

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

高発癌環境におけるグレリンの作用と微小転移巣に対するグレリンの影響

研究分担者 片岡 寛章

（宮崎大学医学部病理学講座 腫瘍・再生 病態学分野 教授）

研究要旨

グレリンのがん患者への臨床応用にあたり、生体内におけるグレリンのがん細胞・組織への影響に関して基礎的知見を得るために、腸管発がんモデル（大腸炎発がんモデルおよび Apc 遺伝子変異発がんモデル）マウスを用いて、グレリン遺伝子欠損の影響と、グレリン投与の影響を検証した。グレリン遺伝子欠損はマウスの大腸炎発がんモデルにおいてその発がん頻度と腫瘍組織型には明らかな影響を与えないことが示された。一方で、形成された腫瘍の大きさについては、グレリン欠損マウスにおいてより大きい腫瘍が形成される傾向を認めた。これに対し、グレリンを投与した場合は形成腫瘍数が顕著に減少し、これはグレリンによる抗炎症効果によるものである可能性が示唆された。一方、Apc 遺伝子変異発がんモデルでは、グレリン遺伝子欠損とグレリン投与いずれも、腫瘍形成に対して有意な影響を示さなかった。なお、これらのモデルでは転移巣形成は認められず、グレリンの転移への影響は検証できなかった。

A. 研究目的

グレリンのがん患者への臨床応用にあたり、生体内におけるグレリンのがん細胞・組織への影響に関して基礎的知見を得る。

B. 研究方法

大腸炎発がんマウスモデルおよび Apc 変異マウス腸管発がんモデルマウスを用い、グレリン遺伝子欠損およびグレリン投与の影響を検証した。

大腸炎発がんモデルにおいては、生後 8 週のマウス（オス）に発癌イニシエーターとしてアゾキシメタン(AOM)を腹腔内単回投与し、その 1 週間後から発癌プロモーターとして 2%デキストラン硫酸 (DSS) 1 週間飲水を 3 回反復投与することに

より、大腸炎を誘発し、大腸発癌モデルとした。グレリン遺伝子欠損 (KO) の影響は、グレリン KO マウス及び野生型マウスを用いて比較した。グレリン投与の影響は、共に野生型マウスを用いて、生理食塩水群とグレリン投与群に分け、グレリン投与群は生理食塩水に溶解したグレリンを、DSS 投与時に腹腔内投与 (3 nmoles/day) した。AOM 投与後 12 週間の時点でマウスを安楽死させ、解剖後、腸管に形成された腫瘍の数を計測し、組織サンプルを採取して解析を行った。Apc 変異モデルは、ApcMin/+を用いた。15 週齢で安楽死させることとし、グレリン投与群は 11 週齢より生理食塩水に溶解したグレリンを腹腔内投与 (3 nmoles/day) した。コントロール群は生

理食塩水を腹腔内投与した。また、グレリン遺伝子欠損の影響は、グレリン KO マウスと ApcMin/+ マウスを交配することでグレリン KO/ApcMin/+ マウスを作成し、検証した。

(倫理面への配慮)

すべての動物実験は動物愛護と生命倫理の精神に基づき、学内委員会の認可を受けたうえで行った(承認番号 2010-544-4)。また、遺伝子組み換え実験においても学内委員会の認可を受けたうえで行った(承認番号 253)。

C. 研究結果

グレリン KO マウス (n=11) 及び野生型マウス (n=10) に大腸炎発がんモデルを作成し比較したところ、大腸に形成された腫瘍数は野生型マウス群が平均 5.1 個、グレリン KO マウス群が平均 4.7 個であり、両群に差はみられなかった。しかし、腫瘍サイズは KO マウスの方が大きい傾向にあり、野生型マウスは KO マウスと比較して、計 2mm 以下の小さな腫瘍が有意に多かった。なお、両群ともに転移巣の形成は見られなかった。グレリン受容体 mRNA については、野生型マウス、KO マウスどちらの腫瘍組織でも GHSR1b が発現していた。また、コントロールマウスの腫瘍組織にはグレリン mRNA の発現を認めた。

次に、野生型マウスを用いて、大腸炎発がんモデルにおけるグレリン投与の意義について検討した。投与群 (n=11) と非投与群 (n=9) の比較では、投与群と非投与群において形成された大腸腫瘍(組織学的には腺癌)の数はそれぞれ 3.1 個と 0.2 個であり、グレリン投与群では腫瘍形成が顕著に抑制されていることが明らかとなった。両群においてグレリン受容体 mRNA の発現には差は見られなかったが、DSS 投与後にみられる炎症性サイトカイン (TNF α 、IL-1 β) の発現は、特に近位大腸において、グレリン投与群で低い傾向が認め

られた。なお、両群ともに転移巣の形成は見られなかった。

Apc 変異マウスを用いた実験では、グレリン投与あるいはグレリン遺伝子欠損によって腫瘍形成数の有意な相違は観察されなかった。

D. 考察

大腸炎発がんマウスモデルにおいて、グレリン投与は有意に発癌を抑制した。一方で、Apc 変異モデルにおいてはグレリン投与が腫瘍形成に対して影響を示さなかったことから、マウス大腸大腸炎発がんモデルにみられたグレリン投与による発がん抑制は、グレリンが有する抗炎症作用に起因していると考えられた。

一方で、グレリン遺伝子の欠損は、大腸炎発がんモデルおよび Apc 変異モデルいずれにおいても、腫瘍形成に対して有意な影響を及ぼさなかった。これらのことは、先天的なグレリン欠損に対して、生体が何らかの代償的反応ないしは適応を行っている可能性を示唆しているかもしれない。

E. 結論

マウス大腸炎発がんモデル (AOM/DSS 2-step carcinogenesis model) において、グレリン投与は発癌頻度を顕著に抑制する。また、マウス Apc 変異モデルにおいては、グレリン投与やグレリン遺伝子の有無は腫瘍形成に対して影響を示さなかった。以上の結果は、生体内に高発がん環境を有する患者に対するグレリン投与が、新たな発がんを誘導する可能性は低いことを示している。

F. 健康危険情報

総合研究報告書にまとめて報告。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Fukushima T, Kawaguchi M, Yamasaki M, Tanaka H, Yorita K, Kataoka H. Hepatocyte growth factor activator inhibitor type 1 suppresses metastatic pulmonary colonization of pancreatic carcinoma cells. Cancer Sci, 102:407-413, 2011.

2. 学会発表

1. Kataoka H, Kawaguchi M, Kanemaru A, Fukushima T, Matsumoto N, Nakazato M. Ghrelin administration suppresses inflammation-associated colorectal carcinogenesis in mice. The 105th Annual Meeting of the American Association of Cancer Research, poster, San Diego, April 5-9, 2014
2. 川口真紀子、金丸 愛、福島 剛、中里雅光、片岡寛章：腸管発癌におけるグレリンの影響。第35回日本分子生物学会年会，福岡，12月11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

