

- chronic psychological stress involves central urocortin 3 and vasopressin in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 303 (4): G519-G528, 2012.
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, 2012.
27. 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.
28. 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.
29. 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*, 133 (5): 255-266, 2012.
30. Chujo Y, Fujii N, Okita N, Konishi T, Narita T, Yamada A, Haruyama Y, Tashiro K, Chiba T, Shimokawa I, Higami Y. Caloric restriction-associated remodeling of rat white adipose tissue: effects on the growth hormone/insulin-like growth factor-1 axis, sterol regulatory element binding protein-1, and macrophage infiltration. *Age (Dordr)*, epub ahead of print, 2012.
31. 藤井波木, 沖田直之, 樋上賀一. カロリー制限による白色脂肪組織を中心とした脂質代謝の活性化. *基礎老化研究*, 36 (2): 31-38, 2012.
32. Mikami K, Okita N, Tokunaga Y, Ichikawa T, Okazaki T, Takemoto K, Nagai W, Matsushima S, Higami Y. Autophagosomes accumulate in differentiated and hypertrophic adipocytes in a p53-independent manner. *Biochem Biophys Res Commun*, 427 (4): 758-763, 2012.
33. 河野透, 上園保仁. 腸管血流からみた大建中湯の役割 アメリカ臨床治験薬TU-100になった理由. *医学のあゆみ*, 241 (2), 163-169, 2012.
34. 河野透. 今日のがん治療を支える漢方薬のエビデンス. In: *がん漢方*. 南山堂, pp16-25, 2012.
35. 掛地吉弘, 河野透. In: *EBMによるがん領域の漢方の使い方*. ライフサイエンス, pp1-49, 2012.
36. Kono T, Kaneko A, Omiya Y, Ohbuchi K, Ohno N, Yamamoto M. Epithelial transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1)-dependent adrenomedullin upregulates blood flow in rat small intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 304 (4): G428-G436, 2013.
37. 河野透. 消化器疾患に対する漢方医料の実際 イレウス. *臨床消化器内科*, 28 (2): 189-196, 2013.
38. Hosaka M, Watari H, Kato T, Odagiri T, Konno Y, Mitamura T, Kikawa S, Suzuki Y, Sakuragi N. Clinical efficacy of paclitaxel/cisplatin as an adjuvant chemotherapy for patients who underwent radical hysterectomy and systematic lymphadenectomy. *J Surg Oncol*, 105 (6): 612-616, 2012.
39. Watari H, Hosaka M, Wakui Y, Nomura E, Hareyama H, Tanuma F, Hattori R, Azuma M, Kato H, Takeda N, Ariga S, Sakuragi N. A prospective study on the efficacy of octreotide in the management of malignant bowel obstruction in gynecologic cancer. *Int J*

- Gynecol Cancer, 22 (4): 692-696, 2012.
40. Dong P, Karaayvazb M, Jiach N, Kaneuchi M, Hamada J, Watari H, Sudo S, Ju J, Sakuragi N. Mutant p53 gain-of-function induces epithelial-mesenchymal transition through modulation of the miR-130b-ZEB1 axis. Oncogene, epub ahead of print, 2012.
 41. Kato T, Watari H, Endo D, Mitamura T, Odagiri T, Konno Y, Hosaka M, Kobayashi N, Todo Y, Sudo S, Takeda M, Dong P, Kaneuchi M, Kudo M, Sakuragi N. New revised FIGO 2008 staging for endometrial cancer produces better discrimination in survival compared with the 1988 staging system. J Surg Oncol, 106 (8): 938-941, 2012.
 42. Hosaka M, Fujita H, Hanley SJB, Sasaki T, Shirakawa Y, Abiko M, Kudo M, Kaneuchi M, Watari H, Kikuchi K, Sakuragi N. Incidence risk of cervical intraepithelial neoplasia 3 or more severe lesions is a function of human papillomavirus genotypes and severity of cytological and histological abnormalities in adult Japanese women. Int J Cancer, 132 (2): 327-334, 2013.
2. 学会発表
1. Kubota K, Ohbuchi K, Ohtake N, Yamamoto M, Sudo Y, Uezono Y. Hydroxy α -sanshool, a major ingredient of TU-100 (Daikenchuto), augments migrating motor complex of proximal colon triggered by other prokinetic stimuli. Digestive Disease Week 2012. San Diego, USA (2012年5月).
 2. 上園保仁. がん患者の生活の質向上のために-がんの痛み、がんのつらさを和らげるための基礎から臨床へのトランスレーショナルリサーチ. 第53回日本心身医学会総会ならびに学術講演会. 鹿児島市 (2012年5月).
 3. Kokubun H, Uezono Y, Matoba M. Novel method for determination of Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) in cancer patient serum by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. 7th World Research Congress of the European Association for Palliative Care. Trondheim, Norway (2012年6月).
 4. 横山徹, 南浩一郎, 寺脇潔, 竹内護, 上園保仁. がん悪液質では中枢での浸透圧感受性が変化している: モデルラットを用いた検討. 日本麻酔科学会第59回学術集会. 神戸市 (2012年6月).
 5. 上園保仁. アセトアミノフェンに関する最近の知見. 第17回日本緩和医療学会学術大会. 神戸市 (2012年6月).
 6. 岩瀬哲, 山口拓洋, 宮路天平, 上園保仁. がん患者の症状コントロールを目的とした医療用漢方薬の使用実態についての全国アンケート調査. 第17回日本緩和医療学会学術大会. 神戸市 (2012年6月).
 7. 鈴木雅美, 成田年, 芦川真帆, 川股知之, 宮野加奈子, 鈴木勉, 的場元弘, 上園保仁. がんの腹膜播種病態下におけるモルヒネ抵抗性メカニズムの解析. 第32回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム. 東京 (2012年9月).
 8. 寺脇潔, 柳原五吉, 澤田祐美, 柏瀬陽平, 鈴木雅美, 宮野加奈子, 須藤結香, 白石成二, 樋上賀一, 上園保

- 仁. ヒト胃がん細胞による新規がん悪液質モデルの確立および病態生理. 第71回日本癌学会学術総会. 札幌市 (2012年9月).
9. 柏瀬陽平, 寺脇潔, 澤田祐美, 須藤結香, 柳原五吉, 鈴木雅美, 宮野加奈子, 白石成二, 樋上賀一, 上園保仁. 新規がん悪液質モデルに対する漢方薬六君子湯の改善効果およびグレリンシグナルを介したメカニズム. 第71回日本癌学会学術総会. 札幌市 (2012年9月).
 10. 宮野加奈子, 白石成二, 鈴木雅美, 須藤結香, 澤田祐美, 寺脇潔, 上園保仁. 抗がん剤carboplatin投与による末梢神経障害にTRPA1チャンネルが関与する. 第71回日本癌学会学術総会. 札幌市 (2012年9月).
 11. 上園保仁, 寺脇潔, 柏瀬陽平, 澤田祐美, 鈴木雅美, 宮野加奈子, 須藤結香, 横山明信, 小柳尚史, 白石成二. がん性悪液質の予防・治療薬の開発-漢方薬を中心とした基礎から臨床にいたる橋渡し研究-. 第6回日本緩和医療薬学会年会. 神戸市 (2012年10月).
 12. 鈴木雅美, 芝田晋介, 光永修一, 的場元弘, 上園保仁, 成田年. がん性疼痛モデル作製とその臨床応用: オールジャパンで展開されるべき緩和医療トランスレーショナルリサーチ. 第6回日本緩和医療薬学会年会. 神戸市 (2012年10月).
 13. 上園保仁, 寺脇潔. 漢方薬「六君子湯」の食思改善ペプチド「グレリン」を介した消化管機能調整作用. 第49回日本臨床生理学会総会. 長崎市 (2012年10月).
 14. 上園保仁. がん治療に求められる漢方薬の役割: 放射線治療への貢献とその期待. 日本放射線腫瘍学会第25回学術大会. 東京 (2012年11月).
 15. 鈴木雅美, 成田年, 芝田晋介, 井上未紀, 田崎慶彦, 的場元弘, 上園保仁. 膵がん腹膜播種疼痛モデルを用いたがんによる神経障害性疼痛の病態生理の解析. 第86回日本薬理学会年会. 福岡市 (2013年3月).
 16. 宮野加奈子, 南浩一郎, 横山徹, 大淵勝也, 山本雅浩, 白石成二, 的場元弘, 上園保仁. がん疼痛治療剤トラマドールはTRPA1活性を選択的に阻害する. 第86回日本薬理学会年会. 福岡市 (2013年3月).
 17. 寺脇潔, 柏瀬陽平, 澤田祐美, 鈴木雅美, 宮野加奈子, 須藤結香, 白石成二, 樋上賀一, 加瀬義夫, 柳原五吉, 上園保仁. 新規がん悪液質モデルにおけるグレリン抵抗性および漢方薬六君子湯によるグレリンシグナルを介した改善効果. 第86回日本薬理学会年会. 福岡市 (2013年3月).
 18. 田崎慶彦, 鈴木雅美, 芝田晋介, 池上大悟, 成田年, 上園保仁. 膵がん腹膜播種モデルマウスの脳内アストロサイトの変化. 第86回日本薬理学会年会. 福岡市 (2013年3月).
 19. Inui A. Ghrelin and energy homeostasis focused on cancer anorexia-cachexia syndrome. The 9th International Symposium on Growth and Nutrition in Children with Chronic Kidney Diseases. San Diego, USA (2012年4月).
 20. 蔡明倫, 浅川明弘, 網谷真理恵, 春田いづみ, 網谷東方, 上園保仁, 山口武人, 新島旭, 矢田俊彦, 乾明夫. 六君子湯によるグレリンシグナル増強と膵癌患者の生存期間延長効果. 第109回日本内科学会総会・講演

- 会. 京都市 (2012年4月).
21. 浅川明弘, 上園保仁, 藤宮峯子, 矢田俊彦, 新島旭, 乾明夫. シンポジウム2 悪液質の進歩 癌性悪液質におけるグレリンシグナルの臨床応用の可能性. 第53回日本心身医学会. 鹿児島市 (2012年5月).
 22. 乾明夫. 『経験』から『科学』へ—明らかにってきた漢方の作用メカニズム—. 第2回市民公開セミナー「がんと漢方薬」のこと 漢方薬の現状とこれから. 東京 (2012年6月).
 23. 乾明夫. 悪液質の最近の進歩—空腹ホルモングレリン—漢方薬六君子湯を中心に—. 独立行政法人産業技術総合研究所 第2回健康工学科学部門研究会. 淡路市 (2012年9月).
 24. 乾明夫. 悪液質の最近の進歩 (特別講演). 第3回新潟がん栄養療法研究会. 新潟市 (2012年10月).
 25. 浅川明弘, 山口武人, 乾明夫. グレリンシグナルの増強は癌性悪液質を改善する. 第54回日本消化器病学会. 神戸市 (2012年10月).
 26. 乾明夫. がん悪液質の最近の進歩. 第36回日本死の臨床研究会. 京都市 (2012年11月).
 27. Ohnishi S, Takeda H, Muto S, Nakagawa K, Sadakane C, Nahata M, Saegusa Y, Hattori T, Asaka M. A study on gender differences in feeding behavior and plasma acyl ghrelin levels in aged mice following exposure to a novel environmental stress. Digestive Disease Week 2012. San Diego, USA (2012年5月).
 28. 大西俊介, 武藤修一, 武田宏司. 性差が末梢グレリン分泌に与える影響—老化マウスにおける検討—. 第98回日本消化器病学会総会 ワークシ
ョップ. 東京 (2012年4月).
 29. 武田宏司, 武藤修一, 大西俊介. グレリンシグナルの定価がGERDにおける胃排出定価に関与する. 第54回日本消化器病学会大会, 神戸市 (2012年10月).
 30. 上田陽一. 悪液質モデル動物における視床下部摂食関連ペプチドの動態. 第53回日本心身医学会総会ならびに学術講演会シンポジウム. 鹿児島市 (2012年5月).
 31. 上田陽一, 吉村充弘, 橋本弘史, 石倉透, 横山徹, 上園保仁. シスプラチン投与におけるラット摂食抑制反応に対する六君子湯の胃内投与効果. 第71回日本癌学会学術総会. 札幌市 (2012年9月).
 32. Ueta Y. Drinking and feeding behavior based on peptides and TRP channels. The 3rd International Symposium of KoSCI & the 2nd AISCRIB. Korea (2012年11月).
 33. 塚田俊彦, 永村優央子, 寺脇潔, 上園保仁. 六君子湯はPC12細胞におけるカテコラミン合成と分泌を促進する. 第71回日本癌学会総会. 札幌市 (2012年9月).
 34. 樋上賀一. 脂肪酸合成関連転写因子 sterol regulatory element-binding protein (SREBP)-1cは絶食耐性遺伝子である. 第101回日本病理学会総会. 東京 (2012年4月).
 35. 湯口景子, 土屋拓郎, 福島麻友美, 沖田直之, 戸田年総, 樋上賀一. カロリー制限によるミトコンドリアバイオジェネシスの経時的変化. 第35回日本基礎老化学会大会. 習志野 (2012年7月).
 36. 福永大地, 森秀一, 久保幸恵, 中山亮, 村瀬尚哉, 宮崎剛, 樋上賀一, 重本和宏. 老齡マウスの筋線維タイ

- プ特異的な筋委縮の病態解明. 第35回日本基礎老化学会大会. 習志野 (2012年7月).
37. 徳永雄紀, 三上健太郎, 沖田直之, 樋上賀一. 肥満における組織特異的オートファジーの解析. 第35回日本基礎老化学会大会. 習志野 (2012年7月).
38. 大塚佑樹, 沖田直之, 寺脇潔, 上園保仁, 樋上賀一, カロリー制限とがん悪液質の白色脂肪細胞組織における応答性の違い. 第56回日本薬学会関東支部大会. 東京 (2012年10月).
39. 武本佳那子, 三上健太郎, 沖田直之, 樋上賀一. 脂肪酸が肝臓細胞のオートファジーに及ぼす影響. 第56回日本薬学会関東支部大会. 東京 (2012年10月).
40. 石川菜摘, 奥美紗子, 永井恒, 鈴木裕規, 沖田直之, 樋上賀一. 脂肪細胞および筋細胞におけるがん抑制遺伝子p53を介したミトコンドリア制御. 第56回日本薬学会関東支部大会. 東京 (2012年10月).
41. 福永大地, 久保幸穂, 森秀一, 宮崎剛, 樋上賀一, 重本和宏. 老齢マウスを用いた加齢性筋委縮の筋線維タイプ特異な筋病態の解析. 第35回日本分子生物学会年会. 福岡 (2012年12月).
42. 藤井波木, 沖田直之, 仲條良和, 小西智一, 成田匠, 樋上賀一. カロリー制限による成長ホルモン非依存的なラット白色脂肪組織のリモデリング. 第35回日本分子生物学会年会. 福岡 (2012年12月).
43. Kono T, Kaneko A, Matsumoto C, Hibino T, Shigenobu T, Fukutake M, Uezono Y. Amelioration of 5-fluorouracil-induced oral mucositis in hamsters by TJ-14 (Hangeshashinto), inhibitor of inducible prostaglandin E2 and proinflammatory cytokine. Digestive Disease Week 2012, San Diego, USA (2012年5月).
44. Kono T, Omiya Y, Kaneko A, Yamamoto M. Intraluminal TRPA1 agonists: an effective means to increase intestinal blood flow. Digestive Disease Week 2012, San Diego, USA (2012年5月).
45. 櫻木範明. 子宮頸がん征圧をめざした予防対策とQOL重視の手術治療. 第19回日本がん予防学会. 岐阜市 (2012年6月).
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
1. 特許取得
 2. 実用新案登録なし。
 3. その他なし。

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）
分担研究報告書

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

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 がん悪液質の症状改善に及ぼす漢方薬の効果を解析するため、ヒトのがん悪液質の診断基準を満たす新規モデル動物を樹立した。ヒト胃がん細胞株MKN45由来85As2細胞接種により作製されたがん悪液質動物モデルに対し、六君子湯は、①がん細胞移植前からの予防的な投与、②悪液質発症後投与という治療的観点を考慮した検討において、いずれにおいても有意な摂食改善効果を示した。食思改善ペプチド、グレリンの血中濃度の測定の結果、グレリン濃度は同悪液質モデルではコントロールに比較し有意に高いことが判明し、本がん悪液質モデル動物ではグレリン抵抗性が惹起されている可能性が示唆された。

今回の実験により、六君子湯は血中グレリン濃度が高いモデル動物においても摂食改善効果を示したことから、六君子湯はグレリン受容体を介するシグナルを増強させることにより摂食改善作用を惹起したことが考えられた。実際にグレリン受容体発現細胞を用いたin vitro研究にて、六君子湯を構成する8種類の生薬のうちのひとつ、蒼朮に含まれるアトラクチロジンにグレリン受容体反応の増強効果があることを明らかにした。

これらの結果から、六君子湯は、グレリンが効きにくいがん悪液質患者の摂食改善に際しても効果を示し、患者のQOLを向上させる可能性が示唆された。

A. 研究目的

平成19年よりがん対策基本法が施行、引き続き第一期がん対策推進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。さらに平成24年には第二期がん対策推進基本計画が策定され、研究推進が図られている。その中でも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、がん領域における六君子湯の消化器症状改善効果が注目されている。

昨年度までの研究において、低分化型ヒト胃がん細胞株 (MKN-45) 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を確立した。これらのがん悪液質モデルにおいて、悪液質誘発因子として知られている炎症性サイトカインInterleukin (IL)-1, IL-6, tumor necrosis factor (TNF)- α およびleukemia inhibitory factor (LIF) の血中濃度を検討したところ、LIFのみが上昇しており、本モデルにおける悪液質誘発因子として示唆された。MKN45clone85および85As2細胞皮下移植によって誘導される悪液質症状は、体重減少、摂食量低下、除脂肪・脂肪・筋肉量減少、血中LIF上昇、血中急性期蛋白の上昇および血中アルブミンの減少などすべてにおいて、85As2細胞移植群が顕著であり、より早期に重度な症状を示す薬効評価に適した新規がん悪液質モデルとして報告した。

本年度は、同新規がん悪液質モデルを用いて、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。

B. 研究方法

1. 新規がん悪液質モデルラットの病態生理研究

(1) 85As2細胞における悪液質誘発能増強メカニズム

(i) DNAマイクロアレイ

MKN45clone85および85As2細胞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。有意な増加を示した遺伝子については、Pathway Studio® (Elsevier) によるパスウェイ解析を行った。

(ii) 細胞培養上清中サイトカイン

MKN45clone85および85As2細胞を24あるいは48時間培養した上清中のhuman IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α 、およびLIFをProcarta® cytokine assay kit (Affymetrix Billerica) で測定した。

(2) 腫瘍摘出の悪液質症状におよぼす影響

85As2細胞移植2週後 (悪液質症状発症後)、麻酔下で腫瘍を摘出し、縫合後に飼育ケージに戻した。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た。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。

(3) 呼吸代謝の測定

85As2細胞移植4週後のラットの呼吸商 (=単位時間当たりの二酸化炭素排

出量÷単位時間当たりの酸素消費量)、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MK-5000RQ(室町機械)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。

(4) 筋肉分解因子の測定

85As2細胞移植4週後のラットの腓腹筋を採取し、ホモジネート後、ISOGEN(Nippon gene Co., Ltd.)によりtotal RNAを抽出し、Real-time polymerase chain reaction(PCR)により、E3 ubiquitin ligasesであるAtrogin-1/MAFbx、MuRF-1を測定した。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。

(5) in situハイブリダイゼーション

85As2細胞移植4週後のラットを断頭後、脳を取り出して凍結切片を作製した。RI(³⁵S)標識したオリゴ合成DNAプローブを用いてin situハイブリダイゼーション法により視床下部paraventricular nucleus(PVN)、arcuate nucleus(ARC)、およびlateral hypothalamic area(LHA)における摂食促進ペプチドneuropeptide Y(NPY)、agouti-related protein(AgRP)およびorexin(ORX)遺伝子、摂食抑制ペプチドproopiomelanocortin(POMC)、cocaine-and amphetamine-regulated transcript(CART)、corticotropin-releasing hormone(CRH)およびmelanin-concentrating hormone(MCH)遺伝子の発現をフィルムオートラジオグラフィーおよび画像解析装置(MCID)により定量化した。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。

(6) グレリン投与による摂食亢進作用

85As2細胞移植2週後(悪液質発症後)、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。

(7) 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

(1) 六君子湯の予防的効果の検討

85As2細胞(1×10^6 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。

(2) 六君子湯の治療的効果の検討

85As2細胞(1×10^7 cells)を左右腹部に皮下移植後、体重、摂食量を毎週測定した。0、2および3週後に、体組成(除脂肪量・脂肪量・体水分量)をImpediVET™ Bioimpedance Spectroscopy device(ImpediMed Limited)で測定した。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。また、筋肉（大胸筋、腓腹筋、前脛骨筋、ヒラメ筋）および脂肪重量（精巣上体・腎臓・腸間膜周辺）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細胞を用いた。GHS-R安定発現細胞に対し、六君子湯エキス（10-100 μ g/ml）またはアトラクチロジン（1-30 μ M）を前処置（2-60分間）し、グレリン（ 3×10^{-10} - 1×10^{-7} M）添加後のGq蛋白共役型GPCR（G protein-coupled receptor）特異的シグナルを細胞内カルシウム濃度可視化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（CellKeyTM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。

（倫理面への配慮）

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においては、当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。

C. 研究結果

1. 新規がん悪液質モデルラットの病態生理研究

(1) 85As2細胞における悪液質誘発能増強メカニズム

(i) 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、85As2細胞における有意な発現増加は、1832プローブ、有意な発現減少は2194プローブであった。有意な発現増加を示した遺伝子に対し、パスウェイ解析を行ったところ、85As2細胞ではtoll-like receptor (TLR) 系のシグナルが活性化していた。

(ii) 細胞培養上清中サイトカイン

MKN45clone85および85As2細胞培養上清中のサイトカインは、IL-1 β 、IL-6およびTNF- α は検出限界以下であった。両細胞培養上清中でIL-8およびLIFが10~1000pg/ml（条件によって異なる）の範囲で検出された。細胞間の比較では、IL-8 : MKN45clone85 > 85As2、LIF : MKN45clone85 < 85As2であった。

(2) 腫瘍摘出の悪液質症状におよぼす影響

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。

(3) 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。

(4) 筋肉分解因子の測定

がん悪液質モデルでは、Atrogin-1/MAFbxおよびMuRF-1が対照群と比較して有意に増加していた。

(5) in situハイブリダイゼーション

がん悪液質モデルでは、摂食亢進ペプチド (NPY and AgRP in the ARC、ORX in the LHA) mRNAが増加、摂食抑制ペプチド (POMC and CART in the ARC、CRH in the PVN、MCH in the LHA) mRNAが減少していた。

(6) 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。

(7) 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 (1×10^6 cells) 移植ラットでは、移植2週目から有意な体重減少 ($93.53 \pm 1.85\%$ vs. 正常群) および有意な摂食量低下 ($86.75 \pm 2.36\%$ vs. 正常群) 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 ($78.92 \pm 2.40\%$ vs 正常群)。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 ($98.06 \pm 1.64\%$ vs. 85As2移植群2週)、正常群との体重差は拡大した ($80.82 \pm 2.53\%$ vs. コントロール群4週)。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 ($93.53 \pm 1.85\%$ vs. 正常群) (図1)。

治療効果の検討において、85As2細胞 (1×10^7 cells) 移植ラットは、移植2週目から有意な体重減少 ($84.33 \pm 1.29\%$ vs.

正常群) および有意な摂食量低下 ($75.73 \pm 2.27\%$ vs. 正常群) 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 ($75.99 \pm 4.40\%$ vs. 正常群)、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 ($93.61 \pm 8.09\%$ vs. 正常群) (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 (図3)、体組成においても除脂肪量および体水分量を増加させ、筋肉量も増加させた。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。血中LIF値に対する影響もおよぼさなかった。

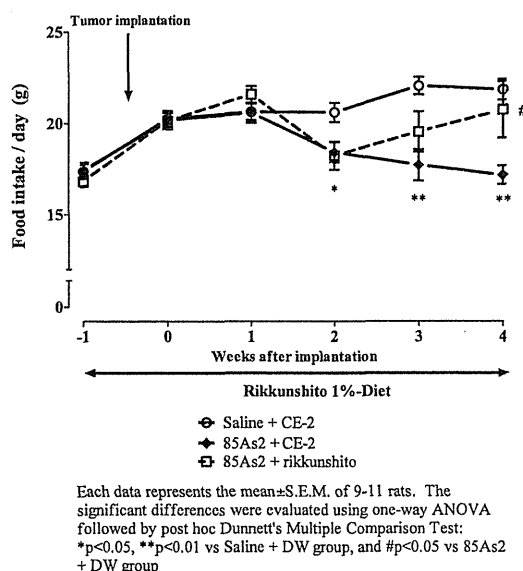
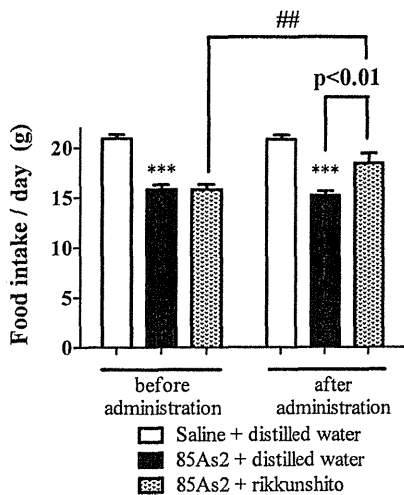
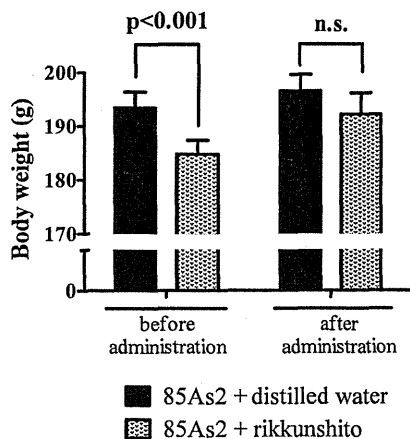


図1 がん悪液質モデルの摂食量低下に対する六君子湯の予防的効果の検討



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、Gq特異的シグナルが示された。六君子湯前処置により、本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安定発現COS細胞へのグレリン添加により細胞内カルシウムイオン濃度の上昇が示された。六君子湯前処置により、本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GHS-Rにbinding活性を示したアトラクチロジンは、六君子湯同様、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。

D. 考察

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までに報告した。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。

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。さらに、細胞自体がLIFを産生することから、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。一方、

MKN45clone85および85As2細胞はIL-8産生を示したが、悪液質動物の血中では検出されなかったため、直接の悪液質誘発因子ではないと考えられた。

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、パスウェイ解析によりTLRシグナルが活性化していることが示唆された。TLR4あるいはTLR5リガンド刺激により、85As2細胞がLIF産生を亢進することを確認しており、TLRシグナル活性化が悪液質誘導能に寄与す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、筋肉分解因子の亢進も確認され、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。本モデルの脳内では、摂食亢進ペプチドが増加、摂食抑制ペプチドが減少しているにも関わらず、摂食量が低下しており、さらには、グレリン投与による摂食行動が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。六君子湯は血中LIF濃度に影響をおよぼさ

なかったため、悪液質誘発因子の抑制による悪液質改善作用ではないと考えられた。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一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一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。

E. 結論

ヒト胃がん細胞株MKN45clone85およびその腹膜播種性転移株85As2細胞により、新しいがん悪液質動物モデルを作製した。両モデルは、臨床での悪液質の診断基準を反映し、がん悪液質の病態生理研究および治療薬の評価に応用可能であると考えられた。より悪

性度の高い85As2細胞による悪液質モデルでは、エネルギー消費亢進やグレルリン抵抗性が起こっていることが示唆された。

六君子湯は、本85As2細胞移植による悪液質モデルに対して、予防的および治療的いずれの投与においても改善効果を示したことから、臨床での治療効果およびがん患者のQOL向上への貢献が期待できると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Suzuki M, Narita M, Ashikawa M, Furuta S, Matoba M, Sasaki H, Yanagihara K, Terawaki K, Suzuki T, Uezono Y. Changes in the melanocortin receptors in the hypothalamus of a rat model of cancer cachexia. *Synapse*, 66 (9): 759-769, 2012.
2. Sudo Y, Hojo M, Ando Y, Takada M, Murata H, Kurata S, Kanaide M, Nishida N, Uezono Y. GABA_B receptors do not internalize after baclofen treatment, possibly due to a lack of β -arrestin association: Study with a real-time visualizing assay. *Synapse*, 66 (9): 759-769, 2012.
3. 上園保仁. 変わる「第二次がん対策推進基本計画」-第一次がん対策推進基本計画実践後の反省をもとに、がん体験者の視点を取り入れて-. *がん患者と対症療法*, 23 (1): 106-113, 2012.
4. Horishita T, Ueno S, Yanagihara N, Sudo Y, Uezono Y, Okura D, Sata T. Inhibition by pregnenolone sulphate, a metabolite of the neurosteroid pregnenolone, of voltage-gated sodium channels expressed in *Xenopus* Oocytes. *J Pharmacol Sci*, 120 (1): 54-58, 2012.
5. 河野透, 上園保仁. 腸管血流からみた大建中湯の役割 アメリカ臨床治療薬TU-100になった理由. *医学のあゆみ*, 241 (2): 163-169, 2012.
6. Suzuki M, Narita M, Hasegawa M, Furuta S, Kawamata T, Ashikawa M, Miyano K, Yanagihara K, Chiwaki F, Ochiya T, Suzuki T, Matoba M, Sasaki H, Uezono Y. The sensation of abdominal pain induced by peritoneal carcinomatosis is accompanied expression of substance P and by changes in the μ -opioid receptors in the spinal cord of mice. *Anesthesiology*, 117 (4): 847-856, 2012.
7. 上園保仁. ここまでわかってきた漢方薬の「なぜ効くの？」と「本当に効くの？」-科学的エビデンスに基づいた、がん患者のQOLを高める漢方薬の効果-. *がん患者と対症療法*, 23 (2): 186-192, 2012.
8. Uezono Y, Miyano K, Sudo Y, Suzuki M, Shiraishi S, Terawaki K. A review of traditional Japanese medicines and their potential mechanism of action. *Curr Pharm Des*, 18 (31): 4839-4853, 2012.
9. Hashimoto H, Uezono Y, Ueta Y. Pathophysiological function of oxytocin secreted by neuropeptides; a mini review. *Pathophysiology*, 19 (4): 283-298, 2012.
10. Iwase S, Yamaguchi T, Miyaji T, Terawaki K, Inui A, Uezono Y. The clinical use of Kampo medicines (traditional Japanese herbal treatments) for controlling cancer patients' symptoms in Japan: a national cross-sectional survey. *BMC Complement Altern Med*, 12: 222, 2012.
11. Minami K, Uezono Y. The recent progress in research on the effects of

anesthetics and analgesics on G protein-coupled receptors. *J Anesthesia*, 27 (2): 284-292, 2013.

12. Motoyama N, Morita K, Kitayama T, Shiraishi S, Uezono Y, Nishimura F, Kanamatsu T, Dohi T. Pain-releasing action of platelet-activating factor (PAF) antagonists in neuropathic pain animal models and the mechanisms of action. *Eur J Pain*, epub ahead of print, 2013.
13. Yanagihara K, Takigahira M, Mihara K, Kubo T, Morimoto C, Morita Y, Terawaki K, Uezono Y. Inhibitory effects of isoflavones on tumor growth and cachexia in newly established cachectic mouse models carrying human stomach cancers. *Nutr Cancer*, in press, 2013.
14. Yoshimura M, Matsuura T, Ohkubo J, Ohno M, Maruyama T, Ishikura T, Hashimoto H, Kakuma T, Yoshimatsu H, Terawaki K, Uezono Y, Ueta Y. The gene expression of the hypothalamic feeding-regulating peptides in cisplatin-induced anorexic rats. *Peptide*, in press, 2013.

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 α -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, 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. 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).
8. Uezono Y. Pain and cachexia. 6th Cachexia Conference, Milan, Italy (2011年12月).
9. 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).
10. 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).
 11. 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).
 12. 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).
 13. 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 μ -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).
 14. 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).
 15. 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).
 16. 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).
- G. 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。

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）
分担研究報告書

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に関するに関する研究

研究分担者 乾 明夫 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
社会・行動医学講座（心身医療科）教授

研究要旨 六君子湯の抗悪液質効果のメカニズムの解析を動物実験で行った。六君子湯は担がんモデル動物の生存期間延長効果を示した。その作用は、悪液質で減弱しているグレリンシグナルを増強することによるもので、蒼朮のアトラクチロジンが重要であると考
えられた。

A. 研究目的

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、本年度も六君子湯を中心に、動物実験を施行し、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の解明に加え、担がんモデル動物の寿命延長効果に対する六君子湯の作用機構の解明を目的とした。

B. 研究方法

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、消化管運動などに加え、生存延長効果とその作用機序に焦点を当てて解析を行い、

マウス大腸がん細胞の担がんモデルマウスでも生存延長効果を観察した。

（倫理面への配慮）

いずれの研究も、当該施設の動物実験倫理委員会、臨床研究倫理委員会の承認を受けた研究であり、倫理に最大限の配慮がなされている。

C. 研究結果

担がんモデルラットでは、体重減少、摂食量減少、筋肉量減少、消化管運動低下、サイトカインや炎症を反映する蛋白（CRP）の増加を認めた。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、CRPの増加を抑制した。担がんモデルラットの生存期間はグレリン受容体拮抗薬により短縮し、六君子湯や六君子湯の蒼朮の含まれるアトラクチロジンの投与により延長するこ

とが示された。また担がんモデルマウスでも六君子湯により生存期間が延長した。アトラクチロジンはグレリンシグナルを増強することが示されており、六君子湯の生存延長効果の一部はグレリンシグナルの増強によるものと考えられた。

D. 考察

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。研究分担者らは動物実験において、六君子湯が内因性のグレリンを刺激すると同時に、グレリンシグナルを増強し、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_{2c} 受容体拮抗作用が中心であることを見出したが、担がんモデルラットでグレリンシグナルの減弱が生存期間短縮に関わること、および六君子湯がこのグレリン抵抗性を改善して生存期間を延長することを複数の動物モデルで確認した。生存期間延長効果の一部が六君子湯に含まれるアトラクチロジンのグレリンシグナル増強作用によることを示した。

E. 結論

六君子湯はがん性悪液質で低下しているグレリン分泌を刺激し、さらにグレリン抵抗性を改善しうる薬剤であり、動物実験でがん性悪液質の病態の改善および生存期間延長効果を持つ薬剤であることを示した。その作用機序は六君子湯の蒼朮の含まれるアトラクチロジンによるグレリンシグナル増強作用によるものが考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Iwase S, Yamaguchi T, Miyaji T, Terawaki K, Inui A, Uezono Y. The clinical use of Kampo medicines (traditional Japanese herbal treatments) for controlling cancer patients' symptoms in Japan: a national cross-sectional survey. BMC Complement Altern Med, 12: 222, 2012.
2. Fujitsuka N, Asakawa A, Amitani H, Hattori T, Inui A. Efficacy of ghrelin in cancer cachexia: clinical trials and a novel treatment by rikkunshito. Crit Rev Oncog, 17 (3): 277-284, 2012.
3. Fujitsuka N, Asakawa A, Amitani H, Fujimiya M, Inui A. Ghrelin and gastrointestinal movement. Ethods Enzymol, 514: 289-301, 2012.
4. Inui A. Editorial: a new horizon of herbal medicines in anorexia-cachexia syndrome. Curr Pharm Des, 18 (31): 4747-4748, 2012.

2. 学会発表

1. Akio Inui. Ghrelin and energy homeostasis focused on cancer anorexia-cachexia syndrome. The 9th International Symposium on Growth and Nutrition in Children with Chronic Kidney Diseases. San Diego, USA (2012年4月).
2. 蔡明倫, 浅川明弘, 網谷真理恵, 春田いづみ, 網谷東方, 上園保仁, 山口武人, 新島旭, 矢田俊彦, 乾明夫. 六君子湯によるグレリンシグナル増強と膵癌患者の生存期間延長効果. 第109回日本内科学会総会・講演会. 京都市 (2012年4月).
3. 浅川明弘, 上園保仁, 藤宮峯子, 矢田俊彦, 新島旭, 乾明夫. シンポジ

ウム2 悪液質の進歩 癌性悪液質におけるグレリンシグナルの臨床応用の可能性. 第53回日本心身医学会. 鹿児島市 (2012年5月).

4. 乾明夫. 『経験』から『科学』へ — 明らかになってきた漢方の作用メカニズム —. 第2回市民公開セミナー「がんと漢方薬」のこと 漢方薬の現状とこれから. 東京 (2012年6月).
5. 乾明夫. 悪液質の最近の進歩 — 空腹ホルモングレリン — 漢方薬六君子湯を中心に —. 独立行政法人産業技術総合研究所 第2回健康工学科学部門研究会. 淡路市 (2012年9月).
6. 乾明夫. 悪液質の最近の進歩 (特別講演). 第3回新潟がん栄養療法研究会. 新潟市 (2012年10月).
7. 浅川明弘, 山口武人, 乾明夫. グレリンシグナルの増強は癌性悪液質を改善する. 第54回日本消化器病学会. 神戸市 (2012年10月).
8. 乾明夫. がん悪液質の最近の進歩. 第36回日本死の臨床研究会. 京都市 (2012年11月).

G. 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

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合研究事業）
分担研究報告書

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

研究分担者 上田 陽一 産業医科大学医学部
第一生理学 教授

研究要旨 動物に抗がん剤を末梢投与することで生じる摂食抑制、視床下部摂食関連ペプチドおよび血中グレリンに対する六君子湯の胃内投与効果を検討した。その結果、六君子湯の投与により摂食抑制作用の有意な減弱、一部の視床下部摂食関連ペプチド発現の有意な変化および血中グレリン濃度の有意な増加を見出した。

A. 研究目的

我々の摂食行動は、末梢からの液性・神経性情報および高次脳機能からの情報が視床下部（摂食中枢および満腹中枢）で統合されることによって調節されている。視床下部ニューロンでは、種々の摂食促進ペプチド・摂食抑制ペプチド（摂食関連ペプチド）を産生しており、摂食行動や代謝調節に重要な分子基盤である。

我々は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で産生される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視床下部摂食関連ペプチドの動態を指標として脳内神経回路・分子基盤から解明することを目的としている。

今年度は、昨年度に得られた知見である動物に抗がん剤を投与して生じる

摂食抑制作用に対する六君子湯の胃内投与効果を再確認し、さらに視床下部における摂食関連ペプチドの発現動態の変化および血中グレリン濃度について検討した。

B. 研究方法

- ① 成熟雄性ウイスター系ラットに生理食塩水もしくは抗がん剤のシスプラチン（6 mg/kg体重）を腹腔内投与して24, 48, 72時間後の体重、摂食量、飲水量および尿量を代謝ケージを用いて測定した。なお、シスプラチン投与前に2回（16時間前および直前）にわたり蒸留水もしくは六君子湯（1g/kg体重）の経口投与を行った。蒸留水＋生理食塩水群、六君子湯＋生理食塩水群、蒸留水＋シスプラチン群、六君子湯＋シスプラチン群の4群を作成し、各群7-8匹を用いた。
- ② ①で作製した4群のラット全てを72時間後に断頭し、脳および体幹血

を採取した。取り出した脳はドライアイス上で凍結後、クリオスタットを用いて薄切切片を作製し、RI(³⁵S)標識したオリゴ合成DNAプローブを用いて*in situ*ハイブリダイゼーション法により視床下部摂食関連ペプチド(oxytocin、CRH、POMC、CART、NPY、AgRP、MCHおよびorexin) 遺伝子の発現変化をフィルムオートラジオグラフィおよび画像解析装置(MCID)により定量化した。

- ③ ②で同時に採取した体幹血は遠心分離後、血漿浸透圧、血糖値、コルチコステロン、active ghrelinおよびdesacyl ghrelinを測定した。

(倫理面への配慮)

産業医科大学動物実験委員会に申請し、承認を得た後に実験を行った。すべての実験前に一週間ハンドリングを行った。視床下部摂食関連ペプチドおよび血中コルチコステロンやグレリンは短時間で変動する可能性があるため、ギロチンを用いてすばやく断頭した。

C. 研究結果

- ① 蒸留水+シスプラチン群において体重および摂食量が有意に減少した。六君子湯+シスプラチン群では、蒸留水+シスプラチン群に比較して体重および摂食量が有意に増加し、蒸留水+生理食塩水群および六君子湯+生理食塩水群と有意差がなくなった。
- ② 蒸留水+生理食塩水群、六君子湯+生理食塩水群、蒸留水+シスプラチン群、六君子湯+シスプラチン群の4群において、oxytocin、AgRPは変化なかった。CRH、NPYは蒸留水+

シスプラチン群で有意に減少し、六君子湯+シスプラチン群でコントロールレベルとなった。POMC、CART、MCH、orexinは蒸留水+シスプラチン群で有意に増加し、六君子湯+シスプラチン群でコントロールレベルとなった。

- ③ 蒸留水+生理食塩水群、六君子湯+生理食塩水群、蒸留水+シスプラチン群、六君子湯+シスプラチン群の4群において、血漿浸透圧、血糖値、コルチコステロン濃度およびdesacyl ghrelin濃度に有意差はなかった。一方、active ghrelinは、六君子湯+シスプラチン群においてのみ有意に増加していた。

D. 考察

抗がん剤の副作用として悪心・嘔気は重要な問題である。

今回、昨年度に見出した抗がん剤シスプラチン投与後の体重、摂食量の有意な減少および六君子湯の経口投与によるこれらの変化の有意な減弱を再確認した。

次にこの六君子湯の作用機序について検討するため、視床下部摂食関連ペプチドの遺伝子発現について検討した。その結果、シスプラチン投与により摂食抑制ペプチドであるPOMC、CARTが弓状核において有意に増加し、摂食促進ペプチドであるNPYが有意に減少していたこと、および六君子湯の投与によりこれらのペプチドの変化がコントロールレベルに回復していたことから、シスプラチン投与による摂食抑制作用および六君子湯の改善効果はこれらのペプチドの変化が原因となって引き起こされたことが示唆される。