日、2010。

2. Kojima M: Ten years after the discovery of ghrelin: novel functions and processing 18th International Symposium on Regulatory Peptides, Belfast, Sep.8, 2010.
3. 児島将康：グレリンと体温調節・肥満第31回日本肥満学会、シンポジウム、前橋、10月1日、2010。
4. 児島将康：グレリンと体温調節。第63回日本薬理学会西南部会、新薬理学セミナー、鹿児島、11月25日、2010。

## H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 癌医療におけるグレリンの包括的QOL改善療法の開発研究

研究分担者 仲地 耕平

(国立がん研究センター東病院 肝胆膵腫瘍科 医員)

進行膵癌患者の多くは、食欲不振、倦怠感などの悪液質の症状を呈する。このような患者に対してグレリンを投与することで、食欲増進並びにQOL向上が期待されるため、臨床応用にむけて研究を計画した。本年度は進行膵癌患者の血漿中グレリン濃度を測定し、CRP高値、ヘモグロビン低値、PS低下例で不活性型デスアシルグレリン濃度が高値であることが明らかとなった。これらを対象にグレリン投与の臨床試験を計画する予定である。

### A. 研究目的

進行膵癌患者に対して、グレリン投与によって病状改善が期待できる適切集団を同定するために、本年度は、進行膵癌患者における血漿中グレリン濃度を測定しその意義を明らかにすることを目的とした。

### B. 研究方法

2008年6月から2009年11月の間に診断された切除不能進行膵癌患者110例を対象に初回化学療法開始前のデスアシルグレリン濃度を測定した。デスアシルグレリンと臨床検査値などの患者背景因子との相関関係を評価した。

(倫理面への配慮)

国立がん研究センターの臨床研究倫理規定に従う。

### C. 研究結果

#### 1) 血漿中デスアシルグレリン濃度

デスアシルグレリンの平均値は $65.5 \pm 54.4$  fmol/ml、中央値53.8 fmol/ml (95%信頼区間54.8-76.3 fmol/ml)、範囲 8.12-345.8 fmol/ml

であった。

#### 2) 臨床検査値との相関

栄養状態の指標と考えられる項目とデスアシルグレリン濃度の相関関係を以下に示す。

	相関係数	P-value
アルブミン	0.023	0.115
総タンパク	0.001	0.795
コリンエステラーゼ	0.004	0.534
フェリチン	0.001	0.746
CRP	0.065	0.007
ヘモグロビン	0.047	0.024
総コレステロール	0.021	0.148
中性脂肪	0.006	0.439

このうちCRPと正の相関関係、ヘモグロビンと負の相関関係を認めた。

#### 3) Performance status (PS) との相関

PS0の患者では $57.9 \pm 5.7$  fmol/ml、PS1または2の患者では $76.5 \pm 9.7$  fmol/mlであり、PS低下例ではデスアシルグレリン濃度は高値であった。

## D. 考察

進行膵癌患者において、悪液質の指標の一つであるCRPは予後不良因子とされており、CRP高値例ではデスアシルグレリンは高値であった。ヘモグロビンは慢性炎症や消耗性状態で低値となると考えられ、ヘモグロビン低値例ではD-グレリンは高値であった。PS低下は予後不良因子とされており、PS低下例 (PS1, 2) ではデスアシルグレリンは高値であった。以上より、より癌の状態が進行し予後の悪い患者群においてデスアシルグレリンは高値を呈しており、グレリン投与により食欲増進、病状の改善が期待できると考えられる。

## E. 結論

進行膵癌患者において、CRP高値、ヘモグロビン低値、PS低下例を対象にグレリン投与の臨床試験を計画する予定である。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Nakachi K, Furuse J, Kinoshita T, Kawashima M, Ishii H, Ikeda M, Mitsunaga S, Shimizu S: A phase II study of induction chemotherapy with gemcitabine plus S-1 followed by chemoradiotherapy for locally advanced pancreatic cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*. 66: 527-534, 2010.
  2. Iwasa S, Morizane C, Okusaka T, Ueno H, Ikeda M, Kondo S, Tanaka T, Nakachi K, Mitsunaga S, Kojima Y, Hagihara A, Hiraoka N: Cisplatin and Etoposide as First-line Chemotherapy for Poorly Differentiated Neuroendocrine Carcinoma of the Hepatobiliary Tract and Pancreas. *Jpn J Clin Oncol*, 40: 313-318, 2010.
  3. Okusaka T, Nakachi K, Fukutomi A, Mizuno N, Ohkawa S, Funakoshi A, Nagino M, Kondo S, Nagaoka S, Funai J, Koshiji M, Nambu Y, Furuse J, Miyazaki M, Nimura Y: Gemcitabine alone or in combination with cisplatin in patients with biliary tract cancer: a comparative multicentre study in Japan. *Br J Cancer*. 103: 469-474, 2010.
  4. 仲地耕平: 特集 がん薬物療法のガイドライン 胆道がん. *腫瘍内科*, 5: 40-43, 2010.
  5. 仲地耕平, 池田公史, 光永修一, 上野秀樹, 森実千種, 近藤俊輔, 奥坂拓志: 膵癌に対する分子標的治療の現状. *肝胆膵*, 61: 99-102, 2010.
- ### 2. 学会発表
1. Mitsunaga S, Ikeda M, Nakachi K, Suzuki E, Furuse J, Inagaki M, Uchitomi Y, Higashi S, Terao K, Ochiai A : Role of IL-6 in cachexia progression in advanced pancreatic cancer. 2010 ASCO Annual Meeting, General Poster Session, Chicago, Jun. 4-8, 2010.
  2. Mitsunaga S, Masafumi I, Nakachi K, Kojima Y, Ohno I, Shimizu S, Takahashi H : Low Level of Circulating IL-6 is Associated with Neutropenia of Gemcitabine in Advanced Pancreatic Cancer. Joint Meeting of the International Association of Pancreatology and the Japan Pancreas Society 2010, 口演、福岡、7月12日、2010.
  3. 光永修一、池田公史、仲地耕平、井元章、鈴木雅美、落合淳志 : Astrocytic activation by neural invasion modulates pain in pancreatic cancer. (膵がん患者の疼痛には神経浸潤に由来する脊髄アストロサイトの活性化が関与する) 第 69 回日本癌学会学術総会、口演、大阪、9月23日、2010.
  4. 大野 泉、光永修一、仲地耕平、清水 怜、高橋秀明、奥山浩之、小島康志、落合淳志、上野秀樹、森実千種、近藤俊輔、奥坂拓志、池田公史 : 進行膵がん症例における血清 ALP 値の意義. 第 48 回日本癌治療学会学術集会、口演、京都、10月30日、2010.
  5. 奥山浩之、光永修一、仲地耕平、大野 泉、清水 怜、小島康志、高橋秀明、上野秀樹、森実千種、近藤俊輔、落合淳志、奥坂拓志、池田公史 : 進行膵がんにおける塩酸ゲムシタピン (GEM) 療法による血液毒性の予測因子. 第 48 回日本癌治療学会学術集会、口演、京都、10月30日、2010.
  6. Okuyama H, Mitsunaga S, Nakachi K, Ohno I, Shimizu S, Takahashi H, Okusaka T, Ueno H,

Ochiai A, Ikeda M: Association of interleukin-6 levels and neutropenia during gemcitabine monotherapy for advanced pancreatic cancer. 2011 Gastrointestinal Cancers Symposium, General Poster Session, San Francisco, Jan. 20-22, 2011.

7. Mitsunaga S, Ikeda M, Nakachi K, Ohno I, Shimizu S, Takahashi H, Okuyama H, Inagaki M, Furuse J, Ochiai A, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.: Clinical significance of elevation of the serum IL-6 level in patients with advanced pancreatic cancer. 2011 Gastrointestinal Cancers Symposium, General Poster Session, San Francisco, Jan. 20-22, 2011.
8. Ohno I, Mitsunaga S, Nakachi K, Shimizu S, Takahashi H, Okuyama H, Kojima Y, Ochiai A, Okusaka T, Ikeda M: Clinical significance of serum alkaline phosphatase level in advanced pancreatic cancer. 2011 Gastrointestinal Cancers Symposium, General Poster Session, San Francisco, Jan. 20-22, 2011.
9. Morizane C, Okusaka T, Morita S, Tanaka K, Ueno H, Kondo S, Ikeda M, Nakachi K, Mitsunaga S, Yamaguchi T: Construction and validation of a practical prognostic index for patients with metastatic pancreatic adenocarcinoma. 2011 Gastrointestinal Cancers Symposium, General Poster Session, San Francisco, Jan. 20-22, 2011.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 癌医療におけるグレリンの包括的QOL改善療法の開発研究

研究分担者 嘉田 晃子

（国立循環器病研究センター研究所 研究開発基盤センター 臨床研究部 室員）

本研究では、化学療法に伴う栄養障害を改善し、癌医療の底上げを図ることを目的に摂食亢進やアナボリック効果を有するペプチド グレリンを投与する臨床研究を行う。また、グレリンが有効な病態を明らかにするため、その作用について分子レベルで解析する。

平成22年度は進行肺癌ならびに進行膵臓癌患者で臨床データと内因性グレリンとの関連を検討し、グレリン介入研究のための基礎データを収集した。食道癌術前化学療法を施行する患者ではグレリン投与のRCTを開始し、症例集積は順調である。基礎研究ではグレリン欠損動物で細胞増殖と分化にかかわる遺伝子発現を認め、進行肺癌モデル動物を確立した。

### A. 研究目的

進行期で発見されることが多く予後不良な肺癌、膵臓癌と術前化学療法を施行する食道癌を対象に、グレリンを用いて抗癌剤による副作用を軽減し、癌治療の新たな支持療法を確立することが本研究の目的である。また、同時に基礎研究にてグレリンの作用を分子レベルで分析し、効果的な適応病態を明らかにする。

抗癌剤治療による食欲喪失や栄養状態の悪化、全身倦怠、末梢神経や消化管運動の障害などは、患者のQOLを低下して治療中断にも直結し、有効な治療法に乏しい。癌のカヘキシアは衰弱死に至り、中心静脈栄養では問題を解決し得ない。生体内で産生される食欲亢進物質により快適で無理のない経口摂取を回復することは、癌患者への福音である。癌医療に応用可能な食欲亢進物質のシーズは今までに存在せず、グレリンによる包括的QOL改善療法の開発は、学術的に独創性が高く、社会的にも極めてニーズの高いテーマである。また、癌性カヘキシアの実験モデル動物を用いて、グレリンの効果を分子レベルで

解明する意義は、基盤研究として重要である。

### B. 研究方法

#### 1. 進行肺癌患者のQOL改善に対するグレリンの臨床効果

進行肺癌患者でグレリン介入の臨床試験をデザインするに先立って、化学療法を施行した患者で血漿中グレリン濃度を測定し、臨床データと合わせて検討した。

宮崎大学医学部附属病院に入院し、化学療法を施行する進行肺癌患者26症例でAIA法により血漿アシルグレリン、デスアシルグレリンを測定した。肺癌に対するコントロールとして、健常人ボランティアのうち、年齢、性別、BMIをマッチさせた49例のデータを用いた。

#### 2. 食道癌術前化学療法に対するグレリンの効果

1) シスプラチンを用いた化学療法を施行する食道癌患者を対象に主評価項目として経時的なグレリンの測定を施行した。また、副次的評価項目として、化学療法施行前後と施行中に食事摂

取量、食欲スケール (VAS)、栄養指標 (Rapid turnover protein)、ホルモン測定 (GH, leptin)、QOLスコア (EORTC) を評価した。

2) シスプラチンを用いた化学療法を施行する食道癌患者を対象にグレリンのランダム化比較第II相試験を計画した。実薬 (合成グレリン 3 $\mu$ g/kg) と偽薬 (生食) の2群に無作為化割付けし、化学療法施行中の朝夕2回7日間経静脈的に投与し、食事摂取量を主要評価項目として安全性と有効性を評価した。副次的評価項目として、化学療法施行前後と施行中に食事摂取量、食欲スケール (VAS)、栄養指標 (Rapid turnover protein)、ホルモン測定 (GH, leptin)、QOLスコア (EORTC) を評価した。また、2群間において副作用の発生頻度を詳細に検討した。

### 3. 進行膵癌患者のQOL改善に対するグレリンの効果

切除不能進行膵癌患者110例を対象に初回化学療法開始前のデスアシルグレリン濃度を測定した。デスアシルグレリンと臨床検査値などの患者背景因子との相関関係を評価した。

### 4. 癌性カヘキシアに対するグレリン治療のメカニズム解明

グレリン欠損マウスを通常のノックアウトマウス作成方法によって作出した。グレリン遺伝子の4つのエキソンを全て欠失させたホモマウスを、C57BL/6Jマウスと10代以上バッククロスすることで遺伝的背景を整えた。このマウスと野生型マウスとを比較した。

マウスを通常の食事状態と絶食 (36時間) において、脳 (視床下部以外)、視床下部、肝臓、胃、白色脂肪組織からmRNAを抽出した。このmRNAを鋳型にして蛍光プローブを合成、DNAマイクロアレイにて遺伝子発現の変化を比較した。

解析対象としては、アノテーション情報が付けられている遺伝子スポットのみを選択した。Net intensity が2,000以上で、2倍以上アップあるいはダウンしたデータのみを選んだ。

### 5. 進行肺癌におけるグレリンの抗カヘキシア作

用の解明

進行肺癌モデルの作成を目指し、以下の方法で研究を展開した。

- 1) 細気管支肺胞上皮特異的に癌抑制遺伝子Ptenを欠損したマウス (10週齢) に化学発癌剤 (Urethane, 1mg/g body weight) を腹腔内投与した。
- 2) Urethane投与5ヶ月後にマウスを麻酔し、肺を摘出し、組織学的検討を行った。

(倫理面への配慮)

本研究においてヒトを対象とした研究を行うに際しては「臨床研究に関する倫理指針」に則って実施し、各分担研究施設の倫理委員会で研究計画書の内容および実施の適否について、科学および倫理的な側面が審議・承認された上で行った。

動物を用いた研究を実施するに当たっては、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律、動物の愛護及び管理に関する法律、実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準に準じ、各分担研究施設の動物実験委員会の承認を得た上で行った。

## C. 研究結果

### 1. 進行肺癌患者のQOL改善に対するグレリンの臨床効果

肺癌患者における血漿アシルグレリンの平均値は15.3 $\pm$ 6.2 fmol/ml、血漿デスアシルグレリンの平均値は75.4 $\pm$ 23.1 fmol/ml、血漿総グレリンの平均値は90.7 $\pm$ 28.8 fmol/mlであった。一方、年齢、性別、BMIをマッチさせた健常人では、血漿アシルグレリンの平均値は8.7 $\pm$ 1.4 fmol/ml、血漿デスアシルグレリンの平均値は32.1 $\pm$ 3.4 fmol/ml、血漿総グレリンの平均値は40.8 $\pm$ 4.6 fmol/mlであった。血漿デスアシルグレリン、総グレリン値は健常者に比して肺癌患者で有意に高値であった。また、肺癌の有無、性別、年齢、BMIを調整すると、肺癌を有することは血漿総グレリン、アシルグレリン値が高値であることの独立した因子であった。また、これら化学療法を施行した患者では1コースの治療

終了時に化学療法前と比較して、平均で1.7kgの体重減少を来しており、82%の患者では化学療法のday2からの7日間に60%以上の摂食量低下を認めた。体重が減少した患者のみを検討すると血漿アシルグレリン濃度の平均値が3.6 fmol/mlから8.5 fmol/mlへ上昇していた ( $p = 0.06$ )。

## 2. 食道癌術前化学療法に対するグレリンの効果

平成22年度は、シスプラチンを用いた化学療法を施行する食道癌患者に対するグレリンの臨床効果の探索的研究としてランダム化比較第II相試験のプロトコールを作成し、倫理委員会の審査、CRFの作製、薬剤の準備を行い、臨床試験に着手した。臨床試験の内容はUMINへ登録し、症例集積を開始した。

## 3. 進行膵癌患者のQOL改善に対するグレリンの効果

血漿デスアシルグレリンの平均値は  $65.5 \pm 54.4$  fmol/ml、中央値53.8 fmol/ml (95%信頼区間 54.8-76.3 fmol/ml)、範囲 8.12-345.8 fmol/mlであった。臨床データと合わせた検討では、血漿デスアシルグレリンは、CRPと正の相関関係、ヘモグロビンと負の相関関係を認めた。また、PS0の患者では  $57.9 \pm 5.7$  fmol/ml、PS1または2の患者では  $76.5 \pm 9.7$  fmol/mlであり、PS低下例では血漿デスアシルグレリン濃度は高値であった。

## 4. 癌性カヘキシアに対するグレリン治療のメカニズム解明

グレリン欠損マウスと野生型マウスを用いて、脳(視床下部以外)、視床下部、肝臓、胃、白色脂肪組織においての遺伝子変化をDNAマイクロアレイにて調べた。

視床下部以外の脳と視床下部では癌に関連した遺伝子発現変化は認められなかった。

肝臓では血管増殖因子である angiogenin が通常状態のグレリン欠損マウスにて増加、細胞分化増殖の関連因子である gastrokine 2が36時間絶食によって発現が上昇した。また36時間絶食で Junガン遺伝子の発現が低下した。

胃では幹細胞の分化に関与する prominin 1が

通常状態のグレリン欠損マウスで上昇、白色脂肪組織においてはmetastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1遺伝子が36時間絶食のグレリン欠損マウスで発現が上昇した。

## 5. 進行肺癌におけるグレリンの抗カヘキシア作用の解明

Urethane投与5ヶ月後のマウス肺を解析した結果、高確率(18匹中17匹(94%))に両肺に多発する肺腫瘍形成を認めた。組織学的に肺腫瘍は腺癌であることを確認した。高確率に多数肺癌を形成することから、本マウスは、進行肺癌モデルとして有用と考えられる。

## D. 考察およびE. 結論

進行肺癌患者、進行膵臓癌患者では内因性グレリン産生が増加していた。肺癌患者では化学療法に伴ってグレリン産生が増加している可能性が示唆され、膵臓癌患者では全身状態が不良であるほどグレリン産生が増加していた。これらの患者では薬理量のグレリン投与が全身状態の改善に有効であると期待された。

術前化学療法を行う食道癌患者ではグレリン投与のランダム化プラセボコントロール比較第II相試験を開始した。二重盲検試験であるため、キーオープンまで結果の検討はできないが、症例集積は当初の予想を上回って順調に進捗している。

実験動物を用いた基礎研究では、グレリン欠損マウスでいくつかの細胞増殖・分化に関連した遺伝子発現が変化した。その意義付けにはさらなる検討が必要である。また、進行肺癌として有用な動物モデルを確立した。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Yasuda S, Sawano H, Hazui H, Ukai I, Yokoyama H, Ohashi J, Sase K, Kada A, Nonogi H; J-PULSE Investigators. Report from J-PULSE multicenter registry of patients with shock-resistant out-of-hospital cardiac arrest treated with nifekalant hydrochloride. *Circ J*. 74: 2308-2313, 2010.

2. Koh M, Uemura H, Kada A, Kagisaki K, Hagino I, Yagihara T. Chronologic changes in P-wave characteristics after the Fontan procedure: the effect of surgical modification. J Thorac Cardiovasc Surg. 140: 137-143, 2010.

2. 学会発表  
なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし



## 癌医療におけるグレリンの包括的QOL改善療法の開発研究

研究分担者 松元 信弘

(宮崎大学医学部 内科学講座 神経呼吸内分泌代謝学分野 助教)

癌性カヘキシアに対するグレリン治療のメカニズムを解析するにあたり、当初予定されていた計画を遂行し、次のような結果を得た。既に作成済みである細気管支肺胞上皮特異的Pten欠損マウス（肺腺癌を1年半で自然発症する動物モデル）に化学発癌剤urethaneを腹腔内投与することで、Urethane投与5ヶ月後に肺腺癌を発症する肺癌動物モデルを確立した。

### A. 研究目的

本研究では、進行肺癌における癌性カヘキシアに対するグレリン作用のメカニズムを解明する。肺癌モデル動物を用い、グレリンを反復投与し、摂食量、体重変化、栄養状態、ストレスマーカー、サイトカインの動態を評価する。本研究を実施することにより、進行肺癌に対するグレリンの抗カヘキシア作用の機序を生体内で解析し、投与による癌性カヘキシアに対する治療効果とその作用機構を解明する。本研究は、癌性カヘキシアに対するグレリンの作用機序を分子レベルで解明し、グレリン治療開発に新たな切り口から貢献することを目指す。

現在わが国では、肺癌死亡数は年間約6万6千人にもものぼり、男女ともに肺癌が癌死亡数の一位を占める。進行期肺癌では抗癌剤化学療法が主体となるが、抗癌剤投与に伴う食欲喪失や全身倦怠感など、癌医療に伴う患者および家族の苦痛は甚大である。癌患者の治療継続とQOLの改善を図る治療法の開発は、患者数の増加からも喫緊の課題である。

グレリンはGH分泌促進に作用するペプチドで、エネルギー蓄積、交感神経抑制、抗炎症、心血管保護など、多彩な生理機能を有する。本研究の担当者らは、グレリンの摂食亢進作用 (Nakazato, et al. Nature 2001) やその情報伝達経路 (Date and Nakazato, et al. Cell Metab 2006) を解明した。さら

に、カヘキシアを伴う難治性呼吸器疾患患者にグレリンを投与し、食欲や栄養状態、運動耐容能の改善、筋力増強、抗炎症によるQOLの向上を報告している。これまでにグレリンの創薬に関する研究基盤は十分構築されている。一方、疾患モデル、特に進行肺癌モデルを用いたグレリンの抗カヘキシア作用に対する解析の報告はない。本研究を実施することによりグレリンの治療応用に必要なエビデンスを得ることが可能である。

### B. 研究方法

本年度は、進行肺癌モデルの作成を目指し、以下の方法で研究を展開した。

- 1) 細気管支肺胞上皮特異的に癌抑制遺伝子Ptenを欠損したマウス (10週齢) に化学発癌剤 (Urethane, 1mg/g body weight) を腹腔内投与した。
- 2) Urethane投与5ヶ月後にマウスを麻酔し、肺を摘出し、組織学的検討を行った。

(倫理面への配慮)

本研究において動物を対象とした研究を行うに際しては、本施設の遺伝子組換え実験委員会ならびに動物実験安全委員会の承認を得て、規定に従って実施した。

## C. 研究結果、およびD. 考察

Urethane投与5ヶ月後のマウス肺を解析した結果、高確率 (18匹中17匹(94%)) に両肺に多発する肺腫瘍形成を認めた。組織学的に肺腫瘍は腺癌であることを確認した。高確率に多数肺癌を形成することから、本マウスは、進行肺癌モデルとして有用と考えられる。

## E. 結論

本年度は進行肺癌モデル動物を確立した。今後この動物モデルを用いて、グレリン治療群と対照群に群別化し、体重変化や摂食量、自律神経機能、ストレス関連ペプチドサイトカインの動態を解析することで、グレリン治療の抗カヘキシア作用のメカニズム解明を目指したい。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. 松元信弘、中里雅光: グレリンのトランスレシヨナルリサーチ. 実験医学、29: 803-807, 2011.

### 2. 学会発表

1. 今津善史、芦谷淳一、坪内拡伸、坂元昭裕、今井光一、三好かほり、有村保次、柳 重久、京樂由佳、松元信弘、中里雅光: プレオマイシン急性肺傷害モデルマウスを用いたグレリンの抗炎症作用に関する検討. 第50回日本呼吸器学会学術講演会、ポスター、京都、4月25日、2010.

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

### 1. 特許取得

なし。

### 2. 実用新案登録

なし。

### 3. その他

なし。

[Ⅲ] 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
山口秀樹、 <u>中里雅光</u>	生理活性ペプチド と疾患・臨床応用 Clinical application of biologically active peptides	児島将康、 斎藤祐見子、 <u>中里雅光</u>	実験医学	羊土社	東京	2011	752-758
松元信弘、 <u>中里雅光</u>	グレリンのトラン スレーショナルリ サーチ	児島将康、 斎藤祐見子、 <u>中里雅光</u>	実験医学	羊土社	東京	2011	803-807
松元信弘、 寒川賢治、 <u>中里雅光</u>	グレリンと呼吸器 疾患	永井厚志、 巽 浩一郎、 桑野和義、 高橋和久	Annual Review 呼吸器	中外医 学社	東京	2011	50-56
<u>中里雅光</u> 、 寒川賢治	グレリンの展開医 療研究	寺内康夫、 伊藤 裕、 石橋 俊	Annual Review 糖尿病・ 代謝・内 分泌	中外医 学社	東京	2011	232-237