

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

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カヘキシア動物モデルを確立した。このモデルにおいて、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、体重減少や筋委縮が抑制され、血液中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 などの炎症性サイトカイン産生が有意に抑制されていた。さらにグレリン投与群では、筋組織中 MuRF-1、Atrogin-1 など筋特異的ユビキチンリガーゼの mRNA 発現が有意に抑制される一方、筋組織中 IGF-1 mRNA 発現は有意に上昇していた。このモデルにおけるグレリンの抗カヘキシア効果は、摂食促進、抗炎症、IGF-1 濃度上昇による可能性が示唆された。

A. 研究目的

癌悪液質は「改善が困難な進行性の筋委縮により種々の機能障害が生じる病態」と定義され、癌患者の予後と QOL を直接左右する。また、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、カヘキシアを来した癌患者の QOL を改善するとともに、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、グレリンの癌との関連研究は *in vitro* が主体であり、生体内癌組織におけるグレリンの役割は未だ不明である。癌カヘキシアモデルや癌

転移モデルを用いた基礎研究は、発癌や転移巣の成立と増大に対するグレリンの作用を *in vivo* で検証することができ、より良い治療適応や新たな臨床展開への足掛かりとなる。

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。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、特に筋委縮に対するグレリン作用のメカニズムを解析する。

B. 研究方法

平成25年度は、前年度までに作成した進行肺癌

カヘキシアモデルを用いて、以下の方法を研究を展開した。

肺腺癌カヘキシアモデルにおいて、38週齢から42週齢までグレリン 10 nmol/bodyを1日2回、腹腔内投与し、グレリンの効果と体重変化、摂餌量、内臓脂肪量、血液中炎症性サイトカイン濃度、腓腹筋横断面積、腓腹筋重量で評価した。さらに、筋組織中の筋特異的ユビキチンリガーゼmRNA発現を検討した。

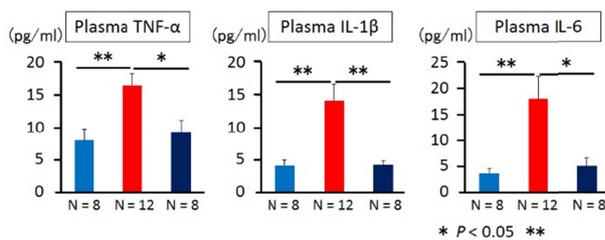
(倫理面への配慮)

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

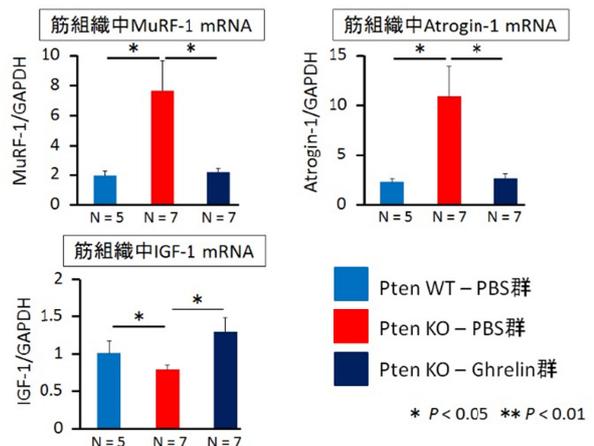
Pten欠損肺腺癌カヘキシアマウスに対して、ウレタン投与後30週目より、グレリン20 nmol/日(グレリン投与群)もしくはPBS(対象群)を連日4週間腹腔内投与したところ、グレリン治療群は対象群と比べて、体重($p < 0.05$)、摂餌量($p < 0.05$)、内臓脂肪量($p < 0.05$)、腓腹筋重量($p < 0.01$)と横断面積($p < 0.05$)が有意に増加していた。

また、グレリン群は対照群に比較して、血液中TNF- α ($p < 0.05$)、IL-1 β ($p < 0.01$)、IL-6 ($p < 0.05$)などの炎症性サイトカイン産生が有意に抑制されていた。



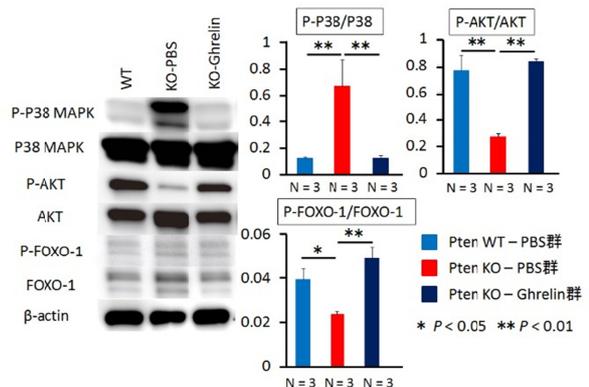
さらにグレリン群では、筋組織中MuRF-1 ($p < 0.05$)、Atrogin-1 ($p < 0.05$)など筋特異的ユビキ

チンリガーゼのmRNA発現が有意に抑制される一方、筋組織中IGF-1 mRNA発現($p < 0.05$)は有意に上昇していた。



IL-1やTNF- α 受容体刺激の下流にあり、筋特異的ユビキチンリガーゼ発現に影響するP38のリン酸化は抑制されていた。IGF-1受容体刺激の下流にあるAKTリン酸化は促進、さらに筋特異的ユビキチンリガーゼ発現に影響を与え、AKTにより核内移行が阻害されるFOXO1の核内移行は抑制されていた。

グレリン腹腔内投与は悪液質における筋萎縮を抑制する



グレリンのカヘキシアにおける筋萎縮抑制効果は、抗炎症作用とIGF-1経路を介した、筋蛋白分解抑制と筋蛋白合成促進による可能性が示唆された。

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、肺腺癌カヘキシア動物モデル

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、摂餌量、体重、筋重量、筋横断面積の減少を抑制し、IL-6などの血中炎症性サイトカイン濃度やAtrogin-1などの筋特異的ユビキチンリガーゼの発現上昇を抑制した。これらの効果は、グレリンの持つ抗炎症作用や、筋組織中のIGF1濃度を上昇させることが関与している可能性が考えられた。

東京 . 4 月 12 日 , 2013 年 .

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

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. Arimura Y, Yamazaki S, Yanagi S, Matsumoto N, Takegami M, Hayashino Y, Fukuhara S, Nakazato M. Clinical usefulness of the two-question assessment tool for depressive symptoms in Japanese patients with chronic obstructive pulmonary disease. Lung, 191: 101-107, 2013.
2. 松元信弘、中里雅光 : グレリンによる摂食調節機構. Anti-Aging Medicine, 10: 36-39, 2014.

2. 学会発表

1. Tsubouchi H, Yanagi S, Matsumoto N, Nakazato M: Ghrelin ameliorates cachectic status in the mouse model of lung cancer model. European Respiratory Society Annual Congress 2013. Poster, Barcelona, 9 月 9 日 , 2013 年 .
2. 坂元昭裕 , 松元信弘 , 郡山晴喜 , 坪内拡張 , 柳 重久 , 飯干宏俊 , 床島真紀 , 中里雅光 : ALI/ARDS におけるグレリンの病態生理学的意義の検討 . 第 110 回日本内科学会総会 ,