

20118050A

厚生労働科学研究費補助金

第3次対がん総合戦略研究事業

がん治療の副作用軽減ならびにがん患者の QOL 向上のための  
漢方薬の臨床応用とその作用機構の解明

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者	上園 保仁	(国立がん研究センター研究所)
研究分担者	乾 明夫	(鹿児島大学大学院医歯学総合研究科)
	浅香 正博	(北海道大学大学院医学研究科)
	上田 陽一	(産業医科大学医学部)
	塚田 俊彦	(国立がん研究センター研究所)
	藤宮 峯子	(札幌医科大学医学部)
	樋上 賀一	(東京理科大学薬学部)
	岩瀬 哲	(東京大学医学部附属病院)

平成24(2012)年5月

## 目 次

### I. 総括研究報告

がん治療の副作用軽減ならびにがん患者の QOL 向上のための漢方薬の臨床応用とその作用機構の解明 上園 保仁	1
---	---

### II. 分担研究報告

1. 六君子湯、大建中湯が抗がん剤の副作用、がん悪液質の改善にいたるメカニズムの解明と臨床研究結果の解析 上園 保仁	21
2. 六君子湯、大建中湯のがん悪液質に対する効果のランダムイズドコントロールスタディ及びそのとりまとめ 乾 明夫	31
3. 六君子湯、大建中湯のがん悪液質（特に消化器症状）に対する効果のランダムイズドコントロールスタディ 浅香 正博	35
4. 六君子湯、大建中湯のがん悪液質に及ぼす効果の中枢への関与の解析 上田 陽一	39
5. がん悪液質モデル動物の構築、並びに悪液質発生機序の解明と治療法の開発 塚田 俊彦	43
6. 六君子湯、大建中湯のがん悪液質（特に消化器症状）に対する効果の基礎実験 藤宮 峯子	47
7. がん悪液質モデル動物末梢組織の解析と六君子湯、大建中湯投与による影響 樋上 賀一	51
8. 臨床試験ネットワーク、およびデータセンターの構築 岩瀬 哲	55

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	59
---------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	63
-----------------	----

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）  
総括研究報告書

がん治療の副作用軽減ならびにがん患者のQOL向上のための  
漢方薬の臨床応用とその作用機構の解明

研究代表者 上園 保仁 独立行政法人国立がん研究センター研究所  
がん患者病態生理研究分野 分野長

研究要旨 本研究は、漢方薬である六君子湯・大建中湯の作用メカニズムを基礎レベルで明らかにすること、ならびに同漢方薬の有効性をランダムマイズドコントロールスタディ（RCT）を含む臨床研究を用いて確立するものである。

基礎研究においては、ヒトがん悪液質の診断基準を満たす複数のがん悪液質モデルラットおよびマウスを用いて、六君子湯の効果を調べた。六君子湯は末梢および中枢に作用し、悪液質モデル動物の摂食量を改善し、体重低下を抑制することがわかった。その作用機序として、がん悪液質で起こっているグレリン相対的分泌不全やグレリン抵抗性を六君子湯の陳皮成分ヘスペリジン、蒼朮成分のアトラクチロジンが改善することを動物モデルならびに細胞実験により明らかにした。さらに動物実験により、シスプラチンで胃の異常運動が起こることを見出し、六君子湯の経口投与はそれを改善することを明らかにした。加えて、六君子湯はがん悪液質による脂肪酸合成抑制を解除することを明らかにし、また、直接副腎髄質細胞に働いてカテコラミン合成酵素の発現誘導を促進することで、ストレスに対する反応に対応する可能性を見出した。

一方、臨床研究においては、がん悪液質の症状改善、加えて抗がん剤投与による副作用、特に抗がん剤で起こる消化器症状に六君子湯が有効であるかを明らかにするため、北海道大学ならびに道内の協力病院（14病院）において臨床研究を計画した。今年度は手術不能腫瘍がん患者を対象として六君子湯の食思不振、体重減少の改善効果を調べる臨床試験プロトコールを作成した。次年度より患者登録を行っていく予定である。また、臨床研究の支援として、第三者委員会の「プロトコール審査委員会」および「効果・安全性評価委員会」を研究班内に設置した。Web上で臨床データを取得し、欠損や整合性などのデータチェックを自動で管理するためのシステム（EDC）を利用するため、米国のVanderbilt大学が提供しているREDCap（Research Electronic Data Capture）を導入し、サーバー等

の構築を行った。

研究分担者  
乾 明夫 鹿児島大学大学院医歯学  
総合研究科 教授  
浅香 正博 北海道大学大学院医学研  
究科 特任教授  
上田 陽一 産業医科大学医学部  
教授  
塚田 俊彦 国立がん研究センター研  
究所 分野長  
藤宮 峯子 札幌医科大学医学部  
教授  
樋上 賀一 東京理科大学薬学部  
教授  
岩瀬 哲 東京大学医学部附属病院  
副部長

#### A. 研究目的

平成19年よりがん対策基本法が施行、次いでがん対策基本計画が策定され、がん患者の生活の質（Quality of Life, QOL）の維持向上のための緩和医療ならびにその進展のための研究が行われている。その中で対応が遅れているのが、抗がん剤による悪心嘔吐等の副作用対策、ならびに終末期がん患者に多く見られる「がん悪液質」の症状改善対策である。これらは、がん患者の生命予後やQOL向上のために重要であるにも関わらず、治療法や研究法が十分に確立されていない。

近年漢方薬である六君子湯が、抗がん剤による食欲不振改善効果を有すること、また食思改善ペプチドであるグレリンの分泌を促進することが報告され、六君子湯のがん領域における消化器症状改善効果が注目されている。加えて抗がん剤の悪心嘔吐、便秘に大建

中湯が有効であることがエビデンスを持って示されてきた。

本研究では、①がん患者の抗がん剤療法による副作用の改善、並びにがん悪液質の症状改善に、六君子湯・大建中湯が有効であるかどうかを、細胞ならびに動物モデルを用いて作用メカニズムを明らかにする。加えて②ランダムイズドコントロールスタディ（RCT）を中心とした六君子湯、大建中湯の臨床研究を行い、同薬の臨床における効果を科学的に立証することとした。

#### 1. 六君子湯、大建中湯が抗がん剤の副作用、がん悪液質の改善にいたるメカニズムの解明と臨床研究結果の解析

近年、漢方薬である六君子湯が抗がん剤による食欲不振改善効果を有すること、また食思改善ペプチドであるグレリンの分泌を促進することが報告され、六君子湯のがん領域における消化器症状改善効果が注目されている。また、抗がん剤の悪心嘔吐、便秘に大建中湯が有効であることもエビデンスを持って示されてきた。

昨年度の研究において、低分化型ヒト胃癌細胞株（MKN45）由来のクローン細胞株（MKN45clone85）、および、その腹膜播種性転移株として樹立された85As2細胞をヌードラットに皮下移植することにより、体重減少、摂食量低下などの悪液質に特徴的な症状を示すがん悪液質モデルラット樹立した。

本年度は、同モデルを用いて、六君子湯が摂食改善に有効であるか否かを、予防的観点、あるいは治療的観点の両者を考慮し、予防投与、並びに食思不

振発症後での投与方法を計画した。同実験を通じて、六君子湯が食事改善に有効かどうかを評価し、さらにその作用メカニズムを明らかにするため、がん悪液質動物病態生理および六君子湯のグレリン受容体に対する作用をin vitroの評価系を用いて解析した。

## 2. 六君子湯、大建中湯のがん悪液質に対する効果のランダムイズドコントロールスタディ及びそのとりまとめ

分担項目は、六君子湯、大建中湯のがん悪液質に対する効果のランダムイズドコントロールスタディ及びそのとりまとめであり、本年度は六君子湯を中心に、一部動物実験も施行し、臨床研究の評価項目設定のための基礎研究を継続した。動物実験による六君子湯の研究は、悪液質におけるグレリン抵抗性メカニズムと六君子湯の作用機構に解明を目的とした。また臨床研究では、膵がん例を対象とした後ろ向き調査研究を施行し、六君子湯の効果の確認と同時に、前向き調査研究のプロトコル作成に資することを目的とした。

## 3. 六君子湯、大建中湯のがん悪液質に及ぼす効果の中樞への関与の解析

がん悪液質で特徴的な食思不振、体重減少および嘔気・嘔吐を惹起する脳内メカニズムについて主に視床下部の摂食関連ペプチドに焦点を当てて解明すること、がん悪液質および抗がん剤の副作用に対する六君子湯、大建中湯の効果のメカニズムを脳内神経回路・分子基盤から解明することを目的とした。

## 4. がん悪液質モデル動物の構築、並びに悪液質発生機序の解明と治療法の開発

悪液質実験動物モデルにおける筋萎縮の防止には交感神経ベータ受容体作動薬が有効であることが知られており、副腎髄質からのカテコラミン分泌促進が、がん悪液質の改善に役立つ可能性がある。そこで、がん悪液質において食欲改善のために使用される六君子湯の末梢組織への直接作用を探る研究の一環として、副腎髄質機能に対する六君子湯の影響を検討することとした。

## 5. 六君子湯、大建中湯のがん悪液質(特に消化器症状)に対する効果の基礎実験

抗がん剤でおこる嘔吐は患者のQOLを著しく障害する。本来嘔吐は5-HT<sub>3</sub>受容体拮抗剤の投与で消失することが知られているが便秘などの副作用が避けられない。六君子湯が抗がん剤による嘔吐に効果があるとすれば、きわめて有用な治療法と言える。平成23年度の研究で、抗がん剤投与で起こる消化管運動の異常が六君子湯の前投与で改善されるかどうかを調べた。

## 6. がん悪液質モデル動物末梢組織の解析と六君子湯、大建中湯投与による影響

カロリー制限 (CR) によるやせ (健康長寿を示す) とがん悪液質によるやせの特に脂肪組織における相違点、六君子湯が脂肪組織に及ぼす影響を分子細胞レベルで明らかにする。そして、がん悪液質での脂肪組織の萎縮抑制に対する六君子湯の作用点を明らかにする。

## 7. 六君子湯の食思増進に及ぼす効果の検討、ならびに抗がん剤およびがん悪液質による食思不振に対する効果についての臨床研究

本年度は、がん患者のQOL向上のためのエビデンスを確立するため、臨床試験のプロトコルを立案し、これを完成させ臨床試験を開始することを目的とした。

多施設共同臨床試験の実施のためには、症例登録や症例データを中央で管理し、試験の運営を担う組織が必要とされている。本研究班で計画されている2つの臨床試験において、効率的かつ正確にデータが収集できるよう、また、試験を安全に実施できるよう、医師、薬剤師、生物統計家、データマネージャーなどにより構成されたデータセンター/運営事務局を設立し、研究支援と試験の品質管理を行う。そのためのデータセンターを立ち上げる。

### B. 研究方法

#### 1. 六君子湯、大建中湯が抗がん剤の副作用、がん悪液質の改善にいたるメカニズムの解明と臨床研究結果の解析

##### 1) 新規がん悪液質モデルラットの病態生理研究

###### DNAマイクロアレイ

MKN45clone85および85As2細胞皮下移植によってがん悪液質が誘導される。これら二つの細胞抽出液を用いて、DNAマイクロアレイ (Agilent Whole Human Genome Array、解析ソフト: GeneSpringGX11.5) を実施した。がん悪液質症状に及ぼす腫瘍摘出の効果

85As2細胞移植を行い、悪液質症状発症2週間後ラットの腫瘍を摘出した。細胞移植前からの体重、摂食量および飲水量を毎週測定し、また、5週後に筋肉・脂肪組織重量を測定、血液サンプルを採取後、血中human LIFを測定した。呼吸代謝の測定

85As2細胞移植4週後のラットの呼吸商、自発運動量および体重当たりのカロリー消費量を小動物用代謝計測システムで測定した。対照群は、生理食塩水を皮下投与した非担がん動物とした。グレリン投与による摂食亢進作用

85As2細胞移植2週間後、グレリン (10nmol, i.p.) または生理食塩水を投与し、投与後1時間までの摂食量を測定した。対照群として、生理食塩水を皮下投与した非担がん動物にグレリンまたは生理食塩水を同量投与した。悪液質群および対照群それぞれの群で、生理食塩水およびグレリン投与による影響を比較した。

###### 血中グレリン濃度測定

85As2細胞移植3または4週後のラットの腹部大静脈から血液を採取し、血中グレリン濃度をELISAにより測定した。対照群は、生理食塩水を皮下投与した非担がん動物とした。

##### 2) 新規がん悪液質モデルラットに対する六君子湯の予防的効果および治療的効果の検討

###### 六君子湯の予防的効果の検討

85As2細胞 ( $1 \times 10^6$  cells) を左右腹部に皮下移植後、体重、摂食量を毎週測定した。六君子湯1%混餌を、がん細胞移植1週間前から自由摂取で実験終了まで与えた。対照群 (85As2+CE-2) および正常群 (Saline+CE-2) には、通常食 (CE-2、日本オリエンタル酵母) を

与えた。

### 六君子湯の治療的効果の検討

85As2細胞 ( $1 \times 10^7$  cells) を左右腹部に皮下移植後、体重、摂食量を毎週測定した。悪液質発症後（がん細胞移植2週後）から、六君子湯1g/kg/dayを1日2回7日間経口投与した。対照群（85As2+distilled water）および正常群（saline+distilled water）には、同量の蒸留水を与えた。実験終了後、腹部大静脈から血液を採取し、ELISAキットにより血中グレリン濃度を測定した。

### 3) 六君子湯のグレリン受容体シグナルに対する作用

humanグレリン受容体（GHS-R）安定発現HEK293T細胞あるいはratGHS-R安定発現COS細胞を用い、六君子湯エキス（10-100 $\mu$ g/ml）またはアトラクチロジン（1-30 $\mu$ M）を前処置（2-60分間）し、グレリン（ $3 \times 10^{-10}$ - $1 \times 10^{-7}$ M）添加後のGHS-R特異的シグナルを細胞内カルシウム濃度イメージングアッセイ並びにラベルフリーセルベースアッセイシステム（CellKey™システム）を用いて測定し、六君子湯によるグレリン受容体シグナルへの影響をin vitroで検討した。

### 2. 六君子湯、大建中湯のがん悪液質に対する効果のランダムイズドコントロールスタディ及びそのとりまとめ

動物実験は、我々が以前に報告した吉田肝がん細胞の担がんモデルラットで、六君子湯の悪液質改善効果を体重減少、摂食量減少、筋肉量減少、消化管運動などに焦点を当てて解析を行った。また、六君子湯の作用機序をグレリン受容体発現細胞、コルチコトロピ

ン放出因子（CRF）発現細胞、ニューロペプチドY（NPY）発現細胞を用いて検討した。

化学療法施行中の膵がん症例の中で、1カ月以上の六君子湯投与例とそれ以外の例を対象に、六君子湯の予後に及ぼす影響を検討した。

### 3. 六君子湯、大建中湯のがん悪液質に及ぼす効果の中枢への関与の解析

嘔気を惹起するモデルとして催吐剤（アポモルフィン）を成熟雄性ウイスターラットに皮下投与後、六君子湯、大建中湯を経口投与して視床下部室傍核における*c-fos*遺伝子発現の動態を*in situ*ハイブリダイゼーション法を用いて検討する。さらに、抗がん剤（シスプラチン）を成熟雄性ウイスターラットの腹腔内に投与して短期および長期の体重、摂食量などを測定し、六君子湯の経口投与の影響について解析する。

### 4. がん悪液質モデル動物の構築、並びに悪液質発生機序の解明と治療法の開発

ラット褐色細胞腫由来培養細胞PC12にcAMPにより発現増強する $\beta$ ガラクトシダーゼ遺伝子を導入した細胞（PCVG細胞）を用い、六君子湯がcAMPシグナルに影響を及ぼす解析を行った。また、PC12細胞の六君子湯によるcAMP応答遺伝子の発現変化を調べるために、PCVG細胞の $\beta$ ガラクトシダーゼ活性とともに、カテコラミン生合成の律速酵素であるチロシン水酸化酵素及び血管作動性腸管ペプチド遺伝子のmRNAの定量を行った。さらに細胞からのカテコラミン分泌量を測定した。

## 5. 六君子湯、大建中湯のがん悪液質(特に消化器症状)に対する効果の基礎実験

無麻酔ラットを用いた消化管運動測定装置を用いて、cisplatin (5 mg/kg) 腹腔内投与で胃・十二指腸運動および近位・遠位運動がどのように傷害されるかを調べた。また、cisplatin投与の150分前に六君子湯 (1g/kg) を経口投与した際に、cisplatinでおこる消化管運動の異常がどのように改善されるかを調べた。

## 6. がん悪液質モデル動物末梢組織の解析と六君子湯、大建中湯投与による影響

ラット白色脂肪組織において、カロリー制限により発現量が異なるタンパク質をプロテオーム解析により同定した。次に、同定されたタンパク質群の発現量や酵素活性を、2種の悪液質モデルマウスおよびラットにおいて解析し、カロリー制限と悪液質による相違点を検討した。さらに、胃がん細胞による担がんモデルラットへの六君子湯投与による影響を検討した。

## 7. 六君子湯の食思増進に及ぼす効果の検討、ならびに抗がん剤およびがん悪液質による食思不振に対する効果についての臨床研究

当班で組織されるデータセンターならびに統計専門家らとおもに、「ゲムシタピン投与時がん患者における軽度悪液質または前悪液質状態に対する六君子湯の悪液質進行抑制効果-無作為化第II相比較試験」のフルプロトコールの作成、および「シスプラチンを含む化学療法を施行される子宮がん患者

の食欲不振に対する六君子湯の効果-無作為化第II相比較試験」のプロトコールコンセプトの作成を行った。

生物統計、データマネージメント、また、臨床的な観点から、プロトコール作成に参画し、支援を行った。臨床試験の科学性、倫理性、安全性を担保するために、第三者で構成されるプロトコール審査委員会 (PRC) と効果安全評価委員会 (DSMC) を設置した。臨床試験の経験者を選出して、メンバーには両委員会委員の兼任を依頼した。Web上で臨床データを取得し、欠損や整合性などのデータチェックを自動で管理するためのシステム (EDC) を利用するため、米国のVanderbilt大学が提供しているREDCap (Research Electronic Data Capture) を導入した。

### (倫理面への配慮)

本研究は漢方薬である六君子湯、大建中湯の、細胞レベルでの作用機序解明および動物モデルを用いた実験、ならびにがん患者を対象とした臨床研究より構成される。

基礎研究において、細胞、動物を用いる研究においては、各施設の実験動物倫理審査委員会ならびに遺伝子組み換え実験管理委員会の承認を得ている。

臨床試験においては、臨床研究計画について、研究支援組織の運営委員会と臨床試験審査会、および効果安全性評価委員会での承認後、参加各施設の倫理審査委員会の承認を受けることとなっている。また実施に関しては患者に対するインフォームドコンセントを適切に行う。基礎実験ならびに臨床試験のいずれも、安全対策への注意を払い行うものとする。



## C. 研究結果

1. 六君子湯、大建中湯が抗がん剤の副作用、がん悪液質の改善にいたるメカニズムの解明と臨床研究結果の解析

1) 新規がん悪液質モデルラットの病態生理研究

### DNAマイクロアレイ

MKN45clone85および85As2細胞のDNAマイクロアレイの比較において、全データに共通してDetectedもしくはCompromisedフラグを示した24,066プローブのうち、有意な発現増加は、1832プローブ、有意な発現減少は2194プローブであった。

### がん悪液質症状に及ぼす腫瘍摘出の効果

85As2細胞移植によるがん悪液質モデルラットは、悪液質発症後からの腫瘍摘出により、体重、摂食量低下、飲水量低下、筋肉・脂肪組織重量低下などの悪液質症状が完全に回復した。血中LIF濃度は検出限界以下となった。

### 呼吸代謝の測定

本悪液質モデルラットでは、対照群と比較して、活動期（21:00-翌朝7:00）の自発運動量が低下していた。さらに、悪液質モデルラットでは、自発運動量に差がない安静時（9:00-14:00）において、呼吸商が有意に高く、体重当たりのカロリー消費量が有意に亢進していた。

### グレリン投与による摂食亢進作用

グレリン投与により、対照（非担がん動物）群では、生理食塩水投与と比較して、有意な摂食量の増加が認められたが、悪液質モデルラットでは、グレリン投与による摂食量増加が認めら

れなかった。

### 血中グレリン濃度

悪液質モデルラットは、対照（非担がん動物）群と比較して血中グレリン濃度の有意に高い値を示した。

2) 新規がん悪液質モデルラットに対する六君子湯の予防的効果および治療的効果の検討

85As2細胞移植ラットでは、移植2週目から有意な体重減少および有意な摂食量低下が認められ、悪液質の特徴的な症状を示した（図1）。同群では、4週目でさらに摂食量が低下した。2週目から4週目にかけて体重は減少しなかったものの、正常群との体重差は拡大した。これに対し、六君子湯1%混餌群では、体重には影響なかったが、移植4週目で摂食量低下の有意な改善が認められた（図1）。

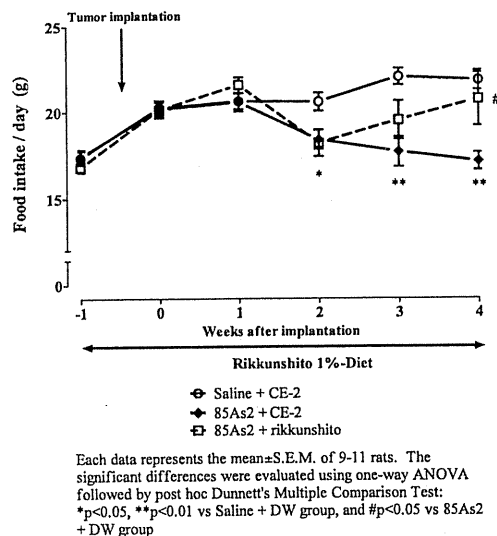
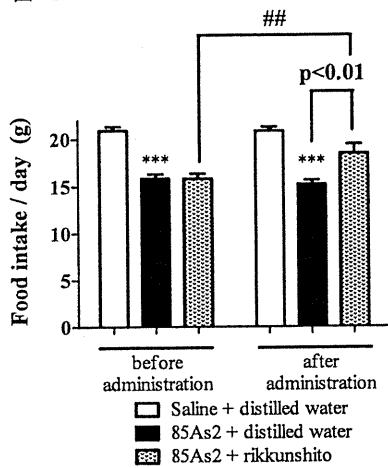


図1 がん悪液質モデルの摂食量低下に対する六君子湯の予防的効果の検討

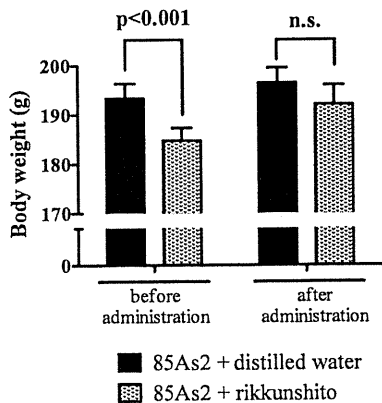
治療効果の検討において、85As2細胞移植ラットは、移植2週目から有意な体重減少および有意な摂食量低下が認められ、予防効果の検討条件よりも重篤な悪液質の症状を示した（図2）。85As2

細胞移植+蒸留水投与群では、7日後の摂食量は低下したままであったが、六君子湯7日間投与群では、摂食量低下の有意な改善が認められた(図2)。さらに、85As2細胞移植+蒸留水投与群で認められた投与前後での有意な体重減少を六君子湯投与群は抑制した(図3)。一方、六君子湯投与群は、悪液質群で上昇していた血中グレリン値に対して影響をおよぼさなかった。



Each column represents the mean±S.E.M. of 10-11 rats. The significant differences were evaluated using unpaired or paired t test: \*\*\*p<0.001 vs post 85As2 +DW group (unpaired), and ##p<0.01 vs pre 85As2+Rikkunshito group (paired)

図2 がん悪液質発症後(摂食量低下)からの六君子湯投与による摂食量改善作用



Each column represents the mean±S.E.M. of 10-11 rats. The significant differences were evaluated using paired t test.

図3 六君子湯投与後の体重減少抑制効果

### 3) 六君子湯のグレリン受容体シグナルに対する作用

CellKey™システムにおける測定において、GHS-R安定発現HEK293細胞へのグレリン添加により、受容体特異的シグナルを検出できた。さらに六君子湯前処置により、グレリン受容体シグナルの増強効果が認められた。

細胞内カルシウム濃度可視化アッセイにおいて、GHS-R発現COS細胞へのグレリン添加により細胞内カルシウム濃度が上昇した。六君子湯前処置により、グレリンによるカルシウムイオン濃度上昇の増強効果が認められた。さらに、六君子湯に含有される43成分のうちグレリンのGHS-Rへの結合を増強させるアトラクチロジンは、六君子湯と同様、グレリン受容体刺激細胞内カルシウムイオン濃度上昇の増強効果を示した。

## 2. 六君子湯、大建中湯のがん悪液質に対する効果のランダムイズドコントロールスタディ及びそのとりまとめ

担がんモデルラットでは、グレリンの相対的分泌低下、サイトカインや炎症を反映する蛋白(CRP)の増加、消化管運動低下を認め、悪液質の病態に関わると考えられた。六君子湯は担がんモデルラットの体重減少、摂食量減少、筋肉量減少、消化管運動低下を改善した。セロトニン(5-HT)は5-HT<sub>2c</sub>受容体を介してCRFの分泌促進、NPY発現を減弱し、摂食を抑制する。六君子湯は5-HT<sub>2c</sub>受容体拮抗作用を介してCRF発現を減弱し、低下したグレリン分泌を回復することで、摂食を促進することが示唆された。また六君子湯は、グレリン受容体発現細胞においてグレリンシ

グナルを増強し、蒼朮に含まれるアトラクチロジンも同様の作用を持つことが示唆された。臨床研究では、腹水を伴う膵がん患者で予後の有意な改善が認められ、古くより認められてきた六君子湯の利尿作用を支持する所見でもあった。

### 3. 六君子湯、大建中湯のがん悪液質に及ぼす効果の中樞への関与の解析

①ラットにアポモルフィンを皮下投与すると視床下部室傍核ニューロンに*c-fos* mRNAが著明に発現した。この増加反応は、六君子湯、大建中湯の経口投与によって抑制されず、むしろ増強反応が見られた。

②ラットにシスプラチンを腹腔内投与後、短期（30, 60, 120, 180分）および長期（24, 48, 72時間）の体重、摂食量などに及ぼす六君子湯の経口投与の影響について検討したところ、短期には影響なく、長期には、48, 72時間後に体重と摂食量の有意な減少および72時間後に血糖値の有意な減少が見られた。

### 4. がん悪液質モデル動物の構築、並びに悪液質発生機序の解明と治療法の開発

六君子湯は用量依存的にPC12細胞内cAMP濃度を上昇させるとともに、アデニルシクラーゼ活性化薬であるforskolinの作用を増強した。また、六君子湯はチロシン水酸化酵素及び血管作動性腸管ペプチドの遺伝子発現を促進した。さらに、六君子湯がPC12細胞からドパミン及びノルエピネフリンの分泌を用量依存的に促進することが確認できた。cAMP依存性遺伝子プロモ-

ーターに対する六君子湯の効果を調べた結果、六君子湯の遺伝子発現に対する作用は転写促進によると考えられた。しかしphosphodiesterase阻害薬などとは異なり、六君子湯はforskolinによる遺伝子発現誘導の最大値を超えてさらに転写活性を増強することはなかったため、phosphodiesterase阻害とは異なる機序により転写を促進すると考えられた。

### 5. 六君子湯、大建中湯のがん悪液質(特に消化器症状)に対する効果の基礎実験

cisplatin投与で胃の空腹期運動が消失し、異常な胃運動の亢進を認めた。十二指腸運動はcisplatinの影響を受けなかった。cisplatinで誘発される空腹期運動の消失は六君子湯の投与でreverseされた。また、cisplatin投与後30分間に見られる異常な胃運動の亢進も六君子湯の投与でreverseされた。一方、cisplatinは近位大腸運動を亢進させ、遠位大腸運動は影響を受けなかった。cisplatinで誘発される近位大腸運動の亢進は、六君子湯の投与でreverseされた。以上の結果より、六君子湯はcisplatinで起こる上部および下部消化管運動の異常を改善することが判明した。

### 6. がん悪液質モデル動物末梢組織の解析と六君子湯、大建中湯投与による影響

プロテオーム解析により、CRモデル白色脂肪組織において、脂肪酸合成関連タンパク質、ピルビン酸/リンゴ酸回路関連タンパク質、ミトコンドリア関連タンパク質の発現が亢進していた。またクエン酸回路に関連するcitrate

synthase活性及び呼吸鎖関連酵素であるcytochrome c oxidase活性の亢進が観察された。以上のようなCRによる発現や酵素活性の変化を2種の悪液質モデルで比較したところ、CRにより増加したfatty acid synthaseの発現が、両悪液質モデルで抑制されていた。また、この抑制は悪液質モデルへの六君子湯の投与により改善傾向を示した。

## 7. 六君子湯の食思増進に及ぼす効果の検討、ならびに抗がん剤およびがん悪液質による食思不振に対する効果についての臨床研究

「ゲムシタビン投与胃癌患者における軽度悪液質または前悪液質状態に対する六君子湯の悪液質進行抑制効果-無作為化第Ⅱ相比較試験」については、フルプロトコールが完成し、プロトコール審査委員会の承認を得て、実質的な研究責任機関である北海道大学病院の自主臨床研究事務局の審査委員会にて審査中である。一方、「シスプラチンを含む化学療法を施行される子宮がん患者の食欲不振に対する六君子湯の効果-無作為化第Ⅱ相比較試験」については、プロトコールコンセプトが運営委員会にて承認され、フルプロトコールが完成し、再び運営委員会にて審査中である。

次の7名の委員を選出し、プロトコール審査委員会/効果・安全性評価委員会を設置した。本班研究の臨床試験が終了するまで両委員会の委員の兼任を依頼した。

委員長：

坪井正博 神奈川県立がんセンター

副委員長：

井上 彰 東北大学病院

委員：

松尾直樹 埼玉県立がんセンター

宮下光令 東北大学病院

口羽 文 ダナ・ファーバー癌研究所

後藤 悌 東京大学医学部附属病院

石木寛人 国立がん研究センター東病院

東加奈子 東京医科大学病院

プロトコールは、研究代表者、研究事務局、データセンター/運営事務局の3者間で本年度4度のプロトコール検討会を開催したのち完成させ、PRCの2度のプロトコール審査を経て、承認された。

EDCシステムの導入については、REDCapを運用するためのサーバー機の構築を行った。また、REDCap上でe-CRFの作成を行った。QOL質問票については、FAACT (Functional Assessment of Anorexia and Cachexia Treatment)、FACT-Hepの使用許可をFACIT.orgより取得した。また、EQ-5D-3Lの使用許可をEuroQol groupより取得した。

## D. 考察

### 1. 六君子湯、大建中湯が抗がん剤の副作用、がん悪液質の改善にいたるメカニズムの解明と臨床研究結果の解析

ヒト胃がん細胞株由来MKN45clone85およびその腹膜播種性転移株85As2により作製したモデルラットは、悪液質に特徴的な、体重減少、摂食量低下、除脂肪量の減少、血中炎症性マーカーの上昇および血中アルブミン値の低下を示し、これは臨床でのがん悪液質研究の診断基準を反映して

おり、がん悪液質研究に適したモデルであると考えられることを昨年度報告した。すべての項目において、85As2細胞接種ラットでは、より重度な悪液質を誘導した。細胞のDNAマイクロアレイの結果から、発現上昇している遺伝子群および減少している遺伝子群が多数示され、これらのうちの遺伝子が悪液質誘導能に寄与する可能性があり、今後の検討を要する。

85As2細胞移植悪液質ラットモデルは、腫瘍摘出により悪液質症状が消失し、血中LIF値も検出限界を示したことから、本モデルにおける悪液質症状発症は、腫瘍由来であり、LIFが起因因子のひとつまたはバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

本モデルでは、体重当たりのカロリー消費が高くなっており、摂食量低下に加え、亢進したエネルギー消費が悪液質の発症の一因となる可能性を示唆している。さらに、本モデルでは、摂食量が低下しているにも関わらず、摂食亢進ペプチドであるグレリンは、血中で高値を示していた。本結果は、多数の臨床データと一致する。グレリン投与による摂食行動が悪液質モデルでは、抑制されていたことから、本モデルではグレリン抵抗性が惹起されている可能性が考えられた。

六君子湯はがん細胞移植前からの予防的な投与においても、がん悪液質発症後からの治療的投与においても、摂食量低下を有意に改善した。また、悪液質の進行による体重低下を抑制した。

上述のように、本モデルではグレリン抵抗性が惹起されているにも関わらず六君子湯が改善作用を示した。六君子湯の改善作用メカニズムを検証すべく、六君子湯のグレリン受容体レベル

での検討を行った結果、細胞内カルシウム濃度可視化アッセイおよびCellKey™アッセイシステムどちらのアッセイ系においても、六君子湯はグレリン受容体シグナルを増強した。六君子湯を構成する8種類の生薬のうちのひとつである蒼朮に含まれるアトラクチロジンは、グレリン受容体にbinding活性を示し、さらに、六君子湯同様、グレリン受容体シグナルを増強したことから、六君子湯の活性成分のひとつである可能性が示唆された。

以上のことから、六君子湯は、より悪性度の高く、カロリー消費亢進およびグレリン抵抗性が起こっている85As2細胞移植によるがん悪液質モデルにおいて予防的投与においても治療的投与においても改善効果を示した。今回の結果から、六君子湯の作用メカニズムのひとつとして、グレリン受容体シグナルの増強によるグレリン抵抗性の改善が関与している可能性が示唆された。本研究結果は、六君子湯の臨床での治療効果を期待させるものであり、がん患者のQOL向上への貢献が期待できる。

## 2. 六君子湯、大建中湯のがん悪液質に対する効果のランダムイズドコントロールスタディ及びそのとりまとめ

がん性悪液質においては、グレリンの相対的分泌不全に加え、グレリン作用の減弱が特徴的である。研究分担者らは六君子湯がこのグレリン抵抗性を改善することを見い出し、動物実験においてその作用機序が蒼朮に含まれるアトラクチロジンによることを示した。六君子湯は内因性のグレリンを刺激すると同時に、グレリン抵抗性を改善し、

その作用機序はがん性悪液質で亢進しているセロトニン (5-HT) 5-HT<sub>2c</sub>受容体拮抗作用が中心であると考えられた。進行腫がん症例の後ろ向き調査研究から、六君子湯は食欲不振や体重増加という悪液質改善効果のみならず、予後の改善効果を有することも示唆され、その臨床的意義は高いと考えられた。

### 3. 六君子湯、大建中湯のがん悪液質に及ぼす効果の中核への関与の解析

今回、催吐剤 (アポモルフィン) をラットに投与して室傍核ニューロン神経活動を*c-fos*遺伝子の発現を指標にして観察した結果、アポモルフィン投与により*c-fos* mRNAが著明に増加したことから、この反応を催吐作用の指標として利用しようと考えられた。抗がん剤 (シスプラチン) の作用について検討したところ、短期 (3時間) の効果はみられず、長期 (48および72時間) においてシスプラチン投与による体重減少、摂食量の減少および血糖値の低下が見られた。さらにこの反応は、六君子湯の経口投与により有意に減弱した。今後、この効果が視床下部摂食関連ペプチドの発現変化と関連しているかどうかについての検討が必要である。

### 4. がん悪液質モデル動物の構築、並びに悪液質発生機序の解明と治療法の開発

六君子湯は食欲増進を目的として、がん悪液質の治療にも用いられるが、その効果の発現機序は必ずしも明らかではない。本研究により、六君子湯が副腎髄質細胞に直接作用して、カテコラミン分泌を促進することが初めて示されたことにより、動物実験から推定

される交感神経ベータ受容体作動薬の筋委縮防止効果を六君子湯に期待できることがわかった。一方、血中カテコラミンの末梢組織に対する基礎代謝促進作用により、悪液質においてさらに筋や脂肪の消耗を来す可能性も否定できない。したがって、筋や脂肪に対する六君子湯の総合的な影響は、生体におけるカテコラミン動態とともに検討する必要があると考えられる。

### 5. 六君子湯、大建中湯のがん悪液質 (特に消化器症状) に対する効果の基礎実験

cisplatinはEC細胞からのセロトニン分泌を刺激し、血中セロトニン濃度を上昇させる事が知られている。一方、胃の運動に関連するセロトニン受容体は5-HT<sub>3</sub>, 4受容体で近位大腸運動に関連する受容体は5-HT<sub>3</sub>受容体である。従って、六君子湯がcisplatinでおこる胃運動や大腸運動の異常を改善するメカニズムとして5-HT<sub>3</sub>, 4受容体の関与が示唆される。しかし、Takeda Hら (Gastroenterology 2008) は、六君子湯の各成分は5-HT<sub>3</sub>や5-HT<sub>4</sub>受容体には作用しないと報告しているため、六君子湯はEC細胞からのセロトニン分泌そのものをブロックしている可能性がある。

### 6. がん悪液質モデル動物末梢組織の解析と六君子湯、大建中湯投与による影響

白色脂肪組織におけるde novo脂肪酸合成系の抑制ががん悪液質病態に関連する可能性および六君子湯によるがん悪液質改善効果の一部がこの抑制を阻害することにある可能性が示唆された。がん細胞はその栄養源を主として糖質に依存している (ワーバーク効果)。

宿主に比較的選択性の高い栄養源である脂質を脂肪組織により合成することが、悪液質に対する耐性に重要である可能性が示唆された。

## 7. 六君子湯の食思増進に及ぼす効果の検討、ならびに抗がん剤およびがん悪液質による食思不振に対する効果についての臨床研究

六君子湯はがん患者の悪液質の進行を抑制、あるいは抗がん剤による食欲不振を改善し、QOLや予後を改善する可能性があるため、本臨床研究において探索的な試験を行い、その結果有用な評価項目が認められれば、それらを主要評価項目に設定してプラセボを用いた多施設共同二重盲検試験を計画し、検証していく。

第三者委員会の設立、また、国際的に認知されているEDCシステムを導入できたことから、臨床研究の科学性・倫理性・効率性の向上に寄与できると考えられ、質の高い多施設共同臨床試験を実施できると思われる。

平成24年4月14日（土）に北海道大学病院にて、研究代表者、研究事務局、データセンター/運営事務局、参加施設研究者が一同に会しKick off meetingが予定されており、その後、各施設のIRBの承認の得た施設から、症例登録を開始する。試験開始後は、データセンター/運営事務局は、モニタリング計画書をもとに定期的に中央モニタリングを実施し、その結果は、モニタリング報告書にて報告される。

## E. 結論

本研究は、漢方薬六君子湯、大建中湯の作用メカニズムを明らかにするこ

と、ならびに同漢方薬の有効性を臨床研究を用いて確立するものである。

基礎研究においては、ヒトがん悪液質の診断基準を満たす複数のがん悪液質モデルラットおよびマウスを用いて六君子湯の効果調べ、六君子湯は悪液質モデル動物の摂食量を改善し、体重低下を抑制することを明らかにした。その作用機序として、がん悪液質で起こっているグレリン分泌不全やグレリン抵抗性を六君子湯成分のヘスペリジン、アトラクチロジンが改善することを明らかにした。また、六君子湯は抗がん剤による消化管異常運動の抑制、ストレス応答へ対応すること、中枢性にも働くことなどを明らかにした。

臨床研究においては、がん悪液質の症状改善、加えて抗がん剤投与による副作用、特に抗がん剤で起こる消化器症状に六君子湯が有効であることを明らかにするため、そのプロトコルを作成した。次年度より患者登録を行っていく予定である。さらに、臨床研究の支援として、第三者委員会の「プロトコル審査委員会」および「効果・安全性評価委員会」を研究班内に設置した。

抗がん剤による悪心嘔吐等の消化器症状改善、体重減少、倦怠感などのがん悪液質の症状改善は、がん患者のQOL向上や生命予後に重要であるにも関わらず、治療法が確立されていない。当班では、六君子湯が抗がん剤による食思不振改善効果を有すること、また食欲改善ペプチドであるグレリンシグナルを増強することを見出した。さらに六君子湯に含まれる成分分析において、消化管機能改善に有効な成分を明らかにした。これらの結果は、がん悪液質の症状改善ならびに抗がん剤の副

作用を軽減する漢方薬の作用を明らかにするのみならず、作用成分をベースに新規薬物の開発への可能性も示唆する。ほとんど副作用を有しない漢方薬が、抗がん剤副作用改善、ならびにがん悪液質症状改善に有効であることが科学的に立証されれば、両漢方薬は薬価収載されており、直ちに臨床現場での広範な応用が可能である。

また次年度開始の臨床研究にて有効なエビデンスが得られれば、がん患者に広く用いられるのみならず、米国などでの海外展開も可能となり、我が国にとって成長産業となる可能性を秘める。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Yokoyama T, Minami K, Sudo Y, Horishita T, Ogata J, Yanagita T, Uezono Y. Effects of sevoflurane on voltage-gated sodium channel Nav1.8, Nav1.7, and Nav1.4 expressed in *Xenopus* oocytes. *J Anesth*, 25 (4): 609-613 (2011).
2. Minami K, Sudo Y, Yokoyama T, Ogata J, Takeuchi M, Uezono Y. Sevoflurane inhibits the  $\mu$ -opioid receptor function expressed in *Xenopus* oocytes. *Pharmacology*, 88 (3-4): 127-132 (2011).
3. Imai S, Sudo Y, Nakamura A, Ozeki A, Asato M, Hojo M, Devi LA, Kuzumaki N, Suzuki T, Uezono Y, Narita M. Possible involvement of  $\beta$ -endorphin in a loss of the coordinated balance of  $\mu$ -opioid receptors trafficking processes by fentanyl. *Synapse*, 65 (9): 962-966 (2011).
4. Narita M, Imai S, Nakamura A, Ozeki A, Asato M, Rahmadi M, Sudo Y, Hojo M, Uezono Y, Devi LA, Kuzumaki N, Suzuki T. Possible involvement of prolonging spinal  $\mu$ -opioid receptor desensitization in the development of antihyperalgesic tolerance to  $\mu$ -opioids under a neuropathic pain-like state. *Addict Biol*, Epub ahead of print (2011).
5. 上園 保仁. がん患者の症状緩和のために-がん悪液質の予防、症状改善をめざす基礎医学研究. *がん患者と対症療法*, 22 (1): 58-63 (2011).
6. 上園 保仁. がん患者の症状緩和に役立つ漢方薬-漢方薬の有効性を示す、臨床につながる基礎研究-. *がん患者と対症療法*, 22 (2): 140-146 (2011).
7. 鈴木 雅美, 上園 保仁. 非ステロイド性鎮痛薬およびアセトアミノフェンによる重篤な副作用. *Anesthesia 21 Century*, 13 (2): 57-61 (2011).
8. 上園 保仁, 須藤 結香. 腸管神経叢に発現している消化管運動制御受容体と、それらをターゲットにした消化管機能改善薬. *医学のあゆみ*, 238 (10): 904-908 (2011).
9. 宮野 加奈子, 上園 保仁, 仲田 義啓. パクリタキセル誘発性末梢神経障害のメカニズム. *ペインクリニック*, 32 (10): 1491-1498 (2011).
10. Uezono Y, Miyano K, Suzuki M, Sudo Y, Shiraishi S, Terawaki K. A review of traditional Japanese medicines and their potential mechanism of action. *Current Pharmacological Design*, in press (2012).
11. Sudo Y, Hojo M, Ando Y, Takada M, Murata H, Kurata S, Kanaide M,



- Nishida N, Uezono Y. GABA<sub>B</sub> receptors do not internalize after baclofen treatment possibly due to lack of the  $\beta$ -arrestin association; a real-time visualization study. *Synapse*, in press (2012).
12. Fujitsuka N, Asakawa A, Uezono Y, Minami K, Yamaguchi T, Niijima A, Yada T, Maejima Y, Sedbazar U, Sakai T, Hattori T, Kase Y, Inui A. Potentiation of ghrelin signaling attenuates cancer anorexia-cachexia and prolongs survival. *Transl Psychiatry*, 1: e23 (2011).
  13. Asakawa A, Ataka K, Fujino K, Chen CY, Kato I, Fujimiya M, Inui A. Ghrelin family of peptides and gut motility. *J Gastroenterol Hepatol*, 26 (Suppl 3): 73-74 (2011).
  14. Terashi M, Asakawa A, Harada T, Ushikai M, Coquerel Q, Sinno MH, Déchelotte P, Inui A, Fetissov SO. Ghrelin reactive autoantibodies in restrictive anorexia nervosa. *Nutrition*, 27 (4): 407-413 (2011).
  15. Sadakane C, Muto S, Nakagawa K, Ohnishi S, Saegusa Y, Nahata M, Hattori T, Asaka M, Takeda H. 10-gingerol, a component of Rikkunshito, improves cisplatin-induced anorexia by inhibiting acylated ghrelin degradation. *Biochem Biophys Res Commun*, 412 (3): 506-511 (2011).
  16. Saegusa Y, Takeda H, Muto S, Nakagawa K, Ohnishi S, Sadakane C, Nahata M, Hattori T, Asaka M. Decreased plasma ghrelin contributes to anorexia following novelty stress. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 301 (4): E685-E696 (2011).
  17. Suzuki H, Hashimoto H, Kawasaki M, Watanabe M, Otsubo H, Ishikura T, Fujihara H, Ohnishi H, Onuma E, Yamada-Okabe H, Takuwa Y, Ogata E, Nakamura T, Ueta Y. Similar changes of hypothalamic feeding- regulating peptides mRNAs and plasma leptin levels in PTHrP-, LIF- secreting tumors-induced cachectic rats and adjuvant arthritic rats. *Int J Cancer*, 128 (9): 2215-2223 (2011).
  18. Yokoyama T, Ohbuchi T, Saito T, Fujihara H, Minami K, Nagatomo T, Uezono Y, Ueta Y. Allyl isothiocyanates and cinnamaldehyde potentiate miniature excitatory postsynaptic inputs in the supraoptic nucleus in rats. *Eur J Pharmacol*, 655 (1-3): 31-37 (2011).
  19. Hashimoto H, Ueta Y. Central effects of ghrelin, a unique peptide, on appetite and fluid/water drinking behavior. *Curr Protein Pept Sci*, 12 (4): 280-287 (2011).
  20. Shimazu S, Nagamura Y, Yaguchi H, Ohkura N, Tsukada T. Correlation of mutant menin stability with clinical expression of multiple endocrine neoplasia type 1 and its incomplete forms. *Cancer Sci*, 102 (11), 2097-2102 (2011).
  21. Shimazu S, Shimatsu A, Yamada S, Inoshita N, Nagamura Y, Usui T, Tsukada T. *Eur J Endocrinol*, 166 (3), 383-390 (2012).
  22. Nagamura Y, Yamazaki M, Shimazu S, Sano K, Tsukada T, Sakurai A. A novel splice site mutation of the *MEN1* gene identified in a patient with primary hyperparathyroidism. *Endocr J*, in press (2012).
  23. Nozu T, Kumei S, Takakusaki K, Ataka K, Fujimiya M, Okumura T. *Neurosci Lett*, 498 (2): 143-146 (2011).
  24. Fujimiya M, Ataka K, Asakawa A, Chen CY, Kato I, Inui A. Ghrelin, des-acyl ghrelin and obestatin on the gastrointestinal motility. *Peptides*, 32

- (11): 2348-2351 (2011).
25. Furness JB, Hunne B, Matsuda N, Yin L, Russo D, Kato I, Fujimiya M, Patterson M, McLeod J, Andrews ZB, Bron R. Investigation of the presence of ghrelin in the central nervous system of the rat and mouse. *Neuroscience*, 193: 1-9 (2011).
  26. Fujimiya M, Ataka K, Asakawa A, Chen CY, Kato I, Inui A. Regulation of gastroduodenal motility: acyl ghrelin, des-acyl ghrelin and obestatin and hypothalamic peptides. *Digestion*, 85 (2): 90-94 (2011).
  27. Matsushima S, Okita N, Oku M, Nagai W, Kobayashi M, Higami Y. An Mdm2 antagonist, Nutlin-3a, induces p53-dependent and proteasome-mediated poly(ADP-ribose) polymerase1 degradation in mouse fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun*, 407 (3): 557-561 (2011).
  28. Uchiumi F, Watanabe T, Hasegawa S, Hoshi T, Higami Y, Tanuma S. The effect of resveratrol on the Werner syndrome RecQ helicase gene and telomerase activity. *Curr Aging Sci*, 4 (1): 1-7 (2011).
  29. 樋上 賀一. 脂質代謝の変化からみたカロリー制限による抗老化・寿命延長作用のメカニズム. *心身医学*, 52 (3): 194-200 (2012).
  30. Nagai W, Okita N, Matsumoto H, Okado H, Oku M, Higami Y. Reversible induction of PARP1 degradation by p53-inducible cis-imidazoline compounds. *Biochem Biophys Res Commun*, 421 (1): 15-19 (2012).
  31. Okita N, Hayashida Y, Kojima Y, Fukushima M, Yuguchi K, Mikami K, Yamauchi A, Watanabe K, Noguchi M, Nakamura M, Toda T, Higami Y. Differential responses of white adipose tissue and brown adipose tissue to caloric restriction in rats. *Mech Ageing Dev*, Epub ahead of print (2012).
  32. Iwase S, Yamamoto D, Kuroda Y, Kawaguchi T, Kitamura K, Odagiri H, Teramoto S, Akazawa K, Nagumo Y. Phase II trial of preoperative chemotherapy for breast cancer: Japan Breast Cancer Research Network (JBCRN)-02 trial. *Anticancer Res*, 31 (4): 1483-1487 (2011).
2. 学会発表
    1. Ohtake N, Ikemura R, Ohbuchi K, Sudo Y, Uezono Y, Yamamoto M. The synergistic effects of herbal pungents 6-gingerol (6GC) 6-shogaol (6SG) and hydroxy  $\alpha$ -sanshool (HAS) on *in vitro* peristaltic motility of isolated rat colon: Lessons from the unique prokinetic activity of Japanese traditional medicine daikenchuto. Digestive Disease Week 2011, Chicago, USA (2011年5月).
    2. 寺脇 潔, 柳原 五吉, 澤田 祐美, 鈴木 雅美, 宮野 加奈子, 須藤 結香, 白石 成二, 上園 保仁. 新規がん悪液質モデルラットの作製及び同モデルに対する漢方薬六君子湯の改善効果. 第16回日本緩和医療学会. 札幌市 (2011年7月).
    3. 鈴木 雅美, 芝田 晋介, 上園 保仁. 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. 幕張市 (2011年9月).
    4. 白石 成二, 宮野 加奈子, 須藤 結香, 鈴木 雅美, 上園 保仁. 脊椎転移によるがん性疼痛モデルラットの検討. 第70回日本癌学会学術総会. 名古屋市 (2011年10月).
    5. 寺脇 潔, 柳原 五吉, 澤田 祐美, 鈴木 雅美, 上園 保仁. 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. 幕張市 (2011年9月).

- 木 雅美, 宮野 加奈子, 須藤 結香, 白石 成二, 上園 保仁. ヒト胃がん細胞による新規がん悪液質モデルおよび漢方薬六君子湯の効果. 第70回日本癌学会学術総会. 名古屋市 (2011年10月).
6. 宮野 加奈子, 白石 成二, 須藤 結香, 鈴木 雅美, 寺脇 潔, 上園 保仁. vinblastineとcarboplatinはPKAを介してhuman TRPA 1を活性化する. 第70回日本癌学会学術総会. 名古屋市 (2011年10月).
  7. Uezono Y. Pain and cachexia. 6th Cachexia Conference, Milan, Italy (2011年12月).
  8. Terawaki K, Yanagihara K, Sawada Y, Kashiwase Y, Suzuki M, Miyano M, Sudo Y, Shiraishi S, Uezono Y. Establishment of novel animal models of cancer cachexia by transplantation of human gastric cancer cell lines and effects of rikkunshito, a traditional Japanese medicine, on the cancer cachexia models. 6th Cachexia Conference, Milan, Italy (2011年12月).
  9. Suzuki M, Ashikawa M, Narita M, Suzuki T, Matoba M, Yanagihara K, Terawaki K, Uezono Y. Changes in the expression of melanocortin receptors and pro-opiomelanocortin in the hypothalamus in a rat model of cancer cachexia. 6th Cachexia Conference, Milan, Italy (2011年12月).
  10. 須藤 結香, 北條 美能留, 宮野 加奈子, 鈴木 雅美, 寺脇 潔, 白石 成二, 西田 教行, 上園 保仁. シグナルペプチド付加HaloTag-GPCRの細胞膜移行と機能的アッセイ. 第85回日本薬理学会年会. 京都市 (2012年3月).
  11. 宮野 加奈子, 白石 成二, 大淵 勝也, 須藤 結香, 鈴木 雅美, 寺脇 潔, 山本 雅浩, 的場 元弘, 上園 保仁. carboplatinによるtransient receptor potential ankyrin 1活性増強作用機序の解明. 第85回日本薬理学会年会. 京都市 (2012年3月).
  12. 芦川 真帆, 鈴木 雅美, 成田 年, 長谷川 実奈美, 鈴木 勉, 的場 元弘, 佐々木 博己, 上園 保仁. 癌性腹膜炎疼痛モデルマウスの脊髄後根神経節における $\mu$ -opioid受容体およびサブスタンスPの発現変化. 第85回日本薬理学会年会. 京都市 (2012年3月).
  13. 村松 俊, 白石 成二, 戸田 亜希子, 茂木 正行, 原 真由美, 川崎 良彦, 谷口 幹雄, 上園 保仁. アセトアミノフェン20 mg/kg経口投与後のラット脳内AM404濃度. 第85回日本薬理学会年会. 京都市 (2012年3月).
  14. 乾 明夫. 癌性悪液質 —最近の進歩を中心に、また統合医療の立場から—. 第12回国際統合医学会 特別講演. 宜野湾市 (2011年4月).
  15. 乾 明夫. 摂食障害の病態と治療の進歩. 第28回医学会総会シンポジウム. 東京都 (2011年4月).
  16. 浅川 明弘, 乾 明夫. 悪液質の研究と臨床の展開 Parathyroid hormone-related proteinの摂食抑制作用. 第84回日本内分泌学会. 神戸市 (2011年4月).
  17. 乾 明夫. 消化管ペプチドによる食欲・体重調節. 第23回糖尿病と血管合併症 up to date. 西宮市 (2011年6月).
  18. 浅川 明弘, 乾 明夫. 摂食障害研究の新たな展開 —末梢における摂食調節ペプチドからのアプローチ—. 第52回日本心身医学会総会. 横浜市

- (2011年6月).
19. 乾 明夫. 悪液質治療における漢方の意義 —六君子湯を中心に—. 第15回日本摂食障害学会. 鹿児島市 (2011年9月).
  20. 乾 明夫. 漢方の先端研究、特に悪液質における六君子湯の作用を中心に. 第12回八ヶ岳シンポジウム. 東京都 (2011年9月).
  21. 乾 明夫. 脳腸相関と摂食行動 —肥満と鏡像関係をなす悪液質病態を中心に—. 第32回日本肥満学会総会. 神戸市 (2011年9月).
  22. 乾 明夫. 漢方の先端研究 —空腹ホルモングレリンに対する六君子湯のデュアルアクションと悪液質への応用を中心に—. 第27回耳鼻咽喉科漢方研究会. 東京都 (2011年10月).
  23. Ohnishi S, Takeda H, Muto S, Nakagawa K, Sadakane C, Saegusa Y, Nahata M, Hattori T, Asaka M. Influence of gender on peripheral ghrelin secretion. —Examination in the aging mice. Digestive Disease Week 2011. Chicago (2011年5月).
  24. Ohnishi S, Takeda H, Muto S, Nakagawa K, Sadakane C, Saegusa Y, Nahata M, Hattori T, Asaka M. Potential new treatment to alleviate chemotherapy anorexia. Digestive Disease Week 2011. Chicago (2011年5月).
  25. Muto S, Takeda H, Ohnishi S, Nakagawa K, Sadakane C, Saegusa Y, Nahata M, Hattori T, Asaka M. Ghrelin resistance in stressed female advanced-age mice. Digestive Disease Week 2011. Chicago (2011年5月).
  26. Takeda H, Muto S, Oridate N, Ohnishi S, Nakagawa K, Sadakane C, Saegusa Y, Nahata M, Hattori T, Asaka M. Impaired gastric emptying in gastroesophageal reflux disease rat model is caused by a reduced response to ghrelin. Digestive Disease Week 2011. Chicago (2011年5月).
  27. Muto S, Takeda H, Ohnishi S, Nakagawa K, Sadakane C, Saegusa Y, Nahata M, Hattori T, Asaka M. Novelty stress-induced anorexia is due to the decrease in the plasma ghrelin level via 5-HT1B/2C-melanocortin-4 system activation. Digestive Disease Week 2011. Chicago (2011年5月).
  28. 横山 徹, 寺脇 潔, 南 浩一郎, 柳原 五吉, 上田 陽一, 上園 保仁. がん悪液質モデルラットでは視索上核大細胞性ニューロンでの浸透圧感受性が変化している. 第70回日本癌学会学術総会. 名古屋市 (2011年10月).
  29. 橋本 弘史, 吉村 充弘, 石倉 透, 藤原 広明, 上園 保仁, 上田 陽一. コレシストキニンおよびアポモルフィン末梢投与によるラット室傍核における*c-fos* mRNA発現の検討. 第89回日本生理学会大会. 松本市 (2012年3月).
  30. 横山 徹, 寺脇 潔, 南 浩一郎, 柳原 五吉, 上園 保仁, 上田 陽一. がん悪液質モデルラットでは視索上核大細胞性神経分泌細胞での浸透圧感受性が変化している. 第89回日本生理学会大会. 松本市 (2012年3月).
  31. 塚田 俊彦, 島津 智子, 永村 優央子, 寺脇 潔, 上園 保仁. 六君子湯はPC12細胞におけるcAMP依存性遺伝子発現を増強する. 第70回日本癌学会学術総会. 京都市 (2011年10月).
  32. 藤宮 峯子. グレリン、デスアシルグレリン、オベスタチンによる上部消