

- 祐美, 鈴木雅美, 宮野加奈子, 須藤結香, 横山明信, 小柳尚史, 西村瞳, 白石成二. がん性悪液質モデル動物を用いた研究 -悪液質の症状緩和に役立つ漢方薬とそのメカニズム解明-. 第7回日本緩和医療薬学会年会. 幕張 (2013年9月).
11. 鈴木雅美, 千脇史子, 澤田祐美, 柳原五吉, 中釜斉, 上園保仁, 佐々木博己. オピオイド増殖因子シグナルの阻害は、細胞周期のRecyclingによって胃癌細胞へのドセタキセルの抗腫瘍効果を増強する. 第72回日本癌学会学術総会. 横浜 (2013年10月).
 12. 森田克也, 本山直世, 白石成二, 上園保仁, 土肥敏博. 血小板活性化因子 (PAF) 阻害薬によるがん性疼痛緩和作用. 第72回日本癌学会学術総会. 横浜 (2013年10月).
 13. 千脇史子, 鈴木雅美, 澤田祐美, 濱口哲弥, 山田康秀, 島田安博, 柳原五吉, 坂本裕美, 松崎圭祐, 上園保仁, 吉田輝彦, 佐々木博己. マウス腹膜中皮細胞とヒト未分化型胃癌細胞の異種間細胞相互作用系の評価. 第72回日本癌学会学術総会. 横浜 (2013年10月).
 14. 人見涼露, 小野堅太郎, 宮野加奈子, 上園保仁, 的場元弘, 稲永清敏. 口内炎ラットにおける口腔内疼痛発症機構解明. 第64回西日本生理学会. 北九州 (2013年10月).
 15. 上園保仁. がん患者のQOLの維持・向上に貢献する漢方薬 -基礎・臨床研究を通して明らかになってきたエビデンス-. 第51回日本癌治療学会学術集会. 京都 (2013年10月).
 16. 宮野加奈子, 白石成二, 鈴木雅美, 的場元弘, 上園保仁. 抗がん剤カルボプラチンによる末梢神経障害にTRPA1の感受性亢進が関与する. 第43回日本神経精神薬理学会年会. 沖縄 (2013年10月).
 17. 山本雅浩, 久保田訓世, 河野透, 上園保仁. KCNKs阻害による消化管運動亢進作用: 局所麻酔薬および大建中湯による大腸運動促進の新規メカニズム. 第15回日本神経消化器病学会. 島根 (2013年11月).
 18. 柏瀬陽平, 寺脇潔, 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ラットでのグレリン抵抗性の発現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症状改善効果. 第66回日本薬理学会西南部会. 福岡 (2013年11月).
 19. 横山明信, 須藤結香, 平山重人, 樋上賀一, 藤井秀明, 上園保仁. オピオイドリガンドの新規スクリーニング法確立と同法を用いたδ受容体サブタイプとオピオイド受容体ヘテロダイマーの相関解析. 第66回日本薬理学会西南部会. 福岡 (2013年11月).
 20. Uezono Y. Traditional Japanese herbal medicines (Kampo Medicine) synergistically and cooperatively improve cachexic symptoms caused by cancer cells. Scientific evidence from basic medical researches. 7th Cachexia Conference. Kobe (2013年12月).
 21. Kashiwase Y, Terawaki K, Yanagihara K, Suzuki M, Miyano K, Shiraishi S, Higami Y, Kase Y, Uezono Y. Establishment of novel animal models of cancer cachexia by

- implantation of human gastric cancer cell lines. 7th Cachexia Conference. Kobe (2013年12月).
22. Terawaki K, Kashiwase Y, Suzuki M, Miyano K, Yanagihara K, Shiraishi S, Higami Y, Kase Y, Uezono Y. A novel cachexia cachexia rat model with possible ghrelin resistance generated by implantation of a human gastric cancer-derived 85As2 cell line: a traditional Japanese medicine rikkunshito ameliorates cachexia symptoms by potentiation of ghrelin receptor-mediated signaling. 7th Cachexia Conference. Kobe (2013年12月).
 23. 上園保仁. がん悪液質による消化器症状を改善する六君子湯 -そのメカニズムの解明と臨床応用. 第7回国際カヘキシアカンファレンス 種子島シンポジウム. 種子島 (2013年12月).
 24. 宮野加奈子, 人見涼露, 金子篤, 小野堅太郎, 河野透, 寺脇潔, 白石成二, 大宮雄司, 稲永清敏, 上園保仁. 新規口内炎モデルを用いた新たな対処法に関する研究. 第87回日本薬理学会年会. 仙台 (2014年3月).
 25. 上園保仁, 鈴木雅美, 白石成二, 宮野加奈子. オピオイドの効きにくいがん性腹膜炎の痛みのメカニズム解明ならびに作用機序に基づく奏効薬の選択. 日本麻酔科学会第61回学術集会. 横浜 (2014年5月).
 26. 上園保仁. がん患者のQOLを向上させる漢方薬 -基礎研究および臨床研究を通して明らかになってきたエビデンス-. 第19回日本緩和医療学会学術大会. 神戸 (2014年6月).
 27. Asakawa A, Fujitsuka N, Uezono Y, Minami K, Yamaguchi T, Nijima A, Yada T, Maejima Y, Sedbazar U, Sakai T, Hattori T, Kase Y, Inui A. The herbal medicine rikkunshito in cancer anorexia-cachexia: impact on survival and relationship to ghrelin signaling. 7th Cachexia Conference. Kobe (2013年12月).
 28. 乾明夫. 癌の緩和医療と漢方. 第19回岐阜東洋医学研究会. 岐阜 (2013年1月).
 29. 乾明夫. 死の生理学に関するエビデンス -食の立場から- 第18回日本緩和医療学会学術大会ランチョンセミナー. 横浜 (2013年6月).
 30. 乾明夫. 緩和医療と漢方薬 -エビデンスを中心に-. 第22回ひむか東洋医学会学術講演会. 宮崎 (2013年11月).
 31. 乾明夫. 悪液質のトピックス -癌を中心に-. 第18回日本心療内科学会総会. 名古屋 (2013年12月).
 32. 乾明夫. がん悪液質と食欲調節ホルモン. 第51回日本癌治療学会シンポジウム. 京都 (2013年10月).
 33. 乾明夫. がん悪液質の病態と治療 Cross Cancer Research Symposium 2013. 東京 (2013年11月).
 34. 大西俊介, 武藤修一, 坂本直哉, 武田宏司. 新奇環境ストレスによる老齢動物の摂食低下における5-HT_{2C}受容体の関与と六君子湯の効果. 第15回日本神経消化器病学会. 出雲 (2013年11月).
 35. 大西俊介, 武藤修一, 武田宏司. ストレスによる老齢動物の摂食低下には5-HT_{2C}受容体の機能亢進が関与する. 第21回日本消化器関連学会週間. 東京 (2013年10月).
 36. 上田陽一, 吉村充弘, 橋本弘史. 抗がん剤シスプラチン投与によるラット摂食抑制作用~視床下部関連

- ペプチドによる検討～. 第23回日本病態生理学会大会. 東京 (2013年8月).
37. 上田陽一, 吉村充弘, 森昌朋. 脱水誘発性摂食抑制反応に関する分子機構: 第18回アディポサイエンス・シンポジウム. 大阪 (2013年8月).
 38. 上田陽一, 橋本弘史, 横山徹, 上園保仁. シスプラチン誘発拒食ラットの摂食およびグレリン分泌に対する六君子湯の作用. 第72回日本癌学会学術総会. 横浜 (2013年10月).
 39. 萩本真理奈, 吉村充弘, 松浦孝紀, 大久保淳一, 大野素子, 丸山崇, 石倉透, 橋本弘史, 加隈哲也, 吉松博信, 寺脇潔, 上園保仁, 豊平由美子, 柳原延章, 上田陽一. 視床下部セロトニン枯渇モデルラットにおける摂食関連ペプチド遺伝子発現の変化. 第64回西日本生理学会. 北九州 (2013年10月).
 40. 吉村充弘, 松浦孝紀, 大久保淳一, 丸山崇, 橋本弘史, 加隈哲也, 吉松博信, 森昌朋, 上田陽一. 脱水誘発性摂食抑制反応に対するNesfatin-1/NucB2の役割. 第40回日本神経内分泌学会学術集会・第38回日本比較内分泌学会大会合同大会. 宮崎 (2013年10月).
 41. Yoshimura M, Matsuura T, Ohkubo J, Ohno M, Maruyama T, Ishikura T, Kakuma T, Yoshimatsu H, Mori M, Ueta Y. Nesfatin-1/NucB2 is a crucial peptide in dehydration-induced anorexia in rats. 10th World Congress on Neurohypophysial Hormones. Bristol, England (2013年7月).
 42. Yoshimura M, Matsuura T, Ohkubo J, Ohno M, Ishikura T, Kakuma T, Yoshimatsu H, Mori M, Ueta Y. Nesfatin-1/NucB2 is a crucial peptide in dehydration-induced anorexia in rats. The 36th Naito Conference on Molecular Aspects of Energy Balance and Feeding Behavior. Sapporo (2013年9月).
 43. Ueta Y, Yoshimura M, Uezono Y. Effects of oral administration of Rikkunshito on cisplatin-induced anorexia in rats. 7th Cachexia Conference. Kobe (2013年12月).
 44. 上田陽一, 吉村充弘, 橋本弘史, 將口加奈子, 横山徹, 上園保仁. セロトニン枯渇モデルラットにおけるシスプラチン誘発性拒食および六君子湯の胃内. 第73回日本癌学会学術総会. 横浜 (2014年9月).
 45. Tsukada T, Nagamura Y, Terawaki K, Uezono Y. Cyclic AMP production is enhanced in pituitary cells by a traditional Japanese medicine rikkunshito. 第72回日本癌学会総会. 横浜 (2013年10月).
 46. 水之江雄平, 三上健太郎, 沖田直之, 須藤結香, 樋上賀一. 脂肪細胞におけるオートファジーの役割. 第36回日本基礎老化学会大会. 大阪 (2013年6月).
 47. 土屋拓郎, 沖田直之, 須藤結香, 樋上賀一. カロリー制限がミトコンドリアおよび脂質代謝に及ぼす影響の経時的解析. 第36回日本基礎老化学会大会. 大阪 (2013年6月).
 48. 成田匠, 藤井波木, 沖田直之, 須藤結香, 樋上賀一. Srebp-1cはカロリー制限 (CR) による抗老化・寿命延伸効果に重要である. 第36回日本基礎老化学会大会. 大阪 (2013年6月).
 49. 樋上賀一. 脂肪細胞におけるオートファジー. 第102回日本病理学会

- 総会. 札幌 (2013年6月).
50. Mizunoe Y, Mikami K, Okita N, Narahara T, Negishi A, Yoshida M, Sudo Y, Higami Y. Autophagic flux is suppressed via ROS in differentiated and hypertrophic adipocytes. APDO Symposium 2013. Tokyo (2013年10月).
 51. Fujii N, Okita N, Chujo Y, Narita T, Sakai M, Sudo Y, Higami Y. Srebp-1c is required for life-long caloric restriction-induced mitochondrial biogenesis in white adipose tissue of mice. APDO Symposium 2013. Tokyo (2013年10月).
 52. 鈴木裕規, 永井亘, 沖田直之, 岡戸仁志, 田川亮真, 須藤結香, 樋上賀一. 新規肥満応答性E3ユビキチンリガーゼWWP1の脂肪細胞における機能解析. 第18回アディポサイエンスシンポジウム. 大阪 (2013年8月).
 53. 樋上賀一, 藤井波木, 成田匠, 酒井将弘, 須藤結香, 沖田直之. カロリー制限によるSrebp-1cを介した代謝のリモデリング. 第18回アディポサイエンスシンポジウム. 大阪 (2013年8月).
 54. 須藤結香, 水之江雄平, 三上健太郎, 奈良原誠大, 根岸亜梨沙, 吉田実樹, 沖田直之, 樋上賀一. オートファジーは脂肪細胞におけるアディポカイン分泌バランスを改善する. 第18回アディポサイエンスシンポジウム. 大阪 (2013年8月).
 55. Kono T, Kaneko A, Matsumoto C, Miyagi C, Ohbuchi K, Mizuhara Y, Miyano K, Uezono Y. Multi-target prevention of chemotherapy-induced oral mucositis by hangeshashinto: PGE2 and cell migration in human oral keratinocytes. Digestive Disease Week 2013. Orland, USA (2013年5月).
 56. Kono T, Nishiyama M, Kaneko A, Yamamoto M, Ueno N, Kohgo Y, Uezono Y. Small intestinal microbiota of colonic IBD patients may have the altered gut microenvironment enabling selective enrichment of certain bacterial populations : Implications of microbiome analysis on ileal effluent samples collected from ileostomy patients. Digestive Disease Week 2013. Orlando, USA. (2013年5月).
 57. Kubota K, Ohbuchi K, Sudo Y, Miyano K, Yamamoto M, Kono T, Uezono Y. Prokinetic effect via blocking of two-pore domain potassium channels (KCNKs): a novel mechanism of enhanced colonic motility by local anesthetics and a traditional Japanese medicine daikenchuto (TU-100). Digestive Disease Week 2013. Orlando, USA (2013年5月).
 58. Ueno N, Musch MW, Kono T, Wang Y, Kaneko A, Omiya Y, Yamamoto M, Fujiya M, Uezono Y, Kohgo Y, Chang EB. Multitargeted treatment of Crohn's disease by traditional Japanese herbal medicine TU-100: an endogenous adrenomedullin enhancer. 37th World Congress of the International Union of Physiological Sciences 2013. Birmingham, UK (2013年7月).
 59. Kono T, Kaneko A, Nozaki R, Matsumoto C, Miyagi C, Ohbuchi K, Omiya Y, Mizuhara Y, Miyano K, Uezono Y. Multitargeted therapy of chemotherapy-induced oral mucositis by hangeshashinto (TJ-14), a multicomponent traditional Japanese

- herbal medicine: effect on prostanoid synthesis and cell migration. 37th World Congress of the International Union of Physiological Sciences 2013. Birmingham, UK (2013年7月)
60. 河野透, 久保田訓世, 山本雅浩, 上園保仁. Two-pore domainカリウムチャンネル (KCNKs) の腸管運動メカニズムへの関与 大建中湯の大腸運動亢進メカニズム. 第55回日本平滑筋学会総会. 旭川 (2013年8月).
61. 河野透. 漢方はオーケストラ 医療用漢方製剤の海外進出. 日本生薬学会第60回年会. 札幌 (2013年9月).
62. 河野透. がん化学療法に伴う末梢神経障害の発現機序とその対処法: 臨床研究と基礎研究の融合点. 第7回日本緩和医療薬学会年会. 千葉 (2013年9月).
63. Kono T, Kaneko A, Yamamoto M, Nozaki R, Kitagawa S, Takeda H. Administration of daikenchuto (TU-100), a traditional Japanese medicine, through a long tube ameliorates postoperative ileus via inhibition of prostaglandin E2. European Society of Coloproctology 2013. Belgrade, Serbia (2013年9月).
64. Kono T, Kaneko A, Omiya Y, Miyano K, Uezono Y. Traditional Japanese oral mucositis medicine hangeshashinto upregulates antimicrobial peptides in human salivary gland cells. 2014 Gastrointestinal Cancers Symposium. San Francisco, USA. (2014年1月).
65. Kono T, Kubota K, Ohbuchi K, Mase A, Sudo Y, Miyano K, Yamamoto M, Uezono Y. Hydroxy- α -sanshool evokes unique colonic migrating motor complex in rat proximal colon via blocking of a two-pore domain potassium channel, KCNK9, in myenteric neurons. Digestive Disease Week 2014, Chicago, USA (2014年5月).
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
1. 特許取得
 1. 特許タイトル: アドレノメデュリン産生増強剤
発明者: 河野透¹⁾、金子篤²⁾、大宮雄司²⁾
出願人: ¹⁾独立行政法人旭川医科大学、²⁾株式会社ツムラ
特許登録番号: 特許第5451403号
 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、がん悪液質改善にいたる
基礎及び臨床研究と研究成果の国民への公開

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、ヒト胃がん細胞株MKN-45由来85As2細胞接種により、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確立した。同85As2細胞接種モデルにおいて、悪液質誘発因子であるleukemia inhibitory factor (LIF) の産生が亢進していることを明らかにした。同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実験を行った結果、いずれにおいても六君子湯が有意な摂食改善効果を有することを見出した。同悪液質モデルでは、食思改善ペプチド、グレリンの血中濃度が有意に高いことが判明、またグレリン投与による摂食亢進作用が減弱していることからグレリン抵抗性が惹起されている可能性が示唆された。

六君子湯は同悪液質モデル動物における低下したグレリン反応性（摂食亢進作用の減弱）を回復させた。グレリン受容体発現細胞を用いたin vitro研究において、六君子湯はグレリン受容体シグナルを増強させた。これらの結果より、グレリン受容体シグナル増強を介したグレリン抵抗性の軽減が六君子湯の摂食改善作用のメカニズムと考えられた。さらに、六君子湯を構成する8種類の生薬のうちの一つ、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。

以上の結果から、六君子湯は、グレリン投与が奏効しないがん悪液質患者にも効果を示すことが推測され、がん患者のQOLを向上させる可能性のあることが示唆された。

A. 研究目的

平成19年よりがん対策基本法施行に伴い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。平成24年には第二期がん対策推進基本計画（平成24-28年）が策定され、研究が加速さ

れている。しかし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。同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、悪液質誘発因子のひとつと考えられた。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 (Terawaki K, et al., *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2014)。さらに、同新規がん悪液質モデルを用いて、六君子湯が悪液質の食欲不振の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た予防投与、ならびに悪液質発症後での投与方法で検討したところ、いずれの投与方法においても、六君子湯は摂食改善作用を示した。

本年度は、六君子湯の摂食改善作用メカニズムを明らかにすることを目的とし、悪液質動物における摂食量低下に関連するグレリン抵抗性に着目し、六君子湯がグレリン抵抗性を改善するか否かを検証した。さらに、本新規悪液質モデルにおける詳細な発症メカニズムを明らかにするため、悪液質誘発因子であるLIFの産生に着目し、悪液質誘発細胞におけるLIF産生亢進メカニズムの解析を行った。

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。有意な上昇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。さらに、TLR4リガンド

(lipopolysaccharide; LPS: 0.1、1 μ g/mL) あるいはTLR5リガンド (Flagellin: 10, 100ng/mL) 添加後24時間の培養上清中のLIFを同kitで測定した。

(iii) 遺伝子発現量測定

MKN45clone85、85As2細胞から、ISOGEN (Nippon gene Co., Ltd.) により total RNAを抽出し、逆転写反応後、Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) により、Interleukin-1 receptor-associated kinase (IRAK)-1, 4の遺伝子発現量を測定した。

(2) 腫瘍摘出の悪液質症状におよぼす影響

85As2細胞 (1 \times 10⁷ cells) 左右腹部皮下移植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濃度を測定した。

(3) 呼吸代謝の測定

85As2細胞 (1 \times 10⁷ cells) 左右腹部皮下移植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 (1 \times 10⁷ cells) 左右腹部皮

下移植4週後のラットの腓腹筋を採取し、ホモジネート後、ISOGENにより total RNAを抽出し、逆転写反応後、RT-PCR により、E3 ubiquitin ligasesである Atrogin-1/MAFbx、MuRF-1 の mRNA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 (1 \times 10⁷ cells) 左右腹部皮下移植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 (1 \times 10⁷ cells) 左右腹部皮下移植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 (1×10^7 cells) 左右腹部皮下移植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およびhuman LIF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。さらに、視床下部はホモジネート後、ISOGENによりtotal RNAを抽出し、逆転写反応後、RT-PCRにより、NPYおよびグレリン受容体 (growth hormone secretagogue receptor; GHS-R) mRNAを測定した。

3. 新規がん悪液質モデルラットのグレリン抵抗性に対する六君子湯の改善効果の検討

85As2細胞 (1×10^7 cells) 左右腹部皮下移植後、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。六君子湯 (または蒸留水) 投与終了後、グレリン反応性 (グレリン投与による摂食亢進作用) を測定した。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。正常群 (saline+distilled water)、対照群 (85As2+distilled water) および六君子湯投与群 (85As2+rikkunshito) 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。さらに、グレリン投与後の摂食量を各群で比較した。

4. 六君子湯のグレリン受容体シグナルに対する作用

Human GHS-R安定発現HEK293細胞あるいはrat GHS-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 $\times 10^{-10}$ -1 $\times 10^{-7}$ 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なら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。有意な発現上昇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) 系のシグナル経路が活性化していた。TLRシグナル経路上では、特にIRAK-1, 4の発現上昇が認められた。

(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。TLR5リガンド (Flagellin) 添加後の培養上清中のLIFは、両細胞ともに有意に増加したが、85As2細胞でより顕著であった (p<0.01, vs. MKN45clone85)。一方、TLR4リガンド (LPS) では有意なLIF産生を示さなかった。

(iii) 遺伝子発現量測定

IRAK-1, 4いずれにおいても、85As2細胞で顕著に増加した (IRAK-1; 509.6 \pm 156.0%, IRAK-4; 194.1 \pm 81.6% vs. MKN45clone85)。

(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

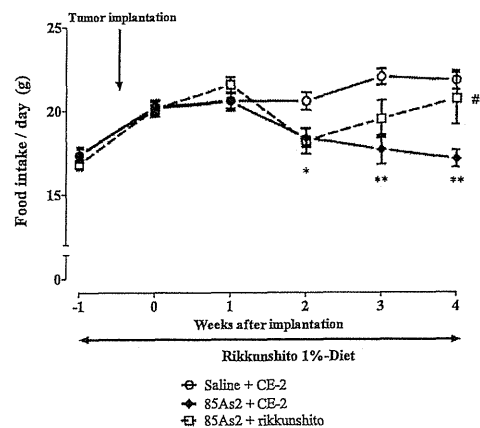
(1) 六君子湯の予防的効果の検討

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)。

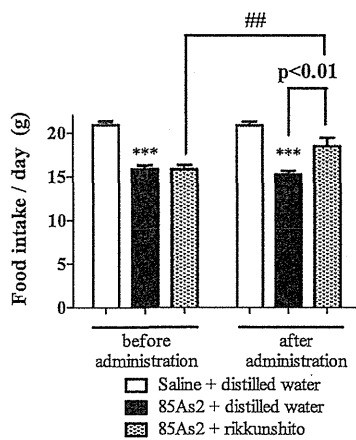
(2) 六君子湯の治療的効果の検討

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。また、血中LIF値に対しても影響をおよぼさなかった。



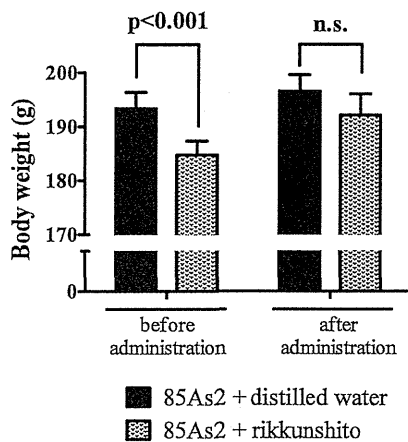
Each data represents the mean \pm S.E.M. of 9-11 rats. The significant differences were evaluated using one-way ANOVA followed by post hoc Dunnett's Multiple Comparison Test: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs Saline + DW group, and # $p < 0.05$ vs 85As2 + DW group

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. 新規がん悪液質モデルラットのグレリン抵抗性に対する六君子湯の改善効果の検討

85As2細胞 (1×10^7 cells) 移植ラット

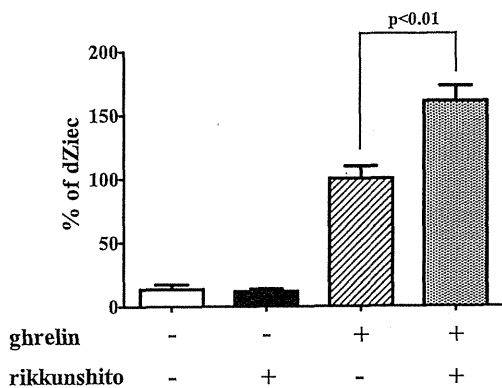
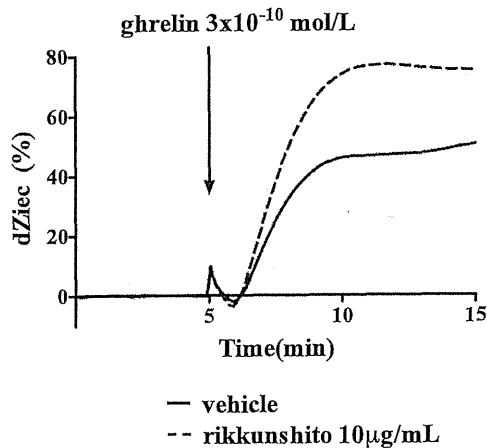
は、移植2週目に有意な体重減少および有意な摂食量低下が認められた。六君子湯7日間投与群では、摂食量低下の有意な改善が認められた。六君子湯または蒸留水7日間投与終了後、グレリン投与による摂食亢進作用を検討した。

グレリン投与により、正常群 (saline+distilled water) 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 (85As2+distilled water) 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。これに対して、六君子湯投与群 (85As2+rikkunshito) では、悪液質群で認められたグレリン反応性低下が軽減した。

4. 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 (図4)。

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。



Each column represents the mean \pm S.E.M.(n=6). The significant differences between groups were evaluated using the unpaired Student's t-test.

図4 グレリン受容体発現HEK293細胞における六君子湯のグレリンシグナル増強作用

D. 考察

低分化型ヒト胃癌細胞株由来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・筋肉量の減少、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、これら

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細胞移植ラットでは、より早期かつ重篤な悪液質を誘導し、新規がん悪液質ラットモデルとして報告した (Terawaki K, et al., *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2014)。

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値も検出限界以下を示した。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、85As2細胞において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、IRAK-1および-4を経路に含むTLRシグナルが活性化していることが示唆された。実際に、IRAK-1、4mRNAは、85As2細胞で2~5倍に増加しており、TLR5リガンド刺激によるLIF産生がMKN45clone85と比較して亢進していた。以上の結果から、85As2細胞による悪液質誘導能には、TLR5シグナル活性化によるLIF産生亢進が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。六君子湯の悪液質改善作用として、グレリン分泌亢進、悪液質誘発因子の抑制が考えられるが、六君子湯は血中グレリン濃度および血中LIF濃度に影響をおよぼさなかったため、これらの可能性は低いと考えられた。

本モデルではグレリン抵抗性が惹起されているが、六君子湯は本モデルラットのグレリン抵抗性を軽減させた。本結果から、六君子湯の悪液質改善効果は、グレリン抵抗性の改善が関与する可能性が示唆された。六君子湯のグレリン抵抗性改善作用のさらに詳細なメカニズムを検証すべく、グレリン受容体数および受容体反応性の検討を行った。本モデルラットの視床下部において、六君子湯投与により、グレリン受容体mRNAに変化は認められなかったため、六君子湯の改善作用メカニズムに、視床下部グレリン受容体数の変化は関与しない可能性が考えられた。一方で、六君子湯投与によりNPYmRNAは増加傾向を示したこと

から、六君子湯による摂食シグナルの増強が考えられる。次に、六君子湯のグレリン受容体反応性への検討を細胞レベルで行った結果、細胞内カルシウム濃度可視化アッセイおよびCellKeyTM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。さらに、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。一方、六君子湯の作用メカニズムは、悪液質誘発因子のLIFに対する抑制作用ではないため、悪液質誘発因子の種類に特異的でない可能性も考えられる。本研究結果は、六君子湯の幅広い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細胞による新規がん悪液質モデルでは、エネルギー消費亢進やグレ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、その作用メカニズムとして悪液質誘発因子LIFの抑制ではなく、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示唆されたことから、幅広い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. 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.
2. 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*, 65 (4): 578-589, 2013.
3. 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 μ -opioid receptor desensitization in the development of antihyperalgesic tolerance to μ -opioids under a neuropathic pain-like state. *Addict Biol*, 18 (4): 614-622, 2013.
4. 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. *Peptides* 46: 13-19, 2013.
5. 上園保仁. 日本の「統合医療」のゆくえ-『厚生労働省「統合医療」のあり方に関する検討会』による今後の指針は?-。 *がん患者と対症療法*, 24 (1): 74-82, 2013.
6. 上園保仁. モデル動物からみた cachexia (悪液質) . *栄養-評価と治療*, 30 (4): 272-274, 2013.
7. 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*, 17 (8): 1156-1167, 2013.
8. Yoshimura M, Hagimoto M, Matsuura T, Ohkubo J, Ohno M, Maruyama T, Ishikura T, Hashimoto H, Kakuma T, Yoshimatsu H, Terawaki K, Uezono Y, Toyohira Y, Yanagihara N, Ueta Y. Effects of food deprivation on the hypothalamic feeding-regulating peptides gene expression in serotonin depleted rats. *J Physiol Sci*, 64 (2): 97-104, 2014.
9. 上園保仁. がん患者の生活の質の向上をめざすがん疼痛およびがん悪液質症状改善のための研究-がん患者へ届ける基礎から臨床へのトランスレーショナルリサーチ-. *がん患者と対症療法*, 24 (2): 158-164, 2013.

10. Terawaki K, Sawada Y, Kashiwase Y, Hashimoto H, Yoshimura M, Suzuki M, Miyano K, Sudo Y, Shiraishi S, Higami Y, Yanagihara K, Kase Y, Ueta Y, Uezono Y. Novel cancer cachexia model by peritoneal dissemination-derived cell line established from human stomach cancer cell. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 306 (4): E373-E387, 2014.
 11. Okura D, Horishita T, Ueno S, Yanagihara N, Sudo Y, Uezono Y, Sata T. The endocannabinoid anandamide inhibits voltage-gated sodium channels $Na_v1.2$, $Na_v1.6$, $Na_v1.7$ and $Na_v1.8$ in *Xenopus* Oocytes. *Anesth Analg*, 118 (3): 554-562, 2014.
 12. Morita K, Shiraishi S, Motoyama N, Kitayama T, Kanematsu T, Uezono Y, Dohi T. Palliation of bone cancer pain by antagonists of platelet-activating factor receptors. *PLOS ONE*, 9 (3): e91746, 2014.
 13. Fujii H, Hayashida K, Saitoh A, Yokoyama A, Hirayama S, Iwa T, Nakata E, Sudo Y, Uezono Y, Yamada M, Nagase H. Novel delta opioid receptor agonists with oxazatricyclodecane structure. *ACS Med Chem Lett*, 5: 368-372, 2014.
 14. Kono T, Kaneko A, Matsumoto C, Miyagi C, Ohbuchi K, Mizuhara Y, Miyano K, Uezono Y. Multitargeted effects of hangeshashinto for treatment of chemotherapy-induced oral mucositis on inducible prostaglandin E2 production in human oral keratinocytes. *Integr Cancer Ther*, epub ahead of print, 2014.
 15. Mizuno K, Kono T, Suzuki Y, Miyagi C, Omiya Y, Miyano K, Kase Y, Uezono Y. Goshajinkigan, a traditional Japanese medicine, prevents oxaliplatin-induced acute peripheral neuropathy by suppressing functional alteration of TRP channels in rat. *J Pharmacol Sci*, 125: 91-98, 2014.
 16. Kono T, Takeda H, Shimada M, Kase Y, Uezono Y. Novel therapeutics for adverse effects of antitumor therapy: the promise of multicomponent, traditional Japanese herbal remedies. *J Carcinog Mutagen*, epub ahead of print, 2014.
 17. Horishita T, Yanagihara N, Ueno S, Sudo Y, Uezono Y, Okura D, Minami T, Kawasaki T, Sata T. Neurosteroids allopregnanolone sulfate and pregnanolone sulfate have diverse effect on the α subunit of the neuronal voltage-gated sodium channels $Na_v1.2$, $Na_v1.6$, $Na_v1.7$ and $Na_v1.8$ in *Xenopus* Oocytes. *Anesthesiology*, epub ahead of print, 2014.
2. 学会発表
 1. Uezono Y, Terawaki K, Kashiwase Y, Sudo Y, Sawada Y, Miyano K, Suzuki M, Shiraishi S, Higami Y. A novel rat cachexia model with possible ghrelin resistance made by inoculation of a gastric 85As2 cancer cell line: a traditional Japanese medicine rikkunshito ameliorates cachexia symptoms by potentiation of ghrelin receptor-mediated signaling. *Digestive Disease Week 2013*, Orland, USA (2013年5月).
 2. Terawaki K, Yanagihara K, Sawada Y, Kashiwase Y, Suzuki M, Miyano K, Sudo Y, Shiraishi S, Higami Y, Kase Y, Uezono Y. Establishment of a severely cachexic rat model with possible ghrelin resistance by using a novel 85As2 cell line developed by repeated peritoneal dissemination after orthotopic implantation of the

- human gastric cancer cell line MKN-45. Digestive Disease Week 2013, Orland, USA (2013年5月).
3. Kono T, Kaneko A, Matsumoto C, Miyagi C, Ohbuchi K, Mizuhara Y, Miyano K, Uezono Y. Multi-target prevention of chemotherapy-induced oral mucositis by hangeshashinto: PGE2 and cell migration in human oral keratinocytes. Digestive Disease Week 2013. Orland, USA (2013年5月).
 4. Kono T, Nishiyama M, Kaneko A, Yamamoto M, Ueno N, Kohgo Y, Uezono Y. Small intestinal microbiota of colonic IBD patients may have the altered gut microenvironment enabling selective enrichment of certain bacterial populations : Implications of microbiome analysis on ileal effluent samples collected from ileostomy patients. Digestive Disease Week 2013. Orlando, USA. (2013年5月).
 5. Kubota K, Ohbuchi K, Sudo Y, Miyano K, Yamamoto M, Kono T, Uezono Y. Prokinetic effect via blocking of two-pore domain potassium channels (KCNKs): a novel mechanism of enhanced colonic motility by local anesthetics and a traditional Japanese medicine daikenchuto (TU-100). Digestive Disease Week 2013. Orlando, USA (2013年5月).
 6. 上園保仁. 薬物依存の分子生物学的メカニズム : 基礎医学の立場から. 日本麻酔科学会第60回学術集会. 札幌 (2013年5月).
 7. 白石成二, 上園保仁. 脊椎骨癌転移モデルラットの疼痛評価. 日本麻酔科学会第60回学術集会. 札幌 (2013年5月).
 8. 南浩一郎, 須藤結香, 上園保仁. トラマドールはオピオイド受容体を直接作用するアゴニストである. 日本麻酔科学会第60回学術集会. 札幌(2013年5月).
 9. 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, 西村瞳, 白石成二, 樋上賀一. がん悪液質の予防、症状緩和に向けた薬物療法の開発. 第18回日本緩和医療学会学術大会. 横浜 (2013年6月).
 10. Ueno N, Musch MW, Kono T, Wang Y, Kaneko A, Omiya Y, Yamamoto M, Fujiya M, Uezono Y, Kohgo Y, Chang EB. Multitargeted treatment of Crohn's disease by traditional Japanese herbal medicine TU-100: an endogenous adrenomedullin enhancer. 37th World Congress of the International Union of Physiological Sciences 2013. Birmingham, UK (2013年7月).
 11. Kono T, Kaneko A, Nozaki R, Matsumoto C, Miyagi C, Ohbuchi K, Omiya Y, Mizuhara Y, Miyano K, Uezono Y. Multitargeted therapy of chemotherapy-induced oral mucositis by hangeshashinto (TJ-14), a multicomponent traditional Japanese herbal medicine: effect on prostanoid synthesis and cell migration. 37th World Congress of the International Union of Physiological Sciences 2013. Birmingham, UK (2013年7月)
 12. 河野透, 久保田訓世, 山本雅浩, 上園保仁. Two-pore domainカリウムチャンネル (KCNKs) の腸管運動メカニズムへの関与 大建中湯の大腸運動亢進メカニズム. 第55回

- 日本平滑筋学会総会. 旭川 (2013年8月).
13. 鈴木雅美, 千脇史子, 澤田祐美, 成田年, 鈴木勉, 長瀬博, 上園保仁, 佐々木博己. オピオイド増殖因子シグナル阻害によるドセタキセルの抗腫瘍作用の増強. 第33回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム. 神戸 (2013年9月).
 14. 横山明信, 須藤結香, 平山重人, 樋上賀一, 藤井秀明, 上園保仁. オピオイドリガンドの新規スクリーニング法確立および δ 受容体サブタイプとオピオイド受容体ヘテロダイマーと相関解析. 第33回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム. 神戸 (2013年9月).
 15. 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, 加瀬義夫, 上園保仁. Attenuated ghrelin responses in new rat cancer cachexia model generated by implantation of a peritoneal dissemination-derived human gastric cancer cell line - ameliorating effects of rikkunshito by enhancement of ghrelin signaling. 第36回内藤カンファレンス. 札幌 (2013年9月).
 16. 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, 西村瞳, 白石成二. がん性悪液質モデル動物を用いた研究 -悪液質の症状緩和に役立つ漢方薬とそのメカニズム解明-. 第7回日本緩和医療薬学会年会. 幕張 (2013年9月).
 17. 鈴木雅美, 千脇史子, 澤田祐美, 柳原五吉, 中釜斉, 上園保仁, 佐々木博己. オピオイド増殖因子シグナルの阻害は、細胞周期のRecyclingによって胃癌細胞へのドセタキセルの抗腫瘍効果を増強する. 第72回日本癌学会学術総会. 横浜 (2013年10月).
 18. 森田克也, 本山直世, 白石成二, 上園保仁, 土肥敏博. 血小板活性化因子 (PAF) 阻害薬によるがん性疼痛緩和作用. 第72回日本癌学会学術総会. 横浜 (2013年10月).
 19. 千脇史子, 鈴木雅美, 澤田祐美, 濱口哲弥, 山田康秀, 島田安博, 柳原五吉, 坂本裕美, 松崎圭祐, 上園保仁, 吉田輝彦, 佐々木博己. マウス腹膜中皮細胞とヒト未分化型胃癌細胞の異種間細胞相互作用系の評価. 第72回日本癌学会学術総会. 横浜 (2013年10月).
 20. 塚田俊彦, 永村優央子, 寺脇潔, 上園保仁. 六君子湯は下垂体細胞におけるcAMP産生を促進する. 第72回日本癌学会学術総会. 横浜 (2013年10月).
 21. 人見涼露, 小野堅太郎, 宮野加奈子, 上園保仁, 的場元弘, 稲永清敏. 口内炎ラットにおける口腔内疼痛発症機構解明. 第64回西日本生理学会. 北九州 (2013年10月).
 22. 萩本真理奈, 吉村充弘, 松浦孝紀, 大久保淳一, 大野素子, 丸山崇, 石倉透, 橋本弘史, 加隈哲也, 吉松博信, 寺脇潔, 上園保仁, 豊平由美子, 柳原延章, 上田陽一. 視床下部セロトニン枯渇モデルラットにおける摂食関連ペプチド遺伝子発現の変化. 第64回西日本生理学会. 北九州 (2013年10月).
 23. 上園保仁. がん患者のQOLの維持・向上に貢献する漢方薬 -基礎・臨床研究を通して明らかにしてきたエビデンス-. 第51回日

- 本癌治療学会学術集会. 京都 (2013年10月).
24. 宮野加奈子, 白石成二, 鈴木雅美, 的場元弘, 上園保仁. 抗がん剤カルボプラチンによる末梢神経障害にTRPA1の感受性亢進が関与する. 第43回日本神経精神薬理学会年会. 沖縄 (2013年10月).
 25. 山本雅浩, 久保田訓世, 河野透, 上園保仁. KCNKs阻害による消化管運動亢進作用: 局所麻酔薬および大建中湯による大腸運動促進の新規メカニズム. 第15回日本神経消化器病学会. 島根 (2013年11月).
 26. 柏瀬陽平, 寺脇潔, 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ラットでのグレリン抵抗性の発現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症状改善効果. 第66回日本薬理学会西南部会. 福岡 (2013年11月).
 27. 横山明信, 須藤結香, 平山重人, 樋上賀一, 藤井秀明, 上園保仁. オピオイドリガンドの新規スクリーニング法確立と同法を用いた δ 受容体サブタイプとオピオイド受容体ヘテロダイマーの相関解析. 第66回日本薬理学会西南部会. 福岡 (2013年11月).
 28. Uezono Y. Traditional Japanese herbal medicines (Kampo Medicine) synergistically and cooperatively improve cachexic symptoms caused by cancer cells. Scientific evidence from basic medical researches. 7th Cachexia Conference. Kobe (2013年12月).
 29. Kashiwase Y, Terawaki K, Yanagihara K, Suzuki M, Miyano K, Shiraiishi S, Higami Y, Kase Y, Uezono Y. Establishment of novel animal models of cancer cachexia by implantation of human gastric cancer cell lines. 7th Cachexia Conference. Kobe (2013年12月).
 30. Terawaki K, Kashiwase Y, Suzuki M, Miyano K, Yanagihara K, Shiraiishi S, Higami Y, Kase Y, Uezono Y. A novel cachexia rat model with possible ghrelin resistance generated by implantation of a human gastric cancer-derived 85As2 cell line: a traditional Japanese medicine rikkunshito ameliorates cachexia symptoms by potentiation of ghrelin receptor-mediated signaling. 7th Cachexia Conference. Kobe (2013年12月).
 31. Asakawa A, Fujitsuka N, Uezono Y, Minami K, Yamaguchi T, Nijjima A, Yada T, Maejima Y, Sedbazar U, Sakai T, Hattori T, Kase Y, Inui A. The herbal medicine rikkunshito in cancer anorexia-cachexia: impact on survival and relationship to ghrelin signaling. 7th Cachexia Conference. Kobe (2013年12月).
 32. Ueta Y, Yoshimura M, Uezono Y. Effects of oral administration of Rikkunshito on cisplatin-induced anorexia in rats. 7th Cachexia Conference. Kobe (2013年12月).
 33. 上園保仁. がん悪液質による消化器症状を改善する六君子湯 -そのメカニズムの解明と臨床応用. 第7回国際カヘキシアカンファレンス種子島シンポジウム. 種子島 (2013年12月).
 34. 宮野加奈子, 人見涼露, 金子篤, 小野堅太郎, 河野透, 寺脇潔, 白石成二, 大宮雄司, 稲永清敏, 上園保仁. 新規口内炎モデルを用い

た新たな対処法に関する研究. 第87回日本薬理学会年会. 仙台 (2014年3月).

35. Kono T, Kubota K, Ohbuchi K, Mase A, Sudo Y, Miyano K, Yamamoto M, Uezono Y. Hydroxy- α -sanshool evokes unique colonic migrating motor complex in rat proximal colon via blocking of a two-pore domain potassium channel, KCNK9, in myenteric neurons. Digestive Disease Week 2014, Chicago, USA (2014年5月).
36. 上園保仁, 鈴木雅美, 白石成二, 宮野加奈子. オピオイドの効きにくいがん性腹膜炎の痛みのメカニズム解明ならびに作用機序に基づく奏効薬の選択. 日本麻酔科学会第61回学術集会. 横浜 (2014年5月).
37. 上園保仁. がん患者のQOLを向上させる漢方薬 -基礎研究および臨床研究を通して明らかになってきたエビデンス-. 第19回日本緩和医療学会学術大会. 神戸 (2014年6月).
38. 上田陽一, 吉村充弘, 橋本弘史, 將口加奈子, 横山徹, 上園保仁. セロトニン枯渇モデルラットにおけるシスプラチン誘発性拒食および六君子湯の胃内. 第73回日本癌学会学術総会. 横浜 (2014年9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。