

進行肺癌に対するグレリンの臨床応用と抗カヘキシア作用の解明

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）

研究要旨

本研究では、細気管支肺胞上皮特異的にがん抑制遺伝子である Pten を欠損したマウスの肺腺癌カヘキシアモデルを用いて、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。

生後8週齢の細気管支肺胞上皮特異的 Pten 欠損マウスに化学発癌剤ウレタンを腹腔内投与することで、高確率に肺腺癌を発症する肺癌動物モデルを確立した。ウレタン投与後38週まで観察したところ、Pten 欠損マウスは野生型 Pten マウスに比べて有意に体重が少なく ($p < 0.05$)、生存率も有意に低かった ($p < 0.05$)。この Pten 欠損肺腺癌カヘキシアマウスに対して、ウレタン投与後30週目より、グレリン 20 nmol/日（グレリン投与群）もしくは PBS（対象群）を連日4週間腹腔内投与したところ、グレリン治療群は対象群と比べて、体重 ($p < 0.05$)、摂餌量 ($p < 0.05$)、内臓脂肪量 ($p < 0.05$)、腓腹筋重量 ($p < 0.01$) が有意に増加していた。さらに、自由摂餌したグレリン投与群と PBS 対照群と同量の摂餌に制限したグレリン投与群では、自由摂餌グレリン群が有意に内臓脂肪量と腓腹筋重量が多く、摂餌制限グレリン群は内臓脂肪量、腓腹筋重量において PBS 対照群と同等であった。

A. 研究目的

癌治療は総じて大侵襲で癌患者の全身状態や QOL を損ないやすい。グレリンは摂食亢進だけでなく抗炎症など多彩な作用により、化学療法や大侵襲手術に伴う合併症や副作用を軽減することが期待できる。グレリンの癌患者への臨床応用にあたり、グレリンの生体内がん細胞・組織に対する影響を検証する基礎的研究は重要である。これまでのグレリンの基礎研究は *in vitro* での検証が主体であり、生体内癌組織におけるグレリンの役割に関する知見は十分ではない。肺腺癌発症マウスモデルとグレリン KO マウス、肺転移巣の効果的定量方法を確立し、グレリンの発癌や浸潤、転移

に対する影響を検証することが本研究の目的である。具体的には、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標とする。

B. 研究方法

本年度は、進行肺癌モデルの作製と再現性確認のため、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。Urethane投与5ヶ月後にマウスを麻酔し、肺を摘出し、腫瘍数、腫瘍径の測定ならびに組織学的検討を行った。

(倫理面への配慮)

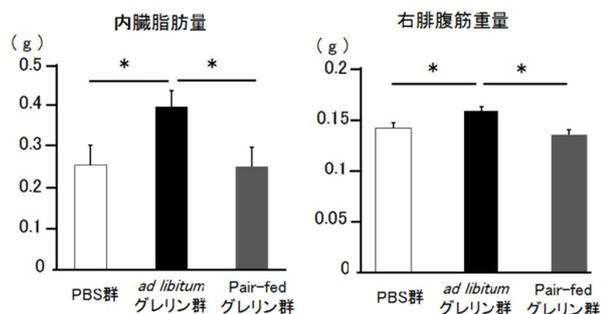
本研究においてマウスを対象とした研究を行うに際しては、本施設の遺伝子組換え実験委員会ならびに動物実験安全委員会の承認を得て、規定に従って実施した。

C. 研究結果、および D. 考察

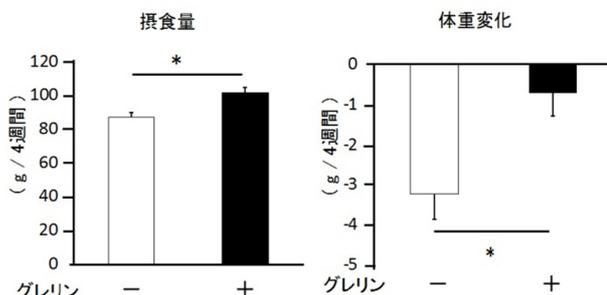
Pten欠損マウスはウレタン投与5ヶ月後に高率に肺腺癌を発症した。一方、野生型は肺腺種のみ発症し、発症数も少なかった。腫瘍数、腫瘍サイズとともにPten欠損マウスにおいて増加・増大していた。

ウレタン投与後38週まで観察したところ、Pten欠損マウスは野生型Ptenマウスに比べて有意に体重が少なく ($p < 0.05$)、生存率も有意に低かった ($p < 0.05$)。

このPten欠損肺腺癌カヘキシアマウスに対して、ウレタン投与後30週目より、グレリン20 nmol/日 (グレリン投与群) もしくはPBS (対象群) を連日4週間腹腔内投与したところ、グレリン治療群は対象群と比べて、体重 ($p < 0.05$)、摂餌量 ($p < 0.05$)、内臓脂肪量 ($p < 0.05$)、腓腹筋重量 ($p < 0.01$) が有意に増加していた。



さらに、自由摂餌したグレリン投与群とPBS対照群と同量の摂餌に制限したグレリン投与群では、自由摂餌グレリン群が有意に内臓脂肪量と腓腹筋重量が多く、摂餌制限グレリン群は内臓脂肪量、腓腹筋重量においてPBS対照群と同等であった。



E. 結論

Pten欠損マウスに化学発癌剤urethaneを腹腔内投与することで、肺腺癌動物モデルを確立した。このモデルでは摂食低下により体重減少を生じ、悪液質を来していると考えられた。このモデルにグレリンを投与することで、摂食量低下と体重減少が抑制され、内臓脂肪量、筋肉量ともに減少が抑制されていた。

F. 健康危険情報

総括研究報告書にまとめて記入。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sakamoto A, Matsumoto N, Arimura Y, Yanagi S, Iiboshi H, Tokojima M, Yamashita S, Nakazato

M: Hepatic portal venous gas in a patient undergoing chemotherapy for non-small cell lung cancer. *Int Canc Conf J*, 2: 14-16, 2013.

2. Matsumoto N, Nakazato M.: Clinical application of ghrelin for chronic respiratory diseases. *Methods Enzymol*, 514: 399-407, 2012.
3. Miki K, Maekura R, Nagaya N, Nakazato M, Kimura H, Murakami S, Ohnishi S, Hiraga T, Miki M, Kitada S, Yoshimura K, Tateishi Y, Arimura Y, Matsumoto N, Yoshikawa M, Yamahara K, Kangawa K.: Ghrelin treatment of cachectic patients with chronic obstructive pulmonary disease: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *PLoS One*, 7: e35708, 2012.
4. 郡山晴喜、京樂 格、山下秀一、塩見一剛 松元信弘、中里雅光：肺小細胞癌に合併し、癌化学療法で改善した傍腫瘍性小脳変性症と Lambert-Eaton 筋無力症候群の同時発症例. *臨床神経学*, 53: 104-108, 2013.
5. 坂元昭裕、松元信弘、中里雅光：グレリンのトランスレーショナルリサーチ. *カレントセラピー*, 30: 21-25, 2012.

2. 学会発表

1. Yanagi S, Imazu Y, Miyoshi K, Tsubouchi H, Matsumoto N, Nakazato M: Ghrelin ameliorates bleomycin-induced acute lung injury by protecting alveolar epithelial cells and suppressing lung inflammation. *European Respiratory Society VIENNA 2012*, Vienna, Austria, Sep.4, 2012. 9.4, Austria.
2. 坂元昭裕, 松元信弘, 郡山晴喜, 坪内拡張, 三好かほり, 有村保次, 柳 重久, 佐野ありさ, 床島真紀, 中里雅光：肺癌化学療法中の血清グレリン値の臨床的意義. 第 109 回日本内科学会総会, ポスター, 京都, 4 月 13 日, 2012.
3. 今津善史, 柳 重久, 三好かほり, 坪内拡張, 松元信弘, 中里雅光：ブレオマイシン急性肺傷害モデルマウスに対するグレリンの肺保護作用. 第 52 回日本呼吸器学会学術講演会, ポスター, 神戸, 4 月 21 日, 2012.

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

