

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

がん治療の副作用軽減ならびにがん患者のQOL向上のための
漢方薬の臨床応用とその作用機構の解明

H22-3 次がん-一般-035

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 上園 保仁 (国立がん研究センター研究所)

平成26(2014)年5月

目 次

・ 総括研究報告	
がん治療の副作用軽減ならびにがん患者の QOL 向上のための漢方薬の臨床応用とその作用機構の解明 上園 保仁	----- 1
・ 分担研究報告	
1 . 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 上園 保仁	----- 25
2 . 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研究 乾 明夫	----- 41
3 . 六君子湯、大建中湯のがん悪液質に及ぼす効果の中樞への関与の解析 上田 陽一	----- 45
4 . がん悪液質モデル動物の構築、並びに悪液質発生機序の解明と治療法の開発 塚田 俊彦	----- 49
5 . がん治療の副作用軽減ならびにがん患者の QOL 向上のための漢方薬の臨床応用とその作用機構の解明に関する研究 藤宮 峯子	----- 53
6 . 『がん悪液質モデル動物末梢組織の解析と六君子湯投与による影響』に関する研究 樋上 賀一	----- 57
7 . 大建中湯のがんに伴う炎症、疼痛抑制効果に関する研究 河野 透	----- 61
8 . 六君子湯、大建中湯のがん悪液質（特に消化器症状）に対する効果のランダムイズドコントロールスタディ 大西 俊介	----- 67
9 . 六君子湯による抗がん剤の副作用軽減効果の第 2 相臨床研究の実施 櫻木 範明	----- 71
・ 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 75
・ 研究成果の刊行物・別刷	----- 81

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）
総括研究報告書

がん治療の副作用軽減ならびにがん患者のQOL向上のための
漢方薬の臨床応用とその作用機構の解明

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 本研究は、六君子湯・大建中湯等の漢方薬の作用メカニズムを基礎研究で明らかにすること、ならびに同漢方薬の有効性を臨床研究を用いて明らかにするものである。

基礎研究においては、ヒト胃がん細胞株由来85As2細胞移植新規がん悪液質動物モデルを用い、悪液質の発症にTLR5シグナル経路の活性化、続いておこるLIF産生亢進が関与することを見出した。また、六君子湯は、LIF抑制ではなく、グレリン抵抗性の改善を介してがん悪液質を改善することを明らかにし、がん悪液質の病態では脳腸ペプチドが重要な役割を果たしていることを示した。さらに、シスプラチンによる摂食抑制作用を六君子湯が改善するメカニズムのひとつにシスプラチンによるEC細胞からのセロトニン分泌を六君子湯が抑制することを明らかにした。加えて、シスプラチン投与によって生じる体重減少・摂食の六君子湯による改善作用には、セロトニン系を介した視床下部摂食関連ペプチド遺伝子発現の変化が関与することを見出した。また、六君子湯がグレリンシグナルを介し、白色脂肪組織でのde novo脂肪酸合成系の活性化およびインシュリン抵抗性の改善を示すことを明らかにし、さらに六君子湯が副腎髄質機能、下垂体機能を調節している可能性も明らかにした。一方、大建中湯の山椒成分が、標的細胞に発現するKCNKチャネルをブロックすることで薬物感受性を高めること、その結果大建中湯成分の乾姜が低濃度でも多標的にアラキドン酸代謝酵素を抑制し、プロスタグランジンE2を特異的に抑制し抗炎症作用を示すことを明らかにした。

臨床研究では、がん患者のQOL向上のための六君子湯のエビデンスを確立するため、隣がん患者を対象として臨床試験を開始した。本年度はさらに登録を進めるべくプロトコールの改正を行い、臨床研究を継続中である。加えて、シスプラチン投与に伴う嘔吐、食欲不振の六君子湯による抑制効果を検証するための第□相臨床試験を開始した。これら2つの臨床試験は、班内に設置した「プロトコ

ール審査委員会」および「効果・安全性評価委員会」の支援のもと、行っている。

研究分担者

乾 明夫 鹿児島大学大学院医歯学
総合研究科 教授
上田 陽一 産業医科大学医学部
教授
塚田 俊彦 国立がん研究センター研
究所 分野長
藤宮 峯子 札幌医科大学医学部
教授
樋上 賀一 東京理科大学薬学部
教授
河野 透 医療法人徳洲会札幌東徳
洲会病院 先端外科セン
ター長
大西 俊介 北海道大学大学院医学研
究科 助教
櫻木 範明 北海道大学大学院医学研
究科 教授

A . 研究目的

平成19年よりがん対策基本法が施行、次いで第一期がん対策推進基本計画が策定、さらに平成24年5月には第二期がん対策推進基本計画が閣議決定され、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推進されているところである。しかしなお、その対応が遅れているのが、終末期がん患者に多く見られる「がん悪液質」の症状改善対策、ならびに抗がん剤による悪心嘔吐等の副作用対策である。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、機能的ディスペプシアや抗がん剤による食欲不振を改善させること、また食思改善ペプチドであるグレリンの分泌を促進しグレリンシグナルを促進させることが明らかとなり、六君子湯の消化器症状改善効果が注目されている。さらに抗がん剤の悪心嘔吐、便秘に大建中湯が有効であることがエビデンスを持って示されてきた。

本研究では、がん患者の抗がん剤療法による副作用の改善、ならびにがん悪液質の症状改善に、六君子湯・大建中湯が有効であるかどうかを、動物モデルならびに培養細胞を用いて作用メカニズムを明らかにする。加えて六君子湯、大建中湯の臨床研究を行い、同薬の臨床における効果を科学的に立証することとした。

1 . 六君子湯のがん悪液質の改善効果のメカニズムの解明

漢方薬、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、六君子湯のがん領域における消化器症状改善効果が注目されている。

六君子湯の摂食改善作用機序を明らかにすることを目的とし、本研究で確立された新規がん悪液質モデル動物において、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、悪液質誘発因子である leukemia inhibitory factor (LIF) の産生および悪液質発症との関連を明らかにするため、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。

2．六君子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

昨年度に引き続き、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。

抗がん剤の副作用を含めたがん悪液質による症状を軽減するため、六君子湯の有効性や奏功機序を立証することで、がん患者のQOL向上や生命予後を改善する可能性がある。がん悪液質の病態では脳腸ペプチドが重要な役割を果たしており、平成25年度は六君子湯投与によってがん悪液質が改善した動物実験の報告 (Translational Psychiatry, 2011) を踏まえ、ヒトに対する六君子湯の中樞作用の解明を目的とした。

3．六君子湯のがん悪液質に及ぼす効果の中樞への関与の解析

ラットに抗がん剤 (シスプラチン) を投与すると摂食抑制・体重減少が生じる。このシスプラチンによって誘発される摂食抑制・体重減少は六君子湯の投与によって改善する。今年度は、この効果にセロトニン系が関与しているか否かについてセロトニン枯渇モデルラットを作製して検討した。

4．がん悪液質モデル動物の構築、ならびに悪液質発生機序の解明と治療法

の開発

六君子湯は副腎髄質細胞内のcAMP量を増加させ、カテコラミンの生合成と分泌を促進することから、六君子湯は様々な内分泌細胞の機能に影響する可能性がある。

昨年度までの研究により、六君子湯が下垂体培養細胞AtT-20およびGH3において、細胞内cAMPを増加させること、しかしホルモン遺伝子の発現には明確な変動をもたらさないことを見出した。今年度は、これらの細胞からの下垂体ホルモン分泌に対する六君子湯の影響を明らかにすることを目的とした。

5．六君子湯のがん悪液質 (特に消化器症状) に対する効果の基礎実験

シスプラチンなどの抗がん剤でおこる嘔吐は患者のQOLを著しく障害する。嘔吐改善には5-HT₃受容体拮抗剤が用いられるが、便秘などの副作用が避けられない。シスプラチンは腸管粘膜のenterochromaffin cell (EC) 細胞からのセロトニン分泌を刺激し、放出されたセロトニンは延髄の嘔吐中枢に作用し、悪心・嘔吐を引き起こす。本年度は、EC細胞がもっとも高密度に分布するラットの十二指腸を用いて灌流実験を行い、シスプラチンによるEC細胞からのセロトニン分泌に六君子湯がどのような影響を与えるかを調べた。

6．がん悪液質モデル動物末梢組織の解析と六君子湯投与による影響

がん悪液質によるやせと健康長寿を示す適度なカロリー制限によるやせ、過度なカロリー制限によるやせの特に

脂肪組織における相違点、六君子湯やグレリンががん悪液質の脂肪組織に及ぼす影響を分子細胞レベルで明らかにし、がん悪液質での脂肪組織の萎縮抑制に対する六君子湯の作用点を明らかにすることを目的とした。

7．大建中湯の抗炎症作用のメカニズム解明

抗がん剤の悪心嘔吐、便秘に大建中湯が有効であることがエビデンスを持って証明されてきた。

大建中湯の薬効動態を解明したところ、山椒成分のsanshoolsが急速かつ大量に血中に移行し、遅れて乾姜成分のshogaols/gingerolsがゆっくりと血中に移行することが判明した。しかしながらその量は低濃度であり、これまで薬効機序を分子レベルで解析に用いた有効濃度をかなり下回っていた。そこで、sanshoolsが細胞の感受性を高めることで低濃度のshogaols/gingerolsが作用を発現できるのではないかという仮説を証明することを本研究の目的とした。

8．六君子湯の食思増進に及ぼす効果の検討、ならびに抗がん剤およびがん悪液質による食思不振に対する効果についての臨床研究

私たちはこれまでに、動物モデルを用いて六君子湯の食欲増進作用およびそのメカニズムを明らかにし、がん患者のQOL向上のためのエビデンスを確立するため、平成24年8月より「ゲムシタピン投与時がん患者における軽度悪液質または前悪液質状態に対する六君子湯の悪液質進行抑制効果-無作為化第 相比較試験」を開始した。しかし

ながら、適格規準を満たす症例に乏しかったため、プロトコルを改正して試験を継続することとした。

また、種々の病態モデルにおいて、六君子湯がグレリン分泌促進あるいは分解抑制、セロトニン受容体拮抗作用などにより食欲低下を改善あるいは食欲を増進させることが明らかとなってきた。本研究では、六君子湯が実際がんに患者のQOL向上のために有用であるというエビデンスを確立するため、臨床試験のプロトコルを作成して試験を実施することを目的とした。

B．研究方法

1．六君子湯のがん悪液質の改善効果のメカニズムの解明

本研究で確立された85As2細胞移植がん悪液質モデルでは、グレリン投与による摂食亢進作用が減弱されており、本グレリン反応性低下に対する六君子湯経口投与の作用を検討した。さらに、MKN45clone85および85As2細胞間の遺伝子網羅的解析を行い、発現上昇遺伝子に対するパスウェイ解析を行い、toll-like receptor (TLR) 4および5リガンド添加後の培養上清中LIF濃度を測定した。

2．六君子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

20歳以上の健常人20名を六君子湯投与群および対照群の2群に無作為に割り付け、六君子湯投与前にfMRIを実施する。六君子湯を経口投与し、90分の安静時間に心理検査（POMS、BDI、GSRs、VAS、Edinburgh Handedness

Inventory) を行い、fMRIを実施する。撮像中に運動、語想起、嗅覚、味覚などの刺激を与え、脳局所におけるオキシヘモグロビン濃度を測定することにより、作用部位の特定を行った。

3. 六君子湯のがん悪液質に及ぼす効果の中樞への関与の解析

成熟雄性ウイスターラットにパラクロロフェニルアラニン(PCPA)を腹腔内投与してセロトニン枯渇モデル動物を作製した。自由給餌群と48時間摂食制限群に分けて24時間毎に体重、摂食量を測定し、視床下部摂食関連ペプチド遺伝子発現量をin situハイブリダイゼーション法により測定した。また、PCPA投与群にシスプラチンを投与して、さらに六君子湯投与の有無で24時間毎に体重および摂食量を測定した。

4. がん悪液質モデル動物の構築、ならびに悪液質発生機序の解明と治療法の開発

副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)産生下垂体培養細胞AtT-20および成長ホルモン(GH)産生下垂体培養細胞GH3を六君子湯およびforskolinで刺激し、培養細胞中に放出されるACTHおよびGHを免疫学的測定法により定量した。また、六君子湯の構成成分のうち、細胞内cAMP増加作用が顕著なニンジンとチンピについても、それぞれホルモン分泌作用について検討した。

5. 六君子湯のがん悪液質(特に消化器症状)に対する効果の基礎実験

ラットを麻酔下にex vivo duodenal

perfusionを施し、0.1 M PBS(1ml/min)で十二指腸を灌流、灌流液中のセロトニン濃度を経時的に液体クロマトグラフィーで測定した。灌流開始1時間後にシスプラチン(1.7mg/kg)およびvehicleを尾静脈投与し、シスプラチン投与2時間前に六君子湯(1g/kg)を経口投与した群を作製。正常対照群、六君子湯投与群、シスプラチン投与群、シスプラチン+六君子湯投与群でそれぞれ灌流液中のセロトニン濃度を比較検討した。

6. がん悪液質モデル動物末梢組織の解析と六君子湯投与による影響

自由摂食群の70%を2週間給餌したCRラット(30%CR;摂食量はCCとほぼ一致)、30%を給餌したCRラット(70%CR)と自由摂食群の脂肪組織(WAT)において、脂質分解系および脂肪酸合成系タンパク質発現を解析した。また、悪液質モデルである胃がん細胞による担がん(CC)ラットとCCラットへの六君子湯投与群、グレリン投与群、対照群のWATにおいて、同様の解析を行った。

7. 大建中湯の抗炎症作用のメカニズム解明

摘出したラットの近位大腸内腔に圧トランスデューサを装着し、全体をクレブス緩衝液に水没させ固定、腸管運動(migrating motor complex, MMC)をビデオカメラと圧トランスデューサによって観察記録した。細胞の興奮性を決定するresting potentialを制御するカリウムチャンネル(KCNKs)の各種ブロッカー、オープナーを用いて検討した。

またKCNKs発現の免疫組織学的検討も併せて行った。

8．六君子湯の食思増進に及ぼす効果の検討、ならびに抗がん剤およびがん悪液質による食思不振に対する効果についての臨床研究

当研究班で組織されるデータセンターならびに統計専門家らとともに、「ゲムシタピン投与群がん患者における軽度悪液質または前悪液質状態に対する六君子湯の悪液質進行抑制効果-無作為化第 相比較試験」の改正作業を行った。

当研究班で組織されるデータセンターならびに統計専門家らとともに、「シスプラチンを含む化学療法を施行される子宮がん患者の食欲不振に対する六君子湯の効果-無作為化第 相比較試験」のフルプロトコルの作成を行った。六君子湯投与群20例、非投与群20例の合計40例の登録を目標とした。

(倫理面への配慮)

本研究は漢方薬である六君子湯、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、ならびにがん患者を対象とした臨床研究より構成される。

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。

基礎研究においては、各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。

臨床試験においては、臨床研究計画

について、研究支援組織の運営委員会と臨床試験審査会、および効果安全性評価委員会での承認後、参加各施設の倫理審査委員会の承認を受けることとした。

特に倫理面に配慮し、完成したフルプロトコルはプロトコル審査委員会に諮り承認を得たのち、各参加施設の倫理審査委員会での承認を得ることとした。また、被験者には十分な説明を行い、説明同意文書に署名をいただいでから開始し、補償のための保険にも加入した。

C．研究結果

1．六君子湯のがん悪液質の改善効果のメカニズムの解明

遺伝子網羅的解析の結果、85As2細胞は、MKN45clone85細胞と比較して、TLRシグナル経路活性化を示し、TLR5リガンド添加により顕著なLIF産生を示した。本LIF産生は、85As2細胞において亢進していた。

85As2移植がん悪液質ラットでは、血中グレリン濃度が上昇し、グレリン投与による摂食亢進作用発現が非担がんラットと比較して減弱していた。六君子湯は、悪液質ラットの摂食量低下を改善するとともに、悪液質ラットの本グレリン反応性低下を軽減した。一方で、六君子湯は、悪液質ラットにおける血中グレリン濃度上昇およびLIF濃度上昇に対しては、影響をおよぼさなかった。

2．六君子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

本研究の予備検討では、六君子湯の単回投与により、認知刺激下での脳血流に変化をもたらすことが示唆された。本実験の終了後、現在、心理検査および画像検査の解析を行っているところである。

3 . 六君子湯のがん悪液質に及ぼす効果の中樞への関与の解析

摂食制限によって視床下部室傍核CRH・TRHの低下、弓状核POMC・CARTの低下、弓状核NPYおよび視床下部外側野MCHが増加した。PCPA投与後に摂食制限を行った場合、弓状核POMC・CARTは低下せず、NPYは有意に増加するものの十分な増加を示さなかった。視床下部および血中セロトニン濃度は著明に減少していた。PCPA投与ラットでは、シスプラチン投与による摂食量の減少および体重の減少が見られた。これらのラットで六君子湯を胃内投与した場合、シスプラチン投与による摂食量の減少および体重の減少の抑制傾向は見られたが有意な変化ではなかった。

4 . がん悪液質モデル動物の構築、ならびに悪液質発生機序の解明と治療法の開発

アデニル酸シクラーゼの直接活性化により細胞内cAMPを増加させるforskolinは、AtT-20細胞およびGH3細胞からそれぞれACTHおよびGHの分泌を有意に促進した。一方、六君子湯はGH3細胞からのGH分泌を有意に抑制した。AtT-20細胞からのACTH分泌に対しても、抑制する傾向が認められた。forskolin 1 μ Mで刺激した時のホルモン

分泌に対しては、両細胞で六君子湯の有意な作用を認めなかった。六君子湯を構成する8種類の成分のうち、これまでの研究で強力なcAMP増加作用を有することが判明したチンピとニンジンの抽出液は、両者ともAtT-20細胞からのACTH分泌に対して有意に分泌促進作用を認めたが、GH3細胞からのGH分泌に対しては明らかな作用を認めなかった。

5 . 六君子湯のがん悪液質（特に消化器症状）に対する効果の基礎実験

正常対照群の十二指腸灌流液中のセロトニン濃度は、31.5 \pm 2.7 ng/ml (n=5)、六君子湯単独投与群は、39.0 \pm 2.6 ng/ml (n=5)で正常対象群と有意差はなかった。シスプラチン単独投与群は、62.5 \pm 3.2 ng/ml (n=5)で、正常対照群 (P<0.01) や六君子湯単独投与群 (P<0.05) より有意に増加した。シスプラチンと六君子湯併用投与群は、30.5 \pm 1.7 ng/ml (n=5)で、シスプラチン投与群より有意に減少(P<0.01)し、正常レベルに戻った。

6 . がん悪液質モデル動物末梢組織の解析と六君子湯投与による影響

WATにおける脂質分解関連タンパク質の発現は、30%CRおよび70%CRにおいても有意に増加した。また、CCにより有意に増加した。一方、脂肪酸合成関連タンパク質の発現は、30%CRでは有意に増加したが、70%CRでは有意に減少した。また、CCで減少した。加えて、六君子湯やグレリンは、CCによる脂質分解関連タンパク質発現の増加に影響を与えなかった。一方、CC

による脂肪酸合成関連タンパク質発現の減少やリン酸化Aktの減少は、六君子湯により改善傾向を示した。またグレリンはCCによる脂肪酸合成関連タンパク質発現の減少を一部改善した。しかし、グレリンによる作用はCCに対してよりもコントロール群に対する方が強かった。

7. 大建中湯の抗炎症作用のメカニズム解明

消化管平滑筋細胞および神経叢にKCNKsが発現していることを確認した。KCNKs ブロッカーはMMCを惹起し、そのMMCはKCNKs オープナーで減弱した。sanshoolsは強く律動的なMMCが観察され、KCNKs オープナーによって用量依存的に減弱し、高用量で完全消失した。単独投与ではMMCを起こさない低用量の sanshools と shogaols/gingerols を同時投与するとMMCが起こることを観察した。

8. 六君子湯の食思増進に及ぼす効果の検討、ならびに抗がん剤およびがん悪液質による食思不振に対する効果についての臨床研究

臨床試験名を「ゲムシタピン投与隣がん患者における悪液質発症および進行に対する六君子湯の抑制効果-無作為化第 相比較試験」に変更し、適格基準のうち「食欲不振症状」および「CRP」の項目を削除した。また、研究参加施設を2施設追加した。この改正プロトコルが平成25年10月に独立データモニタリング委員会に承認され、各施設で倫理委員会の承認を得て、再度登録開始となった。平成26年3月まで

に11例の登録が得られた。

「シスプラチンを含む化学療法を施行される子宮がん患者の食欲不振に対する六君子湯の効果-無作為化第 相比較試験」について、平成24年度より担当することとなり、本研究班で組織されるデータセンターならびに統計専門家らとともに、フルプロトコルを作成し、平成25年7月に倫理委員会での承認を得た。その後3回のメモランダム発行を経て、平成25年12月より症例登録開始の運びとなった。

D. 考察

1. 六君子湯のがん悪液質の改善効果のメカニズムの解明

85As2細胞移植悪液質ラットモデルでは、血中LIFが上昇しており、LIFの上昇が悪液質を誘発する可能性をこれまでに研究結果で報告している。遺伝子網羅的解析の結果から、85As2細胞においてMKN45clone85細胞と比較し、TLR5シグナル経路が活性化していることが示され、TLR5リガンド刺激によるLIF産生が亢進していた。これらの結果より、85As2細胞による悪液質の発症および重篤化には、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。

本モデルラットでは、血中LIF濃度が高く、血中グレリン濃度も上昇しており、グレリン抵抗性が惹起されている。六君子湯は、血中グレリンおよびLIF濃度に影響を及ぼすことなく、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に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、グレリン受容体数の検討を行ったところ、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。従って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CellKey™アッセイ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することを報告した。

以上より、六君子湯は、グレリン抵抗性が起こっている85As2細胞移植による同がん悪液質モデルラットにおいて、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軽減を介して悪液質を改善す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

2．六君子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

予備検討の結果によれば、六君子湯は動物実験と同様にヒトにおいても、中枢への作用を有する可能性が示唆された。終了した本試験の解析を詳細に行うことで、ヒトに対する六君子湯の中枢作用を明らかにしていく予定である。

3．六君子湯のがん悪液質に及ぼす効果の中枢への関与の解析

今回、六君子湯によるシスプラチンで起こる摂食抑制作用の改善にセロトニン系が関与している可能性について検討した。その結果、シスプラチン投与による摂食抑制および体重減少に対する六君子湯の抑制効果にセロトニン系が一部関与している可能性が見出された。

加えて、今回作製したセロトニン枯渇モデルラットにおいて、視床下部および血中のセロトニン濃度が著明に減少していることを見出した。従って、このセロトニン枯渇モデルラットは、視床下部のみならず全身のセロトニン系が枯渇した状態であり、六君子湯が作用するセロトニン系の局在部位を同定することができなかった。しかし、視床下部におけるセロトニン系の関与は極めて大きいことから、今後、六君子湯の作用点をより詳細に検討する。

4．がん悪液質モデル動物の構築、ならびに悪液質発生機序の解明と治療法の開発

これまでの研究により、六君子湯は種々の細胞でcAMP増加作用を有することが明らかになった。しかし、特定の細胞への影響は、それぞれの細胞に固有の複雑なシグナル伝達経路への、六君子湯が含む様々な物質の影響の結果として現れるため、必ずしもcAMP増加のみによって説明できるとは限らない。

以前、私たちは副腎髄質由来の培養細胞において、六君子湯が細胞内cAMPを増加させ、副腎髄質ホルモンの合成

に関わる律速酵素の遺伝子発現を促進すること、さらにカテコラミン分泌を促進することを見出した。今回、2種類の下垂体細胞を対象として、六君子湯の作用を検討した結果、細胞内cAMP増加作用は認められたものの、ホルモン分泌促進作用は認めず、GH分泌に対してはむしろ抑制作用が認められた。同条件下の実験で、アデニル酸シクラーゼを直接活性化して細胞内cAMPを増加させる試薬forskolinは、両細胞からのホルモン分泌を促進することが確認されたため、六君子湯によるホルモン分泌抑制はcAMPを介するものではないと考えられる。実際、六君子湯の構成成分のうち、cAMPの増加作用が特に強いニンジンとチンピは、AtT-20細胞からのACTH分泌を促進した。このことは、cAMP増加作用以外の作用を有する物質が六君子湯に含まれており、それらがホルモン分泌に抑制的に働く可能性を示唆する。

本研究で用いたAtT-20細胞およびGH3細胞は下垂体腫瘍由来の培養細胞であり、正常に分化した下垂体細胞の機能を一定程度保持しているが、細胞外刺激に対する反応性は正常と異なる可能性は否定できない。したがって今回の研究結果は、動物から分離した正常下垂体の初代培養細胞などを用いて確認する必要がある。

5．六君子湯のがん悪液質（特に消化器症状）に対する効果の基礎実験

抗がん剤でおこる悪心・嘔吐は患者のQOLを著しく障害する。本来悪心・嘔吐は5-HT₃受容体拮抗剤の投与で消失することが知られているが便秘などの副作用が避けられない。六君子湯が

抗がん剤による嘔吐作用に効果があり、しかも副作用がないとすれば、極めて有用な治療法と言える。

シスプラチンは消化管のEC細胞からのセロトニン分泌を刺激し、悪心・嘔吐を惹起することが知られている。本研究の結果、六君子湯はシスプラチンで刺激されるEC細胞からのセロトニン分泌を直接ブロックすることがわかり、過剰なセロトニン分泌で起こるシスプラチンの副作用に効果があることが判明した。

6．がん悪液質モデル動物末梢組織の解析と六君子湯投与による影響

CCのWATは70%CRのWATと類似していたが、30%CRのWATとは特に脂肪酸合成関連タンパク質の発現に関して対照的であった。

六君子湯による脂質分解系への効果は観察できなかったが、六君子湯がCCにより減少した脂肪酸合成系タンパク質発現やリン酸化Aktを増加させたことから、六君子湯によるCC病態の改善効果の一部は、de novo脂肪酸合成の亢進およびインシュリン抵抗性改善にある可能性が示唆された。

また、グレリンにより、脂肪酸合成系タンパク質発現亢進作用はCCに対してよりもコントロール群に対する方が強かったことから、六君子湯によるCC病態の改善効果の一部は、グレリンを介するものの、CCによるグレリン抵抗性がグレリン作用を減弱させている可能性が考えられた。

7．大連中湯の抗炎症作用のメカニズム解明

体内に吸収された大建中湯の主要成分である乾姜のshogaols/gingerolsが濃度依存性に腸管上皮細胞に存在するTRPA1チャンネルを刺激し、アドレノメデュリンを分泌させることが判明した。しかし、薬物動態試験結果では6-shogaolの血中濃度は低く、われわれの*in vitro*の実験に用いた有効濃度とはかなりかけ離れていた。そこで、一過性ではあるが、血中に高濃度に吸収される山椒成分に着目した。山椒成分のhydroxy- α -sanshool と hydroxy- β -sanshoolは、乾姜成分同様にTRPチャンネルTRPA1、TRPV1のアゴニスト作用があるだけでなく、電位開口型カリウムチャンネルKCNKのプロッカーであることが知られている。KCNKチャンネルはほとんどの細胞の細胞膜に存在し、カリウムを細胞内から細胞外に選択的に排出し、細胞機能を維持している。その細胞機能のひとつに細胞活動の感受性を低くし、外来刺激閾値を高めることで細胞自体の安定性を高めている。神経細胞では電位依存性のNaチャンネルの開放を制御している。私たちはこれまで、hydroxy- α -sanshoolやhydroxy- β -sanshoolが腸管平滑筋細胞や腸管神経細胞のKCNK3やKCNK9のプロッカーとなることで腸管運動を亢進していることを明らかにしてきた。これらの結果を踏まえ、大建中湯が投与されると、まず最初に山椒成分が腸管上皮細胞や腸管平滑筋、腸管神経細胞のKCNKチャンネルをブロックし、各細胞の感受性を高く、つまり閾値を低くすることで、後から到達する乾姜成分の刺激量（血中濃度）が低くても効果が発現できる状態に変化させるという仮説を提唱した。今回、腸管運動を単独では全く影響を与えない程度の山椒成分と乾姜成

分の両者を投与すると強い蠕動亢進が起こることが観察された。

体内に吸収された大建中湯の主要成分である乾姜のshogaols/gingerolsが、トランジェントレセプターポテンシャルチャンネルというカルシウムチャンネルを介して抗炎症性サイトカイン、抗炎症作用があることを明らかにしてきた [Surgery 2009, J Crohn's Colitis 2010, J Gastroenterology 2011, Drug Metabolism and Disposition 2011]。これら成分が痛みや炎症の原因であるプロスタグランジンE₂産生を相互的かつ多標的に抑制する可能性が指摘でき、漢方薬が合剤である意義を一部、明らかにすることができたと考える。

8 . 六君子湯の食思増進に及ぼす効果の検討、ならびに抗がん剤およびがん悪液質による食思不振に対する効果についての臨床研究

膵がんにおいて、軽度悪液質または前悪液質状態にある患者は非常に少ないことが明らかになり、症例登録が進まない一因となった。今年度の改正により、症例登録数の増加を見込んでいる。

六君子湯はがん患者の悪液質の進行を抑制し、QOLや予後を改善する可能性があるため、本臨床研究において探索的な試験を行い、有用な評価項目が認められれば第Ⅱ相の臨床試験を計画して検証していく。

六君子湯はシスプラチンを含む化学療法を受けるがん患者において観察される嘔吐や食欲不振を抑制することで患者のQOLを改善し、治療のコンプライアンスを高める可能性があるため、本臨床研究において探索的な試験を行

い、有用な評価項目が認められれば第相の臨床試験を計画して検証していく。

E．結論

本研究は、漢方薬六君子湯、大建中湯の作用メカニズムを明らかにすること、ならびに同漢方薬の有効性を臨床研究を用いて確立するものである。

基礎研究においては、ヒト胃がん細胞株由来85As2細胞移植新規がん悪液質動物モデルにおいて、発症メカニズムとしてTLR5シグナル経路活性化によるLIF産生亢進が関与している可能性を示した。六君子湯は、グレリン分泌亢進やLIF抑制ではなく、グレリン抵抗性の改善を介して本がん悪液質を改善することが示唆された。本研究結果から、六君子湯の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。

さらに、がん悪液質の病態では脳腸ペプチドが重要な役割を果たしていることを私たちの動物実験の結果で示し、健常人に対して六君子湯を投与し、fMRIを用いて中枢作用の検討を行った。予備検討から六君子湯はヒトにおいても中枢作用を有する可能性が示唆された。

シスプラチンによる摂食抑制作用および六君子湯による摂食改善作用の一つとして、シスプラチンでおこる十二指腸のEC細胞からのセロトニン分泌を抑制し、抗がん剤の副作用としての悪心・嘔吐を抑制する効果があることが示された。

また、ACTH産生下垂体細胞およびGH産生下垂体細胞を用いた六君子湯の研究より、細胞内cAMP増加作用を有

するが、その細胞内cAMP増加作用だけでは説明できない、ホルモン分泌抑制的な作用を有することを明らかにした。

セロトニン枯渇モデルラットを用いて、シスプラチン投与によって生じる体重減少・摂食抑制が六君子湯の胃内投与によって改善するメカニズムに一部はセロトニン系を介した視床下部摂食関連ペプチド遺伝子発現の変化が関与している可能性を見出した。

また、六君子湯投与による一部グレリンシグナルを介した白色脂肪組織におけるde novo脂肪酸合成系の活性化およびインシュリン抵抗性の改善が、がん悪液質病態の改善に重要である可能性が示唆された。

大建中湯の成分を用いた研究において、大建中湯の山椒成分が標的細胞のKCNKチャンネルをブロックすることで薬物感受性を高めることで、低用量の乾姜成分でも多標的にアラキドン酸代謝酵素を抑制しプロスタグランジンE2を特異的に抑制出来る可能性が示唆された。

臨床研究においては、がん患者のQOL向上のための六君子湯のエビデンスを確立するため、隣がん患者を対象として臨床試験を開始した。本年度はプロトコールの改正を行った。改訂プロトコールに基づいて臨床研究を継続中である。

加えて、がん患者のQOL向上のための六君子湯のエビデンスを確立するため、シスプラチン投与に伴う嘔吐、食欲不振の抑制効果を検証するための第Ⅱ相臨床試験を開始し、現在も試験を継続している。

抗がん剤による悪心嘔吐等の消化器

症状改善、体重減少、倦怠感などのがん悪液質の症状改善は、がん患者のQOL向上や生命予後に重要であるにも関わらず、治療法が確立されていない。当班では、六君子湯が抗がん剤による食思不振改善効果を有すること、また食欲改善ペプチドであるグレリンシグナルを増強することを見出した。

ほとんど副作用を有しない漢方薬が、抗がん剤副作用改善、ならびにがん悪液質症状改善に有効であることが科学的に立証されれば、両漢方薬は薬価収載されており、直ちに臨床現場での広範な応用が可能である。

F . 健康危険情報

なし。

G . 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. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. Okura D, Horishita T, Ueno S, Yanagihara N, Sudo Y, Uezono Y, Sata T. The endocannabinoid anandamide inhibits voltage-gated sodium channels Nav1.2, Nav1.6, Nav1.7 and Nav1.8 in *Xenopus* Oocytes. *Anesth Analg*, 118 (3):

- 554-562, 2014.
10. 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.
 11. 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.
 12. 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 NaV1.2, NaV1.6, NaV1.7 and NaV1.8 in *Xenopus* Oocytes. *Anesthesiology*, epub ahead of print, 2014.
 13. Suzuki H, Asakawa A, Amitani H, Fujitsuka N, Nakamura N, Inui A. Cancer cachexia pathophysiology and translational aspect of herbal medicine. *Jpn J Clin Oncol*, 43 (7): 695-705, 2013.
 14. Suzuki H, Asakawa A, Amitani H, Nakamura N, Inui A. Cancer cachexia--pathophysiology and management. *J Gastroenterol*, 48 (5): 574-594, 2013
 15. Amitani M, Asakawa A, Amitani H, Inui A. Control of food intake and muscle wasting in cachexia. *Int J Biochem Cell Biol*, 45 (10): 2179-2185, 2013.
 16. 鈴木甫, 浅川明弘, 網谷東方, 乾明夫. Cachexiaの診断、病態と治療. 栄養-評価と治療, 30 (4): 268-271, 2013.
 17. 網谷真理恵, 網谷東方, 浅川明弘, 乾明夫. Cachexiaの新しい治療. 栄養-評価と治療, 30 (4): 293-297, 2013.
 18. 米田孝一, 浅川明弘, 乾明夫. 緩和ケアチームからみたcachexiaへのアプローチ. 栄養-評価と治療, 30 (4): 298-300, 2013.
 19. 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.
 20. Yoshimura M, Ohkubo J, Katoh A, Ohno M, Ishikura T, Kakuma T, Yoshimatsu H, Murphy D, Ueta Y. A c-fos-monomeric red fluorescent protein 1 fusion transgene is differentially expressed in rat forebrain and brainstem after chronic dehydration and rehydration. *J Neuroendocrinol*, 25 (5): 478-487, 2013.
 21. 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.
 22. Yoshimura M, Matsuura T, Ohkubo J, Maruyama T, Ishikura T, Hashimoto H, Kakuma T, Mori M, Ueta Y. A role of nesfatin-1/NucB2 in dehydration- induced anorexia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, epub ahead of print, 2014.
 23. Horiuchi K, Okamoto T, Iihara M, Tsukada T. An analysis of genotype-

- phenotype correlations and survival outcomes in patients with primary hyperparathyroidism caused by multiple endocrine neoplasia type 1: the experience at a single institution. *Surg Today*, 43 (8): 894-899, 2013.
24. Ataka K, Asakawa A, Nagaishi K, Kaimoto K, Sawada A, Hayakawa Y, Tatezawa R, Inui A, Fujimiya M. Bone marrow-derived microglia infiltrate into the paraventricular nucleus of chronic psychological stress-loaded mice. *PLoS One*, 8 (11): e81744, 2013.
 25. Chiba H, Ataka K, Iba K, Nagaishi K, Yamashita T, Fujimiya M. Diabetes impairs the interactions between long-term hematopoietic stem cells and osteopontin-positive cells in the endosteal niche of mouse bone marrow. *Am J Physiol Cell Physiol*, 305 (7): C693-C703, 2013.
 26. Nagaishi K, Ataka K, Echizen E, Arimura Y, Fujimiya M. Mesenchymal stem cell therapy ameliorates diabetic hepatocyte damage in mice by inhibiting infiltration of bone marrow-derived cells. *Hepatology*, 59 (5): 1816-1829, 2014.
 27. Matsuo T, Miyata Y, Sagara Y, Higami Y, Tobu S, Matsuo M, Noguchi M, Shimokawa I, Kanetake H, Sakai H. Renoprotective effects of telmisartan after unilateral renal ablation in rats. *Int J Nephrol Renovasc Dis*, 6: 207-214, 2013.
 28. Okita N, Yoshimura M, Watanabe K, Minato S, Kudo Y, Higami Y, Tanuma S. CHK1 cleavage in programmed cell death is intricately regulated by both caspase and non-caspase family proteases. *Biochim Biophys Acta*, 1830 (1): 2204-2213, 2013.
 29. 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)*, 35 (4): 1143-1156, 2013.
 30. 土屋拓郎, 沖田直之, 須藤結香, 樋上賀一. カロリー制限が白色脂肪組織における脂肪酸合成に及ぼす影響の経時的解析. *基礎老化研究*, 37 (3): 29-31, 2013.
 31. 須藤結香, 沖田直之, 樋上賀一. カロリー制限による抗老化・寿命延伸効果のメカニズム ～脂肪組織のリモデリングと脂質代謝の活性化～. *自律神経*, 50 (3): 192-195, 2013.
 32. Okita N, Ishikawa N, Mizunoe Y, Oku M, Nagai W, Suzuki Y, Matsushima S, Mikami K, Okado H, Sasaki T, Higami Y. Inhibitory effect of p53 on mitochondrial content and function during adipogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*, 446 (1): 91-97, 2014.
 33. Kono T, Kaneko A, Omiya Y, Ohbuchi K, Ohno N, Yamamoto M. Epithelial transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1)-dependent adrenomedullin up-regulates blood flow in rat small intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 304 (4): 428-436, 2013.
 34. Kono T, Hata T, Morita S, Munemoto Y, Matsui T, Kojima H, Takemoto H, Fukunaga M, Nagata N, Shimada M, Sakamoto J, Mishima H. Goshajinkigan Oxaliplatin Neurotoxicity Evaluation (GONE): a

- phase 2, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of goshajinkigan to prevent oxaliplatin-induced neuropathy. *Cancer Chemo Pharm*, 72 (6): 1283-1290, 2013.
35. Munekage M, Ichikawa K, Kitagawa H, Uehara H, Watanabe J, Kono T, Hanazaki K. Population pharmacokinetic analysis of daikenchuto, a traditional Japanese medicine (kampo) in Japanese and US health volunteers. *Drug Metab Dispos*, 41 (6): 1256-1263, 2013.
 36. Kaneko A, Kono T, Miura N, Tsuchiya N, Yamamoto M. Preventive effect of TU-100 on a type-2 model of colitis in mice: Possible involvement of enhancing adrenomedullin in intestinal epithelial cells. *Gastroenterol Res Pract*, doi:10.1155/2013/384057, 2013.
 37. Sakatani A., Fujiya M, Ito T, Inaba Y, Ueno N, Kashima S, Tominaga M, Moriichi K, Okamoto K, Tanabe H, Ikuta K, Ohtake T, Kono T, Furukawa H, Ashida T, Kohgo Y. Infliximab extends the duration until the first surgery in patients with Crohn's disease. *BioMed Res Int*, 2013: doi: 10.1155/2013/879491, 2013.
 38. 河野透, 武田宏司, 上園保仁, 島田光生. *消化器外科と漢方*. *消化器外科*, 36 (9), 1299-1305, 2013.
 39. 河野透, 武田宏司, 上園保仁. *外科医のためのKampo EBM UP-TO DATE 抗癌剤の副作用と漢方薬*. *日本外科学会雑誌*, 114 (5), 251-255, 2013.
 40. 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.
 41. 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.
 42. Shimada M, Morine Y, Nagano H, Hatano E, Kaiho T, Miyazaki M, Kono T, Kamiyama T, Morita S, Sakamoto J, Kusano M, Saji S, Kanematsu T, Kitajima M. Effect of TU-100, a traditional Japanese medicine, administered after hepatic resection in patients with liver cancer: a multi-center, randomized, double-blind, placebo-controlled phase II trial (JFMC40-1001). *Int J Clin Oncol*, epub ahead of print, 2014.
 43. Ueno N, Hasebe T, Kaneko A, Yamamoto M, Fujiya M, Kohgo Y, Kono T, Wang CZ, Yuan CS, Bissonnette M, Chang EB, Musch MW. TU-100 (daikenchuto) and ginger ameliorate anti-CD3 antibody induced T cell-mediated murine enteritis: microbe-independent effects involving Akt and NF- κ B suppression. *PloS ONE*, epub ahead of print, 2014.
 44. 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.
 45. Aoyama T, Nishikawa K, Takiguchi N, Tanabe K, Imano M, Fukushima R,

- Sakamoto J, Oba MS, Morita S, Kono T, Tsuburaya A. Double-blind, placebo-controlled, randomized phase II study of TJ-14 (hangeshashinto) for gastric cancer chemotherapy-induced oral mucositis. *Cancer Chemother Pharmacol*, 73 (5): 1047-1054, 2014.
46. Watanabe K, Karasaki H, Mizukami Y, Kawamoto T, Kono T, Imai K, Einama T, Taniguchi M, Kohgo Y, Furukawa H. Cyst infection of intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas: management of a rare complication: report of 2 cases. *Pancreas*, 43 (3): 478-481, 2014.
 47. Nahata M, Muto S, Nakagawa K, Ohnishi S, Sadakane C, Saegusa Y, Iizuka S, Hattori T, Asaka M, Takeda H. Serotonin 2C receptor antagonism ameliorates novelty-induced hypophagia in aged mice. *Psychoneuroendocrinology*, 38 (10): 2051-2064, 2013.
 48. Yamada C, Saegusa Y, Nakagawa K, Ohnishi S, Muto S, Nahata M, Sadakane C, Hattori T, Sakamoto N, Takeda H. Rikkunshito, a Japanese Kampo medicine, ameliorates decreased feeding behavior via ghrelin and serotonin 2B receptor signaling in a novelty stress murine model. *BioMed Res Int*, 2013: 792940, 2013.
 49. Takeda H, Nakagawa K, Okubo N, Nishimura M, Muto S, Ohnishi S, Sakamoto N, Hosono H, Asaka M. Pathophysiological basis of anorexia: focus on the interaction between ghrelin dynamics and the serotonergic system. *Biol Pharm Bull*, 36 (9): 1401-1405, 2013.
 50. 武田宏司, 武藤修一, 大西俊介, 河野透. 抗癌剤に伴うcachexiaとその治療. *栄養-評価と治療*, 30 (4): 283-286, 2013.
 51. Kato T, Watari H, Takeda M, Hosaka M, Mitamura T, Kobayashi N, Sudo S, Kaneuchi M, Kudo M, Sakuragi N. Multivariate prognostic analysis on the patients with adenocarcinoma of the uterine cervix treated with radical hysterectomy and systematic lymphadenectomy. *J Gynecol Oncol*, 24 (3): 222-228, 2013.
 52. Dong P, Kaneuchi M, Konno Y, Watari H, Sudo S, Sakuragi N. Emerging therapeutic biomarkers in endometrial cancer. *Biomed Res Int*, 2013: 130362, 2013.
 53. Mitamura T, Watari H, Wang L, Kanno H, Hassan MK, Miyazaki M, Katoh Y, Kimura T, Tanino M, Nishihara H, Tanaka S, Sakuragi N. Downregulation of miRNA-31 induces taxane resistance in ovarian cancer cells through increase of receptor tyrosine kinase MET. *Oncogenesis*, 25 (2): e40, 2013.
 54. Todo Y, Watari H, Okamoto K, Hareyama H, Minobe S, Kato H, Sakuragi N. Tumor volume successively reflects the state of disease progression in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*, 129 (3): 472-477, 2013.
 55. Sakuragi N. Recent advances in research on epigenetic alterations and clinical significance of para-aortic lymphadenectomy in endometrial cancer: an introduction. *Int J Clin Oncol*, 18 (2): 183-185, 2013.
 56. Watari H, Todo Y, Kang S, Odagiri T, Sakuragi N. Proposal of a concept and design of a randomized phase III trial investigating the survival effect of para-aortic lymphadenectomy in endometrial cancer. *J Obstet Gynaecol Res*, 40 (2): 312-316, 2014.
 57. Todo Y, Watari H, Kang S, Sakuragi N.

- N. Tailoring lymphadenectomy according to the risk of lymph node metastasis in endometrial cancer. *J Obstet Gynaecol Res*, 40 (2): 317-321, 2014.
58. Dong P, Kaneuchi M, Watari H, Sudo S, Sakuragi N. MicroRNA-106b modulates epithelial-mesenchymal transition by targeting TWIST1 in invasive endometrial cancer cell lines. *Mol Carcinog*, 53 (5): 349-359, 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. 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).
 4. 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).
 5. 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).
 6. 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).
 7. 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).
 8. 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).
 9. 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).
 10. 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).
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ラ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、がん細胞移植前からの予防的な投与、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 (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 10⁻⁷M) 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

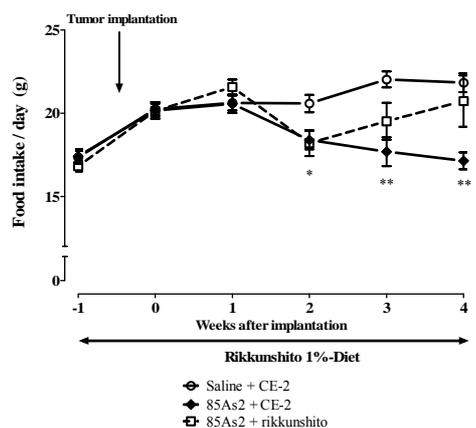
(1) 六君子湯の予防的効果の検討

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)。

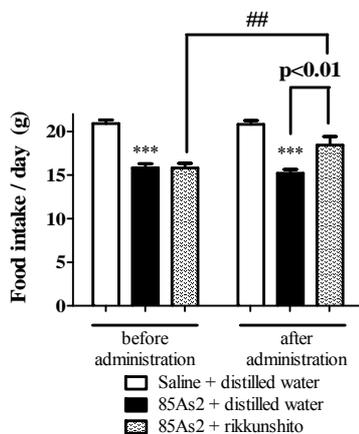
(2) 六君子湯の治療的効果の検討

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。



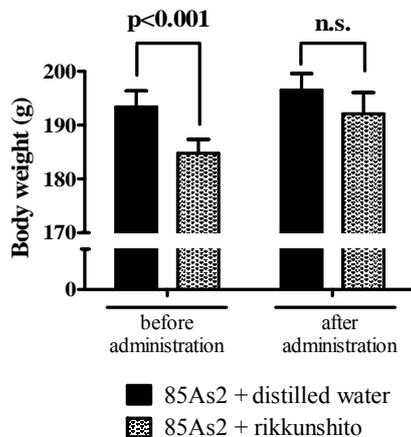
Each data represents the mean \pm S.E.M. of 9-11 rats. The significant differences were evaluated using one-way ANOVA followed by post hoc Dunnett's Multiple Comparison Test: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs Saline + DW group, and # $p < 0.05$ vs 85As2 + DW group

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 \pm 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 \pm 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

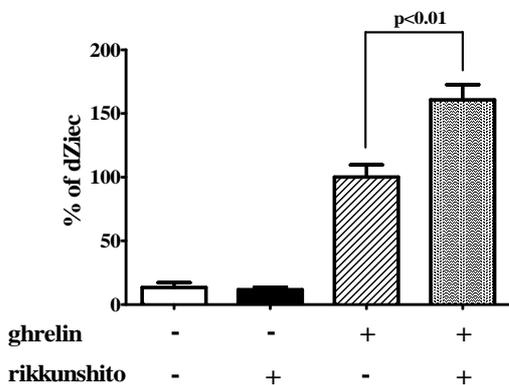
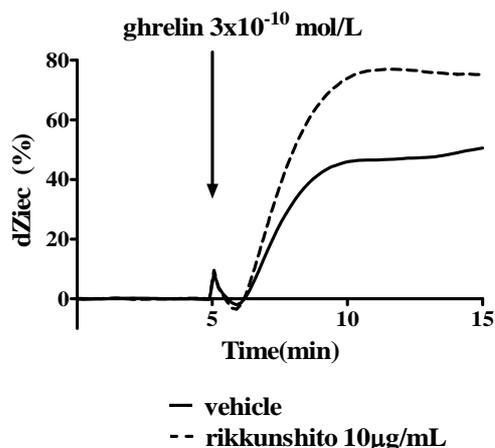
は、移植2週目に有意な体重減少および有意な摂食量低下が認められた。六君子湯7日間投与群では、摂食量低下の有意な改善が認められた。六君子湯または蒸留水7日間投与終了後、グレリン投与による摂食亢進作用を検討した。

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. ترام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).
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, 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).
 30. Terawaki K, Kashiwase Y, Suzuki M, Miyano K, Yanagihara K, Shiraishi 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, 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).
 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。

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 がん悪液質の病態では脳腸ペプチドが重要な役割を果たしている。六君子湯投与によってがん悪液質が改善した動物実験の結果を踏まえ、fMRIを用いて健常人に対する六君子湯の中樞作用を検討した。予備検討にてヒトにおいても中樞作用を有する可能性が示唆された。

A．研究目的

抗がん剤の副作用を含めたがん悪液質による症状を軽減するため、六君子湯の有効性や奏功機序を立証することで、がん患者のQOL向上や生命予後を改善する可能性がある。がん悪液質の病態では脳腸ペプチドが重要な役割を果たしており、平成25年度は六君子湯投与によってがん悪液質が改善した動物実験の報告（Translational Psychiatry, 2011）を踏まえ、ヒトに対する六君子湯の中樞作用の解明を目的とする。

B．研究方法

20歳以上の健常人20名を六君子湯投与群および対照群の2群に無作為に割り付け、六君子湯投与前にfMRIを実施する。六君子湯を経口投与し、90分

の安静時間に心理検査（POMS、BDI、G SRS、VAS、Edinburgh Handedness Inventory）を行い、fMRIを実施する。撮像中に運動、語想起、嗅覚、味覚などの刺激を与え、脳局所におけるオキシヘモグロビン濃度を測定することにより、作用部位の特定を行う。

（倫理面への配慮）

当該施設の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

予備検討では、六君子湯の単回投与により、認知刺激下での脳血流に変化をもたらすことが示唆された。本実験は終了したが、担当者の体調不良のため、心理検査および画像検査の解析ができておらず、結果の解析を他の者に

引き継ぐことも検討中である。

D . 考察

予備検討の結果のみであるが、六君子湯は動物実験と同様にヒトにおいても、中枢への作用を有する可能性が示唆された。今後は本試験の解析を行い、ヒトに対する六君子湯の中枢作用を明らかにしていく。

E . 結論

がん悪液質の病態では脳腸ペプチドが重要な役割を果たしている。六君子湯投与によってがん悪液質が改善した動物実験の結果を踏まえ、fMRIを用いて健常人に対する六君子湯の中枢作用を検討した。予備検討から六君子湯はヒトにおいても中枢作用を有する可能性が示唆された。

F . 研究発表

1. 論文発表

1. Suzuki H, Asakawa A, Amitani H, Fujitsuka N, Nakamura N, Inui A. Cancer cachexia pathophysiology and translational aspect of herbal medicine. Jpn J Clin Oncol. 2013 Jul;43(7):695-705. Review.
2. Suzuki H, Asakawa A, Amitani H, Nakamura N, Inui A. Cancer cachexia--pathophysiology and management. J Gastroenterol. 2013 May;48(5):574-94. doi: 10.1007/s00535-013-0787-0. Epub 2013 Mar 20. Review.
3. Amitani M, Asakawa A, Amitani H, Inui A. Control of food intake and muscle wasting in cachexia. Int J

Biochem Cell Biol. 2013 Oct; 45(10):2179-85.

4. 鈴木 甫, 浅川 明弘, 網谷 東方, 乾 明夫【Cachexia と栄養管理】 Cachexia の診断、病態と治療. 栄養-評価と治療(0915-759X)30 巻 4 号 ページ 268-271(2013.11)
5. 網谷 真理恵, 網谷 東方, 浅川 明弘, 乾 明夫【Cachexia と栄養管理】 Cachexia の新しい治療. 栄養-評価と治療(0915-759X)30 巻 4 号 ページ 293-297(2013.11)
6. 米田 孝一, 浅川 明弘, 乾 明夫【Cachexia と栄養管理】 緩和ケアチームからみた cachexia へのアプローチ. 栄養-評価と治療(0915-759X)30 巻 4 号 ページ 298-300(2013.11)

2. 学会発表

1. Asakawa A, Fujitsuka N, Uezono Y, Minami K, Yamaguchi T, Niijima 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. Dec 10, 2013. Kobe, Japan.
2. 乾 明夫 癌の緩和医療と漢方 第19回岐阜東洋医学研究会 2013年1月17日 岐阜
3. 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 2013年6月21日 横浜
4. 乾 明夫 緩和医療と漢方薬 - エビデンス

- | | |
|--|---|
| <p>を中心に - 第22回ひむか東洋医学学会学術講演会 2013年11月10日
宮崎</p> <p>5. <u>乾 明夫</u>
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 2013年12月7日 名古屋</p> <p>6. <u>乾 明夫</u>
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 2013年10月25日 京都</p> <p>7. <u>乾 明夫</u>
がん悪液質の病態と治療 Cross Cancer Research Symposium 2013 2013年11月9日 東京</p> | <p>G . 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)</p> <p>1. 特許取得</p> <p>なし</p> <p>2. 実用新案登録</p> <p>なし</p> <p>3. その他</p> <p>なし</p> |
|--|---|

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(シスプラチン)を末梢投与することで生じる副作用としての摂食抑制作用が六君子湯の投与によって改善することを確認した。この効果にセロトニン系が関与しているか否かについてセロトニン枯渇モデル動物を作成して検討した。その結果、シスプラチン投与によって生じる摂食抑制作用の六君子湯による改善効果にセロトニン系が一部関与していることを見出した。

A . 研究目的

我々の正常な摂食行動は、種々の神経性・液性情報によって多層かつ巧妙に調節されている。特に、視床下部における摂食促進ペプチドおよび摂食抑制ペプチド(視床下部摂食関連ペプチド)の役割は大きい。一方、がん悪液質に特徴的な食思不振、体重減少などの脳内メカニズムについては未だ十分には解明されていない。また、抗がん剤の副作用としての嘔気・嘔吐は重大な症状であるにもかかわらず改善するのは難しい。

我々は、これまでに動物(ラット)に抗がん剤(シスプラチン)を投与することによって生じる摂食抑制作用および体重減少に対して六君子湯の投与がグレリンの分泌を促進し、摂食抑制・体重減少を有意に改善することを見出した。さらに、この六君子湯の効果は、血中グレリン濃度を増加させ

て視床下部摂食関連ペプチドの変動を正常レベルに是正することによって生じていることが示唆された。

最近、抗がん剤による摂食抑制作用および六君子湯の摂食促進作用にセロトニン系が関与している可能性が報告されている。

そこで今年度は、パラクロロフェニルアラニン(PCPA)を末梢投与することによりセロトニン枯渇モデル動物(ラット)を作製し、視床下部における視床下部摂食関連ペプチドの変動およびシスプラチンと六君子湯の投与効果について検討し、これらの作用発現にセロトニン系が関与しているか否かについて検討した。

B . 研究方法

7週令雄性ウイスター系ラットを用いて、生理食塩水腹腔内投与+48時間自由給餌群(n=7)、生理食塩

水腹腔内投与 + 48時間摂食制限群 (n=7)、PCPA腹腔内投与 + 48時間自由給餌群 (n=8) およびPCPA腹腔内投与 + 48時間摂食制限群 (n=8) の4群に分けて各処置を行った。Day 0およびDay1に生理食塩水 (1ml/100g体重) もしくはPCPA (20mg/100g体重) を腹腔内投与し、その後Day1からDay3まで48時間自由給餌もしくは摂食制限を行った。実験開始後、24時間毎に体重、摂食量および飲水量を測定した。実験期間中は全て自由飲水とした。

Day3に断頭し、素早く脳を取り出し、体幹血を採血した。取り出した脳は、ドライアイス上で速やかに凍結して、その後-80℃で保存した。保存した脳からクリオスタットを用いて12μmの凍結切片を作成し、*in situ*ハイブリダイゼーション法を用いて視床下部の摂食促進ペプチド (NPY、AgRP、MCH、Orexin) ・摂食抑制ペプチド (Oxytocin、CRH、TRH、POMC、CART) 遺伝子発現量を部位別に定量化した。また、HPLC-ECD法を用いて視床下部セロトニン、ノルアドレナリン、ドーパミン量を測定した。同時に採血した体幹血からはセロトニン濃度を測定した。

PCPA (20mg/100g体重、2回/1日1回腹腔内) 投与ラットにシスプラチン (6mg/kg、腹腔内) および六君子湯 (1g/ml/100g体重、経口胃内) を投与して摂食量および体重の変化を調べた。PCPA + シスプラチン + 水道水投与群 (n=8) およびPCPA + シスプラチン + 六君子湯投与群 (n=8) の摂食量および体重を24時間毎に測定した。

(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遺伝子発現、セロトニン濃度など短時間で変動する可能性があるため、ギロチンを用いて素早く断頭した。

C . 研究結果

摂食制限によって視床下部各部位における摂食関連ペプチド遺伝子発現の変動は、以下の通りであった。室傍核におけるCRHおよびTRHの低下、弓状核におけるPOMCおよびCARTの低下、弓状核におけるNPYおよび視床下部外側野におけるMCHが増加した。

PCPA投与後に摂食制限を行った場合、弓状核におけるPOMCおよびCARTの低下を認めず、NPYは有意に増加するものの十分な増加を示さなかった。

視床下部および血中セロトニン濃度は著明に減少していた。なお、視床下部ノルアドレナリンおよびドーパミン濃度にPCPA投与の有無で有意差はなかった。

PCPA投与 (セロトニン枯渇モデル) ラットでは、シスプラチン投与による摂食量の減少および体重の減少が見られた。これらのラットで六君子湯を胃内投与した場合、シスプラチン投与による摂食量の減少および体重の減少の抑制傾向は見られたが有意な変化ではなかった。

D . 考察

今回、抗がん剤（シスプラチン）による摂食抑制作用が六君子湯の経口投与によって改善されるメカニズムにセロトニン系が関与している可能性について検討した。

その結果、シスプラチン投与による摂食抑制および体重減少に対する六君子湯の抑制効果にセロトニン系が一部関与している可能性が見出された。

今回の実験で、PCPAの腹腔内投与によって作成されたセロトニン枯渇モデルラットにおいて視床下部および血中のセロトニン濃度が著明に減少していることを確認した。したがって、このセロトニン枯渇モデルラットは、視床下部のみならず全身のセロトニン系が枯渇した状態であり、六君子湯が作用するセロトニン系の局在部位を同定することができなかった。しかしながら、視床下部におけるセロトニン系の関与の可能性は極めて大きい。今後、この点を含め、六君子湯の作用点におけるより詳細な検討が必要である。

E . 結論

六君子湯によるシスプラチン誘発性摂食抑制作用に対する減弱作用の一部はセロトニン系を介している可能性を見出した。

G . 研究発表

1. 論文発表

1. 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
2. Yoshimura, M. Ohkubo, J. Katoh, A. Ohno, M. Ishikura, T. Kakuma, T. Yoshimatsu, H. Murphy, D. & Ueta, Y. A c-fos-monomeric red fluorescent protein 1 fusion transgene is differentially expressed in rat forebrain and brainstem after chronic dehydration and rehydration. *Journal of Neuroendocrinology* 25(5): 478-487, 2013
3. 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
4. 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. New cancer cachexia rat model generated by implantation of a peritoneal dissemination-derived human stomach cancer cell line. *American Journal of Physiology : Endocrinology and Metabolism* 306: E373-E387, 2014
5. Yoshimura, M. Matsuura, T. Ohkubo, J. Maruyama, T. Ishikura, T. Hashimoto, H. Kakuma, T. Mori, M. & Ueta, Y. A role of nesfatin-1/NucB2 in dehydration-induced anorexia. *American Journal of Physiology :*

Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. (epub ahead of print)

2. 学会発表

1. 上田 陽一、吉村 充弘、橋本 弘史 (2013年8月2-4日) 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
2. 上田 陽一、吉村 充弘、森 昌朋 (2013年8月24日) 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
3. 上田 陽一、橋本 弘史、横山 徹、上園 保仁 (2013年10月3-5日) 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
4. 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 (2013年10月18-19日) 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
5. 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 (2013年10月25-26日) 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
6. 上田 陽一 (2014年1月27日) アノレキシアモデル動物における視床下部摂食関連ペプチド発現と六君子湯の効果：第3次対がん総合戦略研究事業「がん治療の副作用軽減ならびにがん患者のQOL向上のための漢方薬の臨床応用とその作用機構の解明」班 平成25年度 班会議、東京
7. Yoshimura, M. Matsuura, T. Ohkubo, J. Ohno, M. Maruyama, T. Ishikura, T. Kakuma, T. Yoshimatu, H. Mori, M. & Ueta, Y. (2013年7月15-19日) Nesfatin-1/NucB2 is a crucial peptide in dehydration-induced anorexia in rats. 10th World Congress on Neurohypophysial Hormones, Bristol, England
8. Yoshimura, M. Matsuura, T. Ohkubo, J. Ohno, M. Ishikura, T. Kakuma, T. Yoshimatsu, H. Mori, M. & Ueta, Y. (2013年9月10-13日) 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, Japan
9. Ueta, Y. Yoshimura, M. & Uezono, Y. (2013年12月9-11日) Effects of oral administration of Rikkunshito on cisplatin-induced anorexia in rats. 7th Cachexia Conference, Kobe, Japan

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

特記事項なし。

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

がん悪液質モデル動物の構築、並びに悪液質発生機序の解明と治療法の開発

研究分担者 塚田 俊彦 国立がん研究センター研究所
家族性腫瘍研究分野 分野長

研究要旨 昨年度に引き続き、下垂体培養細胞からのホルモン分泌に対する六君子湯の影響を検討した。アデニル酸シクラーゼ活性化薬フォルスコリンは、AtT-20細胞及びGH3細胞のcAMPを増加させるとともに、ACTHおよび成長ホルモン(GH)の分泌を促進した。一方、これらの細胞中のcAMPを増加させる六君子湯は、GH3細胞からのGH分泌を有意に抑制した。AtT-20細胞からのACTH分泌に対しても、有意ではないが抑制する傾向が見られた。以上の結果より、六君子湯はACTH分泌細胞及びGH分泌細胞に対して、その細胞内cAMP増加作用だけでは説明できない、ホルモン分泌抑制的な影響を及ぼすことが示唆された。

A．研究目的

六君子湯は食思不振の治療薬として用いられる漢方薬であり、がん悪液質の軽減にも有効性が期待される。しかし、六君子湯が効果を発現する機序は不明な点が多く、その解明はこの漢方薬の効果的な利用や改良につながると考えられる。我々は以前、六君子湯が副腎髄質細胞内のcAMP量を増加させ、カテコラミンの生合成と分泌を促進することを示した。cAMPは種々のホルモンの生合成と分泌を調節するセカンドメッセンジャーとして知られているため、六君子湯は様々な内分泌細胞の機能に影響する可能性がある。昨年度までの研究により、六君子

湯が副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)産生マウス下垂体培養細胞AtT-20及び成長ホルモン(GH)産生ラット下垂体細胞GH3において、細胞内cAMPを増加させること、しかしACTHやGHの遺伝子発現には明確な変動をもたらさないことが明らかになった。今年度は、これらの細胞からのホルモン分泌に対する六君子湯の影響を引き続き検討した。

B．研究方法

AtT-20細胞及びGH3細胞を六君子湯及びアデニル酸シクラーゼの活性化薬フォルスコリン(forskolin)で刺激し、培養細胞中に放出されるACTH及び

GHを免疫学的測定法により定量した。また、六君子湯の構成成分のうち、細胞内cAMP増加作用が顕著なニンジンとチンピについても、ホルモン分泌作用について検討した。

細胞は実験前日に12-wellまたは24-wellの培養プレートに半密集の状態に細胞を撒き、実験直前に種々の刺激薬を含む新しい培養液に交換した後、経時的に培養液を回収した。刺激実験時も、維持用培養液と同様に血清含有培養液を用いた。

六君子湯は株式会社ツムラより供与された粉末を10% (w/v)の水懸濁液として2分間煮沸した後、1/9容積の10倍濃度リン酸緩衝生理食塩水を加えたものを100%六君子湯液とした。チンピとニンジンは、株式会社ウチダ和漢薬から原末を購入し、同様に抽出して用いた。

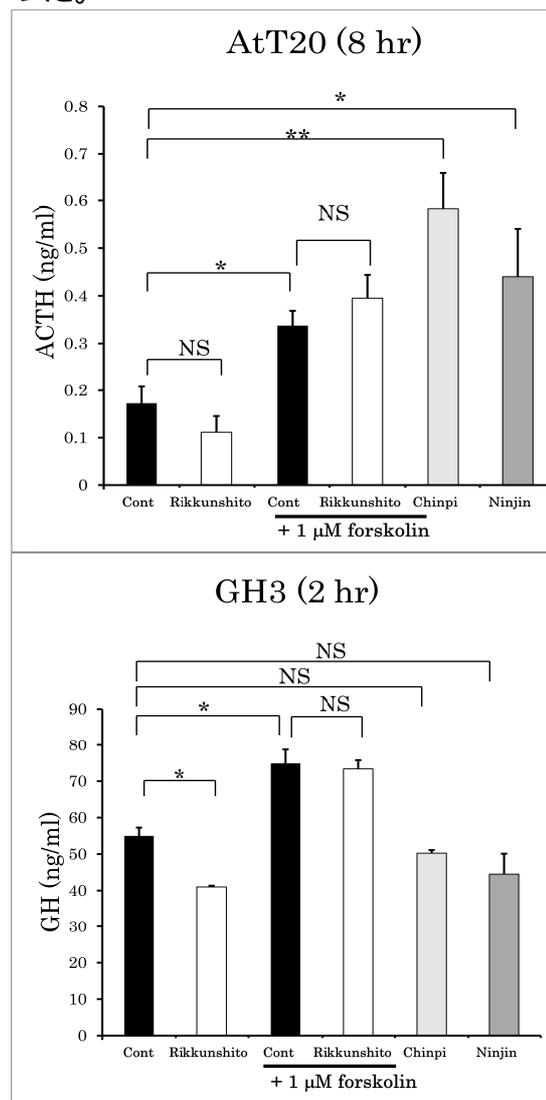
(倫理面への配慮)

本研究では、ヒト由来の試料等を用いる研究は行わなかった。動物由来の組織は、すでに確立され広く利用されている培養細胞のみを用いた。したがって、倫理的な問題はない。

C. 研究結果 (図)

forskolinは、AtT-20細胞及びGH3細胞からそれぞれACTHおよびGHの分泌を有意に促進した。一方、六君子湯(1%)はGH3細胞からのGH分泌を有意に抑制した。AtT-20細胞からのACTH分泌に対しても、有意ではないが抑制する傾向が見られた。forskolin 1 μ Mで刺激した時のホルモン分泌に対しては、両細胞で六君子湯の有意な作用を認めなかった。

六君子湯を構成する8種類の成分のうち、これまでの研究により強力なcAMP増加作用を有することが判明したチンピとニンジンの抽出液は、両者ともAtT-20細胞からのACTH分泌を有意に促進したが、GH3細胞からのGH分泌に対しては明らかな作用を認めなかった。



(n=4, Mean \pm SE, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, NS, statistically not significant)

D. 考察

これまでの研究により、六君子湯は

種々の細胞においてcAMP増加作用を有することが明らかになった。しかし、特定の細胞の六君子湯に対する反応は、それぞれの細胞に固有の複雑なシグナル伝達経路への、六君子湯が含む様々な物質の影響の結果として現れるため、必ずしもcAMP増加のみによって説明できるとは限らない。

以前、我々は副腎髄質由来の培養細胞において、六君子湯が細胞内cAMPを増加させ、副腎髄質ホルモンの合成に関わる律速酵素の遺伝子発現を促進すること、さらにカテコラミン分泌を促進することを見出した。今回、2種類の下垂体細胞を対象として、六君子湯の作用を検討した結果、細胞内cAMP増加作用は認めたものの、ホルモン分泌促進作用は認めず、GH分泌に対してはむしろ抑制作用が認められた。同じ条件下の実験で、アデニル酸シクラーゼを直接活性化して細胞内cAMPを増加させる試薬forskolinは、両細胞からのホルモン分泌を促進することが確認されたため、六君子湯によるホルモン分泌抑制はcAMPを介するものではないと考えられる。実際、六君子湯の構成成分のうち、cAMPの増加作用が特に強いニンジンとチンピは、AtT-20細胞からのACTH分泌を促進した。このことは、cAMP増加作用以外の作用を有する物質が六君子湯に含まれており、それらがホルモン分泌に抑制的に働く可能性を示唆する。

本研究で用いたAtT-20細胞及びGH3細胞は下垂体腫瘍由来の培養細胞であり、正常に分化した下垂体細胞の機能のある程度保持しているが、細胞外刺激に対する反応性が正常と異なる可能性は否定できない。よって、動物から分離した正常下垂体の初代培養

細胞などを用いて、これらの結果を追試することが役立つと考えられる。

E . 結論

六君子湯は下垂体ACTH産生細胞及びGH産生細胞に対して、細胞内cAMP増加作用を有するが、その細胞内cAMP増加作用では説明できない、ホルモン分泌抑制的な作用を有することが示唆された。

F . 研究発表

1. 論文発表

1. Horiuchi K, Okamoto T, Iihara M, Tsukada T. An analysis of genotype-phenotype correlations and survival outcomes in patients with primary hyperparathyroidism caused by multiple endocrine neoplasia type 1: the experience at a single institution. Surg Today 43: 894-899, 2013

2. 学会発表

1. 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、横浜市(2013年10月)

G . 知的財産権の出願・登録状況

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

がん治療の副作用軽減ならびにがん患者のQOL向上のための
漢方薬の臨床応用とその作用機構の解明に関する研究

研究分担者 藤宮峯子 札幌医科大学医学部 教授

研究要旨 抗がん剤（シスプラチン）は、悪心・嘔吐を惹起し、上部および下部消化管運動の異常を来す。このメカニズムとして、シスプラチンは消化管粘膜のEC細胞からのセロトニン放出を刺激することが知られている。今回の研究で、六君子湯が、シスプラチンで刺激されるEC細胞からのセロトニン放出を抑制することがわかった。これまで抗がん剤の副作用に対する治療薬として、5-HT₃受容体拮抗剤などが知られていたが、十分な効果が得られていなかった。六君子湯がEC細胞からのセロトニン分泌そのものを抑えるという本研究結果は、抗がん剤の副作用の軽減につながる重要な示唆を与える。

A．研究目的

抗がん剤（シスプラチン）は、悪心・嘔吐を惹起し、患者のQOLを極めて傷害する。本研究は、六君子湯がシスプラチンで起こる悪心・嘔吐を予防出来るかどうかを動物実験で調べ、そのメカニズムを検索することを目的にした。シスプラチンは腸管粘膜のenterochromaffin cell（EC）細胞からのセロトニン分泌を刺激し、放出されたセロトニンは延髄の嘔吐中枢に作用して悪心・嘔吐を引き起こすことが知られている。平成25年度の研究では、ラットを用いてEC細胞がもっとも高密度で分布する十二指腸の灌流実験を行い、六君子湯がシスプラチンで刺激されるEC細胞からのセロトニン分泌にど

のような影響を与えるかを調べた。

B．研究方法

ラットを麻酔下にex vivo duodenal perfusionを施し、0.1 M PBS (1ml/min)で十二指腸を灌流、灌流液中のセロトニン濃度を経時的に液体クロマトグラフィーで測定した。灌流開始1時間後にシスプラチン(1.7mg/kg)およびvehicleを尾静脈投与し、シスプラチン投与2時間前に六君子湯(1 g/kg)を経口投与した群を作成。正常対照群、六君子湯投与群、シスプラチン投与群、シスプラチン+六君子湯投与群でそれぞれ灌流液中のセロトニン濃度を比較検討した。

(倫理面への配慮)
動物実験は、札幌医大実験動物倫理委員会で承認されている。

C . 研究結果

正常対照群の十二指腸灌流液中のセロトニン濃度は、 31.5 ± 2.7 ng/ml ($n=5$)、六君子湯単独投与群は、 39.0 ± 2.6 ng/ml ($n=5$)で正常対象群と有意差はなかった。シスプラチン単独投与群は、 62.5 ± 3.2 ng/ml ($n=5$)で、正常対照群($P < 0.01$)や六君子湯単独投与群($P < 0.05$)より有意に増加した。シスプラチンと六君子湯併用投与群は、 30.5 ± 1.7 ng/ml ($n=5$)で、シスプラチン投与群より有意に減少($P < 0.01$)し、正常レベルに戻った。

D . 考察

抗がん剤でおこる悪心・嘔吐は患者のQOLを著しく障害する。本来悪心・嘔吐は5-HT₃受容体拮抗剤の投与で消失することが知られているが便秘などの副作用が避けられない。六君子湯が抗がん剤による嘔吐作用に効果があり、しかも副作用がないとすれば、きわめて有用な治療法と言える。

シスプラチンは消化管のEC細胞からのセロトニン分泌を刺激し、悪心・嘔吐を惹起することが知られている。本研究の結果、六君子湯はシスプラチンで刺激されるEC細胞からのセロトニン分泌を直接ブロックすることがわかり、過剰なセロトニン分泌で起こるシスプラチンの副作用に効果があることが判明した。

E . 結論

本研究の結果、六君子湯はシスプラチンでおこる十二指腸のEC細胞から

のセロトニン分泌を抑制し、抗がん剤の副作用としての悪心・嘔吐を抑制する効果があることがわかった。

F . 研究発表

1. 論文発表

1. Ataka K, Asakawa A, Nagaishi K, Kaimoto K, Sawada A, Hayakawa Y, Tatzawa R, Inui A, Fujimiya M. Bone marrow-derived microglia infiltrate into the paraventricular nucleus of chronic psychological stress-loaded mice. *PLoS One*. 2013, 8(11):e81744.
2. Nagaishi K, Ataka K, Echizen E, Arimura Y, Fujimiya M. Mesenchymal stem cell therapy ameliorates diabetic hepatocyte damage in mice by inhibiting infiltration of bone marrow-derived cells. *Hepatology*. 2014, 59(5):1816-29.
3. Chiba H, Ataka K, Iba K, Nagaishi K, Yamashita T, Fujimiya M. Diabetes impairs the interactions between long-term hematopoietic stem cells and osteopontin-positive cells in the endosteal niche of mouse bone marrow. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2013, 305(7):C693-703.

2. 学会発表

なし

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

『がん悪液質モデル動物末梢組織の解析と六君子湯投与による影響』に
関する研究

研究分担者 樋上 賀一 東京理科大学薬学部
分子病理・代謝学研究室 教授

研究要旨 がん悪液質（CC）ラットの白色脂肪組織（WAT）の変化を、短期の適度（30%CR；摂食量はCCとほぼ一致）および高度なカロリー制限（70%CR）ラットの（WAT）と比較し、さらに六君子湯やグレリンがCCに及ぼす影響を検討した。その結果、白色脂肪組織におけるde novo脂肪酸合成系の低下がCC病態に関連する可能性および六君子湯によるCC病態改善効果の一部がグレリンシグナルを介した脂肪酸合成系タンパク質発現量の増加にある可能性が示唆された。

A．研究目的

がん悪液質によるやせと健康長寿を示す適度なカロリー制限によるやせ、過度なカロリー制限によるやせの特に脂肪組織における相違点、六君子湯やグレリンががん悪液質の脂肪組織に及ぼす影響を分子細胞レベルで明らかにする。そして、がん悪液質での脂肪組織の萎縮抑制に対する六君子湯の作用機序の解明を目指す。

B．研究方法

自由摂食群の70%を2週間給餌したCRラット（30%CR；摂食量はCCとほぼ一致）、30%を給餌したCRラット（70%CR）と自由摂食群の脂肪組織（WAT）において、脂質分解系および脂肪酸合成系タンパク質発現を解析した。また、

悪液質モデルである胃がん細胞による担がん（CC）ラットとCCラットへの六君子湯投与群、グレリン投与群、対照群のWATにおいて、同様の解析を行った。そして、CCと30%CR、70%CRの相違、さらに六君子湯やグレリン投与によるCC病態改善効果を検討した。

（倫理面への配慮）

本実験計画は、東京理科大学動物実験委員会にて承認されている（承認番号Y13030）。

C．研究結果

WATにおける脂質分解関連タンパク質の発現は、30%CRおよび70%CRにおいても有意に増加した。また、CCにより有意に増加した。一方、脂肪酸合成関連タンパク質の発現は、30%CRでは

有意に増加したが、70%CRでは有意に減少した。また、CCで減少した。

加えて、六君子湯やグレリンは、CCによる脂質分解関連タンパク質発現の増加に影響を与えなかった。一方、CCによる脂肪酸合成関連タンパク質発現の減少やリン酸化Aktの減少は、六君子湯により改善傾向を示した。またグレリンはCCによる脂肪酸合成関連タンパク質発現の減少を一部改善した。しかし、グレリンによる作用はCCに対してよりもコントロール群に対する方が強かった。

D . 考察

CCのWATは70%CRのWATと類似していたが、30%CRのWATとは特に脂肪酸合成関連タンパク質の発現に関して対照的であった。

六君子湯による脂質分解系への効果は観察できなかったが、六君子湯がCCにより減少した脂肪酸合成系タンパク質発現やリン酸化Aktを増加させたことから、六君子湯によるCC病態の改善効果の一部は、de novo脂肪酸合成の亢進およびインシュリン抵抗性改善にある可能性が示唆された。

また、グレリンにより、脂肪酸合成系タンパク質発現亢進作用はCCに対してよりもコントロール群に対する方が強かったことから、六君子湯によるCC病態の改善効果の一部は、グレリンを介するものの、CCによるグレリン抵抗性がグレリン作用を減弱させている可能性が考えられた。

E . 結論

六君子湯投与による一部グレリン

シグナルを介した白色脂肪組織におけるde novo脂肪酸合成系の活性化およびインシュリン抵抗性の改善が、がん悪液質病態の改善に重要である可能性が示唆された。

F . 研究発表

1. 論文発表

1. Okita N, Ishikawa N, Mizunoe Y, Oku M, Nagai W, Suzuki Y, Matsushima S, Mikami K, Okado H, Sasaki T, Higami Y. Inhibitory effect of p53 on mitochondrial content and function during adipogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014 Mar 28;446(1):91-7.
2. Terawaki K, Sawada Y, Kashiwase Y, Hashimoto H, Yoshimura M, Suzuki M, Miyano K, Sudo Y, Shiraiishi S, Higami Y, Yanagihara K, Kase Y, Ueta Y, Uezono Y. New cancer cachexia rat model generated by implantation of a peritoneal dissemination-derived human stomach cancer cell line. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2014 Feb 15;306(4):E373-87.
3. Matsuo T, Miyata Y, Sagara Y, Higami Y, Tobu S, Matsuo M, Noguchi M, Shimokawa I, Kanetake H, Sakai H. Renoprotective effects of telmisartan after unilateral renal ablation in rats. *Int J Nephrol Renovasc Dis*. 2013 Oct 10;6:207-14.
4. Okita N, Yoshimura M, Watanabe K, Minato S, Kudo Y, Higami Y, Tanuma S. CHK1 cleavage in programmed cell death is intricately regulated by both caspase and non-caspase family proteases. *Biochim Biophys Acta*. 2013 Jan;1830(1):204-13.

5. 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)*. 2013 Aug;35(4):1143-56.
 6. 土屋拓郎、沖田直之、須藤結香、樋上賀一、カロリー制限が白色脂肪組織における脂肪酸合成に及ぼす影響の経時的解析、基礎老化研究、37: 29-31, 2013
 7. 須藤結香、沖田直之、樋上賀一、カロリー制限による抗老化・寿命延伸効果のメカニズム ～脂肪組織のリモデリングと脂質代謝の活性化～、自律神経、50: 192-195, 2013
2. 学会発表
1. 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、基礎老化研究、37: 43, 2013
 2. 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、基礎老化研究、37: 43, 2013
 3. 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、基礎老化研究、37: 43, 2013
 4. 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、日本病理学会誌、102: 334, 2013
 5. 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*, 68, 2013
 6. 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*, 70, 2013
 7. 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新規スクリーニング法確立と同法を用いた 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
 8. 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
 9. 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 | (予定を含む。) |
| 10. | 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 | 1. 特許取得
なし |
| 11. | 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 | 2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし |

G . 知的財産権の出願・登録状況

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

大建中湯のがんに伴う炎症、疼痛抑制効果に関する研究

研究分担者 河野 透 札幌東徳洲会病院 先端外科センター長

研究要旨 大建中湯は、3つの有効生薬（山椒、乾姜、薬用人参）の抽出成分からなる日本独自の複合植物薬である。その薬理機序に関して申請者らが成分レベルで解明を進めた結果、乾姜の主要成分 shogaols/gingerols がプロスタグランジン E2 産生を多標的（細胞質型ホスホリパーゼ、COX2、プロスタグランジンE合成酵素）な抑制機序が明かとなり、さらに山椒成分の sanshools が標的細胞の感受性を高めることで shogaols/gingerols が低濃度でも効果を発揮できる相乗的な作用を有していることが明らかとなり大建中湯の構成生薬成分が多標的かつ相乗的效果で、癌に伴う炎症、疼痛を抑制する可能性が示唆できた。

A．研究目的

大建中湯には3種類（山椒、乾姜、人参）の抽出生薬成分が含まれる日本固有の植物薬である。大建中湯の薬物動態にて山椒成分の sanshools が急速かつ大量に血中に移行し、遅れて乾姜成分の shogaols/gingerols がゆっくりと血中に移行することが判明。しかしながらその量は低濃度であり、これまで薬効機序を分子レベルで解析に用いた有効濃度をかなり下回っていた。そこで、sanshools が細胞の感受性を高めることで低濃度の shogaols/gingerols が作用を発現できるのではないかという仮説を本研究の目的とする。

B．研究方法

大建中湯の薬物動態臨床試験結果で得た有効成分の血中レベルに相当する濃度を使用し、以下の実験を行った。摘出したラットの近位大腸内腔に圧トランスデューサを装着し、全体を Krebs 緩衝液に水没させ固定、腸管運動（migrating motor complex, MMC）をビデオカメラと圧トランスデューサによって観察記録した。細胞の興奮性を決定する resting potential を制御するカリウムチャンネル（KCNKs）の各種プロッカー、オープナーを用いて検討した。KCNKs 発現の免疫組織学的検討も行った。

（倫理面への配慮）

倫理面への配慮を特に必要としない研究方法であるが、旭川医大、北海道大学の研究管理等に準拠し研究を進める。

C．研究結果

消化管平滑筋細胞および神経叢にKCNKsが発現していることを確認した。KCNKs ブロッカーはMMCを惹起し、そのMMCはKCNKsオープナーで減弱した。sanshoolsは強く律動的なMMCが観察され、KCNKsオープナーによって用量依存的に減弱し、高用量で完全消失した。単独投与ではMMCを起こさない低用量のsanshoolsとshogaols/gingerolsを同時投与するとMMCが起こることを観察した。

D．考察

体内に吸収された大建中湯の主要成分である乾姜のshogaols/gingerolsが濃度依存性に腸管上皮細胞に存在するCaチャンネルTRPA1を刺激し、ADMを分泌させることが判明した。しかし、薬物動態試験結果では6-shogaolの血中濃度は低く、われわれの*in vitro*の実験に用いた有効濃度とはかなりかけ離れていた。そこで、一過性ではあるが、血中に高濃度に吸収される山椒成分に着目した。山椒成分は乾姜成分同様にTRPチャンネルTRPA1、TRPV1のアゴニスト作用があるだけでなく、電位開口型カリウムチャンネルKCNKのブロッカーであることが知られているhydroxy- -sanshool とhydroxy- -sanshoolに注目した。KCNKチャンネルはほとんどの細胞の細胞膜に存在し、カリウムを細胞内から細胞外に選択的に

排出し、細胞機能を維持している。その細胞機能のひとつに細胞活動の感受性を低くし、外来刺激閾値を高めることで細胞自体の安定性を高めている。神経細胞では電位依存性のNaチャンネルの開放を制御している。最近の研究で、hydroxy- -sanshoolやhydroxy- -sanshoolが腸管平滑筋細胞や腸管神経細胞のKCNK3やKCNK9のブロッカーとなることで腸管運動を亢進していることを明らかにしてきた。そこで薬物動態試験とこれらの研究結果から次なる仮説を持つに至った。大建中湯が投与されると、まず最初に山椒成分が腸管上皮細胞や腸管平滑筋、腸管神経細胞のKCNKチャンネルをブロックし、各細胞の感受性を高く、つまり閾値を低くすることで、後から到達する乾姜成分の刺激量（血中濃度）が低くても効果が発現できる状態に変化させる。つまり、培養細胞や動物実験で単独に用いた成分濃度よりかなり低用量でも効果が発現できることを示唆している。今回、腸管運動を単独では全く影響を与えない程度の山椒成分と乾姜成分の両者を投与すると強い蠕動亢進が起こることが観察された。しかしながら、この事象を完全に説明することは困難だが、われわれの仮説は極めて魅力的かつ有力な候補となることは確かであるが、その詳細は今後の研究で明らかにされていくものと考えられる。

E．結論

大建中湯の山椒成分が標的細胞のKCNKチャンネルをブロックすることで薬物感受性を高め、乾姜成分が相乗的効果で多標的にアラキドン酸代謝酵素

を抑制しプロスタグランジンE2を特異的に抑制する可能性が示唆され、癌に伴う炎症や痛みを大建中湯が抑制できる可能性が示唆できた。

F . 研究発表

1. 論文発表

1. 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. *Carcinog & Mutagen* [Epub ahead of print] doi.org/10.4172/2157-2518.S8-007 Feb 25, 2014
2. 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
3. Shimada M, Morine Y, Nagano H, Hatano E, Kaiho T, Miyazaki M, Kono T, Kamiyama T, Morita S, Sakamoto J, Kusano M, Saji S, Kanematsu T, Kitajima M. Effect of TU-100, a traditional Japanese medicine, administered after Hepatic Resection in Patients with Liver Cancer: a multi-center, randomized, double-blind, placebo-controlled phase II trial (JFMC40-1001) *Int J Clin Oncol.* DOI 10.1007/s10147-014-0678-2 2014
4. Ueno N, Hasebe T, Kaneko A, Yamamoto M, Fujiya M, Kohgo Y, Kono T, Wang CZ, Yuan CS, Bissonnette M, Chang EB, Musch MW. TU-100 (daikenchuto) and ginger ameliorate anti-CD3 antibody induced T cell-mediated murine enteritis: microbe-independent effects involving Akt and NF- κ B suppression *PloS ONE* [Epub ahead of print] 2014
5. 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.* [Epub ahead of print] 2014
6. Aoyama T, Nishikawa K, Takiguchi N, Tanabe K, Imano M, Fukushima R, Sakamoto J, Oba MS, Morita S, Kono T, Tsuburaya A. Double-blind, placebo-controlled, randomized phase II study of TJ-14 (hangeshashinto) for gastric cancer chemotherapy-induced oral mucositis. *Cancer Chemother Pharmacol.* [Epub ahead of print] 2014 Mar 21.
7. Watanabe K, Karasaki H, Mizukami Y, Kawamoto T, Kono T, Imai K, Einama T, Taniguchi M, Kohgo Y, Furukawa H. Cyst infection of intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas: management of a rare complication: report of 2 cases. *Pancreas.* 43(3):478-81, 2014
8. Kono T, Kaneko A, Omiya Y, Ohbuchi K, Ohno N, Yamamoto M. Epithelial transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1)-dependent adrenomedullin up-regulates blood flow in rat small intestine *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 304: 428-36, 2013
9. Kono T, Hata T, Morita S, Mune

- moto Y, Matsui T, Kojima H, Takemoto H, Fukunaga M, Nagata N, Shimada M, Sakamoto J, Mishima H Goshajinkigan Oxaliplatin Neurotoxicity Evaluation (GONE): a phase 2, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of goshajinkigan to prevent oxaliplatin-induced neuropathy *Cancer Chemo Pharm* 72(6), 1283-1290, 2013
10. 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 PGE2 production in human oral keratinocytes. 2013 *Integr Cancer Ther*. doi:10.1177/1534735413520035
 11. Munekage M, Ichikawa K, Kitagawa H, Uehara H, Watanabe J, Kono T, Hanazaki K. Population Pharmacokinetic Analysis of Daikenchuto, a Traditional Japanese Medicine (Kampo) in Japanese and US Health Volunteers. *Drug Metab Dispos*. 41: 1256-1263, 2013
 12. Kaneko A, Kono T, Miura N, Tsuchiya N, Yamamoto M. Preventive effect of TU-100 on a type-2 model of colitis in mice: Possible involvement of enhancing adrenomedullin in intestinal epithelial cells. *Gastroenterol Res Pract*. 2013 doi:10.1155/2013/384057.
 13. Sakatani A., Fujiya M, Ito T, Inaba Y, Ueno N, Kashima S, Tominaga M, Moriichi K, Okamoto K, Tanabe H, Ikuta K, Ohtake T, Kono T, Furukawa H, Ashida T, Kohgo Y. Infliximab extends the duration until the first surgery in patients with Crohn's disease. 2013 *Bio Med Res Int*2013;2013:879491. doi: 10.1155/2013/879491. Epub 2013 Nov 26.
 14. 河野 透, 武田 宏司, 上園保仁, 島田光生 消化器外科と漢方 消化器外科 36(8),1299-1305, 2013
 15. 河野 透, 武田 宏司, 上園保仁 外科医のためのKampo EBM UP-TO DATE 抗癌剤の副作用と漢方薬 日本外科学会雑誌 114(5), 251-255, 2013
- ## 2. 学会発表
1. 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 (DDW) 2013 Orland, USA. (2013年5月)*
 2. 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 (DDW) 2013 Orlando, USA. (2013年5月)*
 3. 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 (DDW) 2013 Orlando, USA. (2013年5月)
4. Ueno, N., Musch, M.W., Kono, T., Wang, Y., Kaneko, A., Omiya, Y., Yamamoto, M., Fujiya, M., Uezono, Y., Kohgo, Y., Chang, E.B. 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 (IUPS) 2013 Birmingham, UK. (2013年7月)
 5. 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 (IUPS) 2013 Birmingham, UK. (2013年7月)
 6. 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)
 7. 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)
 8. 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)
 9. 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 (ESCP) 2013 Belgrade, Serbia (2013年9月)
 10. 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)
 11. 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)
 12. 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)
- G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
1. 特許取得
- 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

六君子湯を用いたがん患者のQOL向上のための研究

研究分担者 大西 俊介 北海道大学消化器内科 助教

研究要旨 がん患者のQOL向上のための六君子湯のエビデンスを確立するため、臨床研究を立案し、「ゲムシタピン投与隣がん患者における軽度悪液質または前悪液質状態に対する六君子湯の悪液質進行抑制効果-無作為化第 相比較試験」が平成24年8月より登録開始となった。平成25年10月にプロトコル改正を行い、臨床研究を継続して行っている。

A．研究目的

我々はこれまでに、動物モデルを用いて六君子湯の食欲増進作用およびそのメカニズムを明らかにし、がん患者のQOL向上のためのエビデンスを確立するため、平成24年8月より「ゲムシタピン投与隣がん患者における軽度悪液質または前悪液質状態に対する六君子湯の悪液質進行抑制効果-無作為化第 相比較試験」を開始した。しかしながら、適格規準を満たす症例に乏しかったため、プロトコルを改正して試験を継続することとした。

B．研究方法

当研究班で組織されるデータセンターならびに統計専門家らとともに、「ゲムシタピン投与隣がん患者における軽度悪液質または前悪液質状態に対する六君子湯の悪液質進行抑制効果-無作為化第 相比較試験」の改

正作業を行った。

（倫理面への配慮）
臨床研究であるため、倫理面には特に配慮し、完成したフルプロトコルはプロトコル審査委員会に諮り承認を得たのち、各参加施設の倫理審査委員会での承認を得ることとした。また、被験者には十分な説明を行い、説明同意文書に署名をいただいてから開始し、補償のための保険にも加入した。

C．研究結果

臨床試験名を「ゲムシタピン投与隣がん患者における悪液質発症および進行に対する六君子湯の抑制効果-無作為化第 相比較試験」に変更し、適格基準のうち「食欲不振症状」および「CRP」の項目を削除した。また、研究参加施設を2施設追加した。この改正プロトコルが平成25年10月に独立データモニタリング委員会に

承認され、各施設で倫理委員会の承認を得て、再度登録開始となった。平成26年3月までに11例の登録が得られた。

D．考察

膵がんにおいて、軽度悪液質または前悪液質状態にある患者は非常に少ないことが明らかになり、症例登録が進まない一因となった。今年度の改正により、症例登録数の増加を見込んでいる。

六君子湯はがん患者の悪液質の進行を抑制し、QOLや予後を改善する可能性があるため、本臨床研究において探索的な試験を行い、有用な評価項目が認められれば第 Ⅲ相の臨床試験を計画して検証していく。

E．結論

がん患者のQOL向上のための六君子湯のエビデンスを確立するため、臨床試験を開始したが。プロトコールの改正を経て現在も継続中である。

F．研究発表

1. 論文発表

1. Nahata M, Muto S, Nakagawa K, Ohnishi S, Sadakane C, Saegusa Y, Iizuka S, Hattori T, Asaka M, Takeda H. Serotonin 2C receptor antagonism ameliorates novelty-induced hypophagia in aged mice. **Psychoneuroendocrinology** 2013;38(10);2051-64.

2. Yamada C, Saegusa Y, Nakagawa K, Ohnishi S, Muto S, Nahata M, Sadakane C, Hattori T, Sakamoto N, Takeda H. Rikkunshito, a Japanese Kampo medicine, ameliorates decreased feeding behavior via ghrelin and serotonin 2B receptor signaling in a novelty stress murine model. **BioMed Research International** 2013;2013;792940.
3. Takeda H, Nakagawa K, Okubo N, Nishimura M, Muto S, Ohnishi S, Sakamoto N, Hosono H, Asaka M. Pathophysiologic basis of anorexia: Focus on the interaction between ghrelin dynamics and the serotonergic system. **Biological & Pharmaceutical Bulletin** 2013;36(9);1401-5.
4. 武田宏司, 武藤修一, 大西俊介, 河野透. 抗癌剤に伴う cachexia とその治療. 栄養-評価と治療, 2013;30(4);283-6.

2. 学会発表

1. 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, スポンサードシンポジウム, 出雲, 2013年11月.
2. 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, シンポジウム, 東京, 2013年10月.

G . 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし。

2. 実用新案登録

該当なし。

3. その他

該当なし。

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

六君子湯を用いたがん患者のQOL向上のための研究

研究分担者 櫻木 範明 北海道大学大学院医学研究科
生殖内分泌・腫瘍学分野 教授

研究要旨 がん患者のQOL向上のための六君子湯の有効性に関するエビデンスを確立することを目的に臨床研究のプロトコールを作成し、「シスプラチンを含む化学療法を施行される子宮がん患者の食欲不振に対する六君子湯の効果-無作為化第Ⅰ相比較試験」が平成25年12月より登録開始となり、現在も臨床研究を継続して行っている。

A．研究目的

これまでに動物モデルを用いて六君子湯の食欲増進作用およびそのメカニズムが科学的に明らかとなってきた。がん患者のQOL向上のための六君子湯の有効性のエビデンスを確立するため、臨床試験として「シスプラチンを含む化学療法を施行される子宮がん患者の食欲不振に対する六君子湯の効果-無作為化第Ⅰ相比較試験」を行う。

B．研究方法

当研究班で組織されるデータセンターならびに統計専門家らとともに、「シスプラチンを含む化学療法を施行される子宮がん患者の食欲不振に対する六君子湯の効果-無作為化第Ⅰ相比較試験」プロトコールの作成を行

った。

（倫理面への配慮）

臨床研究であるため、倫理面には特に配慮し、完成したフルプロトコールはプロトコール審査委員会に諮り承認を得たのち、各参加施設の倫理審査委員会での承認を得ることとした。また、被験者には十分な説明を行い、説明同意文書に署名をいただいてから開始することとしている。また、補償のための保険にも加入した。

C．研究結果

「シスプラチンを含む化学療法を施行される子宮がん患者の食欲不振に対する六君子湯の効果-無作為化第Ⅰ相比較試験」のフルプロトコールを作成し、平成25年7月に倫理承認を受けた。しかしながら、シスプラチン以外の併用薬の投与スケジュールにつ

いて参加施設間での調整が必要となったため、3回のメモランダムを発行を要した。最終的には平成25年12月より症例登録を開始することができ、平成26年3月末までに9例の症例登録が行われた。

D . 考察

4ヶ月で9例の登録があったことから、1カ月あたり2例のペースで症例集積できている。2015年12月までに40例の登録を予定しているが、概ね順調に推移していると考えられる。

六君子湯はシスプラチンを含む化学療法を受けるがん患者において観察される嘔吐や食欲不振を抑制することで患者のQOLを改善し、治療のコンプライアンスを高める可能性があるため、本臨床研究において探索的な試験を行い、有用な評価項目が認められれば第 Ⅲ相の臨床試験を計画して検証していく。

E . 結論

がん患者のQOL向上のための六君子湯の有効性のエビデンスを確立するため、臨床試験を開始し、現在も継続中である。

F . 研究発表

1. 論文発表

1. Watari H, Todo Y, Kang S, Odagiri T, Sakuragi N. Proposal of a concept and design of a randomized phase III trial investigating the survival effect of para-aortic lymphadenectomy in endometrial cancer. J Obs

et Gynaecol Res, 40 (2): 312-316, 2014.

2. Todo Y, Watari H, Kang S, Sakuragi N. Tailoring lymphadenectomy according to the risk of lymph node metastasis in endometrial cancer. J Obstet Gynaecol Res, 40 (2): 317-321, 2014.
3. Dong P, Kaneuchi M, Watari H, Sudo S, Sakuragi N. MicroRNA-106b modulates epithelial-mesenchymal transition by targeting TWIST1 in invasive endometrial cancer cell lines. Mol Carcinog, 53 (5): 349-359, 2014.
4. Kato T, Watari H, Takeda M, Hosaka M, Mitamura T, Kobayashi N, Sudo S, Kaneuchi M, Kudo M, Sakuragi N. Multivariate prognostic analysis on the patients with adenocarcinoma of the uterine cervix treated with radical hysterectomy and systematic lymphadenectomy. J Gynecol Oncol, 24: 222-228, 2013.
5. Dong P, Kaneuchi M, Konno Y, Watari H, Sudo S, Sakuragi N. Emerging therapeutic biomarkers in endometrial cancer. Biomed Res Int, 2013: 130362, 2013.
6. Mitamura T, Watari H, Wang L, Kanno H, Hassan MK, Miyazaki M, Katoh Y, Kimura T, Tanino M, Nishihara H, Tanaka S, Sakuragi N. Downregulation of miRNA-31 induces taxane resistance in ovarian cancer cells through increase of receptor tyrosine kinase MET. Oncogenesis, 25 (2): e40, 2013.
7. Todo Y, Watari H, Okamoto K, Hayama H, Minobe S, Kato H, Sakuragi N. Tumor volume successively reflects the state of disease progression in endometrial cancer. Gynecol Oncol, 129: 472-477, 2013.
8. Sakuragi N. Recent advances in res

earch on epigenetic alterations and clinical significance of para-aortic lymphadenectomy in endometrial cancer: an introduction. Int J Clin Oncol, 18 (2): 183-185, 2013.

2. 学会発表

なし。

G . 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし。

2. 実用新案登録

該当なし。

3. その他

該当なし。

研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Minami K, <u>Uezono Y.</u>	The recent progress in research on the effects of anesthetics and analgesics on G protein-coupled receptors.	J Anesthesia	27 (2)	284-292	2013
Yanagihara K, Takigahira M, Mihara K, Kubo T, Morimoto C, Morita Y, Terawaki K, <u>Uezono Y.</u>	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
Narita M, Imai S, Nakamura A, Ozeki A, Asato M, Rahmadi M, Sudo Y, Hojo M, <u>Uezono Y.</u> , 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
<u>上園保仁.</u>	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
<u>上園保仁.</u>	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
Motoyama N, Morita K, Kitayama T, Shiraishi S, <u>Uezono Y.</u> , 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
<u>上園保仁.</u>	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
Terawaki K, Sawada Y, Kashiwase Y, Hashimoto H, Yoshimura M, Suzuki M, Miyano K, Sudo Y, Shiraishi S, <u>Higami Y.</u> , Yanagihara K, Kase Y, <u>Ueta Y.</u> , <u>Uezono Y.</u>	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
Okura D, Horishita T, Ueno S, Yanagihara N, Sudo Y, <u>Uezono Y.</u> , Sata T.	The endocannabinoid anandamide inhibits voltage-gated sodium channels $Na_v1.2$, $Na_v1.6$, $Na_v1.7$ and $Na_v1.8$ in <i>Xenopus</i> Oocytes.	Anesth Analg	118 (3)	554-562	2014
Morita K, Shiraishi S, Motoyama N, Kitayama T, Kanematsu T, <u>Uezono Y.</u> , Dohi T.	Palliation of bone cancer pain by antagonists of platelet-activating factor receptors.	PLOS ONE	9 (3)	e91746	2014
Fujii H, Hayashida K, Saitoh A, Yokoyama A, Hirayama S, Iwa T, Nakata E, Sudo Y, <u>Uezono Y.</u> , Yamada M, Nagase H.	Novel delta opioid receptor agonists with oxazatricyclodecane structure.	ACS Med Chem Lett	5	368-372	2014
Horishita T, Yanagihara N, Ueno S, Sudo Y, <u>Uezono Y.</u> , 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 <i>Xenopus</i> Oocytes.	Anesthesiology	epub ahead of print		2014

Suzuki H, Asakawa A, Amitani H, Fujitsuka N, Nakamura N, <u>Inui A.</u>	Cancer cachexia pathophysiology and translational aspect of herbal medicine.	Jpn J Clin Oncol	43 (7)	695-705	2013
Suzuki H, Asakawa A, Amitani H, Nakamura N, <u>Inui A.</u>	Cancer cachexia--pathophysiology and management.	J Gastroenterol	48 (5)	574-594	2013
Amitani M, Asakawa A, Amitani H, <u>Inui A.</u>	Control of food intake and muscle wasting in cachexia.	Int J Biochem Cell Biol	45 (10)	2179-2185	2013
鈴木甫, 浅川明弘, 網谷東方, 乾明夫.	Cachexiaの診断、病態と治療.	栄養-評価と治療	30 (4)	268-271	2013
網谷真理恵, 網谷東方, 浅川明弘, 乾明夫.	Cachexiaの新しい治療.	栄養-評価と治療	30 (4)	293-297	2013
米田孝一, 浅川明弘, 乾明夫.	緩和ケアチームからみたcachexiaへのアプローチ.	栄養-評価と治療	30 (4)	298-300	2013
Yoshimura M, Matsuura T, Ohkubo J, Ohno M, Maruyama T, Ishikura T, Hashimoto H, Kakuma T, Yoshimatsu H, Terawaki K, <u>Uezono Y, Ueta Y.</u>	The gene expression of the hypothalamic feeding-regulating peptides in cisplatin-induced anorexic rats.	Peptides	46	13-19	2013
Yoshimura M, Ohkubo J, Katoh A, Ohno M, Ishikura T, Kakuma T, Yoshimatsu H, Murphy D, <u>Ueta Y.</u>	A c-fos-monomeric red fluorescent protein 1 fusion transgene is differentially expressed in rat forebrain and brainstem after chronic dehydration and rehydration.	J Neuroendocrinol	25 (5)	478-487	2013
Yoshimura M, Hagimoto M, Matsuura T, Ohkubo J, Ohno M, Maruyama T, Ishikura T, Hashimoto H, Kakuma T, Yoshimatsu H, Terawaki K, <u>Uezono Y, Toyohira Y, Yanagihara N, Ueta Y.</u>	Effects of food deprivation on the hypothalamic feeding-regulating peptides gene expression in serotonin depleted rats.	J Physiol Sci	64 (2)	97-104	2014
Yoshimura M, Matsuura T, Ohkubo J, Maruyama T, Ishikura T, Hashimoto H, Kakuma T, Mori M, <u>Ueta Y.</u>	A role of nesfatin-1/NucB2 in dehydration-induced anorexia.	Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol	epub ahead of print		2014
Horiuchi K, Okamoto T, Iihara M, <u>Tsukada T.</u>	An analysis of genotype- phenotype correlations and survival outcomes in patients with primary hyperparathyroidism caused by multiple endocrine neoplasia type 1: the experience at a single institution.	Surg Today	43 (8)	894-899	2013
Ataka K, Asakawa A, Nagaishi K, Kaimoto K, Sawada A, Hayakawa Y, Tatezawa R, <u>Inui A, Fujimiya M.</u>	Bone marrow-derived microglia infiltrate into the paraventricular nucleus of chronic psychological stress-loaded mice.	PLoS One	8 (11)	e81744	2013
Chiba H, Ataka K, Iba K, Nagaishi K, Yamashita T, <u>Fujimiya M.</u>	Diabetes impairs the interactions between long-term hematopoietic stem cells and osteopontin-positive cells in the endosteal niche of mouse bone marrow.	Am J Physiol Cell Physiol	305 (7)	C693-C703	2013
Nagaishi K, Ataka K, Echizen E, Arimura Y, <u>Fujimiya M.</u>	Mesenchymal stem cell therapy ameliorates diabetic hepatocyte damage in mice by inhibiting infiltration of bone marrow-derived cells.	Hepatology	59 (5)	1816-1829	2014

Matsuo T, Miyata Y, Sagara Y, <u>Higami Y</u> , Tobu S, Matsuo M, Noguchi M, Shimokawa I, Kanetake H, Sakai H.	Renoprotective effects of telmisartan after unilateral renal ablation in rats.	Int J Nephrol Renovasc Dis	6	207-214	2013
Okita N, Yoshimura M, Watanabe K, Minato S, Kudo Y, <u>Higami Y</u> , Tanuma S.	CHK1 cleavage in programmed cell death is intricately regulated by both caspase and non-caspase family proteases.	Biochim Biophys Acta	1830 (1)	2204-2213	2013
Chujo Y, Fujii N, Okita N, Konishi T, Narita T, Yamada A, Haruyama Y, Tashiro K, Chiba T, Shimokawa I, <u>Higami Y</u> .	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)	35 (4)	1143-1156	2013
土屋拓郎, 沖田直之, 須藤結香, <u>樋上賀一</u> .	カロリー制限が白色脂肪組織における脂肪酸合成に及ぼす影響の経時的解析.	基礎老化研究	37 (3)	29-31	2013
須藤結香, 沖田直之, <u>樋上賀一</u> .	カロリー制限による抗老化・寿命延伸効果のメカニズム ~脂肪組織のリモデリングと脂質代謝の活性化~.	自律神経	50 (3)	192-195	2013
Okita N, Ishikawa N, Mizunoe Y, Oku M, Nagai W, Suzuki Y, Matsushima S, Mikami K, Okado H, Sasaki T, <u>Higami Y</u> .	Inhibitory effect of p53 on mitochondrial content and function during adipogenesis.	Biochem Biophys Res Commun	446 (1)	91-97	2014
<u>Kono T</u> , Kaneko A, Omiya Y, Ohbuchi K, Ohno N, Yamamoto M.	Epithelial transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1)-dependent adrenomedullin up-regulates blood flow in rat small intestine.	Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol	304 (4)	428-436	2013
<u>Kono T</u> , Hata T, Morita S, Munemoto Y, Matsui T, Kojima H, Takemoto H, Fukunaga M, Nagata N, Shimada M, Sakamoto J, Mishima H.	Goshajinkigan Oxaliplatin Neurotoxicity Evaluation (GONE): a phase 2, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of goshajinkigan to prevent oxaliplatin-induced neuropathy.	Cancer Chemo Pharm	72 (6)	1283-1290	2013
Munekage M, Ichikawa K, Kitagawa H, Uehara H, Watanabe J, <u>Kono T</u> , Hanazaki K.	Population pharmacokinetic analysis of daikenchuto, a traditional Japanese medicine (kampo) in Japanese and US health volunteers.	Drug Metab Dispos	41 (6)	1256-1263	2013
Sakatani A., Fujiya M, Ito T, Inaba Y, Ueno N, Kashima S, Tominaga M, Moriichi K, Okamoto K, Tanabe H, Ikuta K, Ohtake T, <u>Kono T</u> , Furukawa H, Ashida T, Kohgo Y.	Infliximab extends the duration until the first surgery in patients with Crohn's disease.	BioMed Res Int	2013		2013
河野透, 武田宏司, <u>上園保仁</u> , 島田光生.	消化器外科と漢方.	消化器外科	36 (9)	1299-1305	2013
河野透, 武田宏司, <u>上園保仁</u> .	外科医のためのKampo EBM UP-TO DATE 抗癌剤の副作用と漢方薬.	日本外科学会雑誌	114 (5)	251-255	2013
前田耕太郎, 勝野秀稔, <u>河野透</u>	外科医のためのKampo EBM UP-TO DATE 周術期における大建中湯の有用性と作用メカニズム	日本外科学会雑誌	114 (5)	232-235	2013
河野透, <u>上園保仁</u> , 武田宏司, 笠井章次, 佐藤宏彦, 島田光生	オキサリプラチンによるしびれ-牛車腎気丸	臨床外科	68 (12)	1319-1323	2013
Mizuno K, <u>Kono T</u> , Suzuki Y, Miyagi C, Omiya Y, Miyano K, Kase Y, <u>Uezono Y</u> .	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

Aoyama T, Nishikawa K, Takiguchi N, Tanabe K, Imano M, Fukushima R, Sakamoto J, Oba MS, Morita S, <u>Kono T</u> , Tsuburaya A.	Double-blind, placebo-controlled, randomized phase II study of TJ-14 (hangeshashinto) for gastric cancer chemotherapy-induced oral mucositis.	Cancer Chemother Pharmacol	73 (5)	1047-1054	2014
Watanabe K, Karasaki H, Mizukami Y, Kawamoto T, <u>Kono T</u> , Imai K, Einama T, Taniguchi M, Kohgo Y, Furukawa H.	Cyst infection of intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas: management of a rare complication: report of 2 cases.	Pancreas	43 (3)	478-481	2014
Kaneko A, <u>Kono T</u> , Miura N, Tsuchiya N, Yamamoto M.	Preventive effect of TU-100 on a type-2 model of colitis in mice: Possible involvement of enhancing adrenomedullin in intestinal epithelial cells.	Gastroenterol Res Pract	2013	384057	2013
<u>Kono T</u> , Takeda H, Shimada M, Kase Y, <u>Uezono Y</u> .	Novel therapeutics for adverse effects of antitumor therapy: the promise of multicomponent, traditional Japanese herbal remedies.	J Carcinog Mutagen	epub ahead of print		2014
<u>Kono T</u> , Kaneko A, Matsumoto C, Miyagi C, Ohbuchi K, Mizuhara Y, Miyano K, <u>Uezono Y</u> .	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
Shimada M, Morine Y, Nagano H, Hatano E, Kaiho T, Miyazaki M, <u>Kono T</u> , Kamiyama T, Morita S, Sakamoto J, Kusano M, Saji S, Kanematsu T, Kitajima M.	Effect of TU-100, a traditional Japanese medicine, administered after hepatic resection in patients with liver cancer: a multi-center, randomized, double-blind, placebo-controlled phase II trial (JFMC40-1001).	Int J Clin Oncol	epub ahead of print		2014
Ueno N, Hasebe T, Kaneko A, Yamamoto M, Fujiya M, Kohgo Y, <u>Kono T</u> , Wang CZ, Yuan CS, Bissonnette M, Chang EB, Musch MW.	TU-100 (daikenchuto) and ginger ameliorate anti-CD3 antibody induced T cell-mediated murine enteritis: microbe-independent effects involving Akt and NF- κ B suppression.	PloS ONE	epub ahead of print		2014
Nahata M, Muto S, Nakagawa K, <u>Ohnishi S</u> , Sadakane C, Saegusa Y, Iizuka S, Hattori T, Asaka M, Takeda H.	Serotonin 2C receptor antagonism ameliorates novelty-induced hypophagia in aged mice.	Psychoneuro-endocrinology	38 (10)	2051-2064	2013
Yamada C, Saegusa Y, Nakagawa K, <u>Ohnishi S</u> , Muto S, Nahata M, Sadakane C, Hattori T, Sakamoto N, Takeda H.	Rikkunshito, a Japanese Kampo medicine, ameliorates decreased feeding behavior via ghrelin and serotonin 2B receptor signaling in a novelty stress murine model.	BioMed Res Int	2013	792940	2013
Takeda H, Nakagawa K, Okubo N, Nishimura M, Muto S, <u>Ohnishi S</u> , Sakamoto N, Hosono H, Asaka M.	Pathophysiologic basis of anorexia: focus on the interaction between ghrelin dynamics and the serotonergic system.	Biol Pharm Bull	36 (9)	1401-1405	2013
武田宏司, 武藤修一, 大西俊介, 河野透.	抗癌剤に伴うcachexiaとその治療.	栄養-評価と治療	30 (4)	283-286	2013

Kato T, Watari H, Takeda M, Hosaka M, Mitamura T, Kobayashi N, Sudo S, Kaneuchi M, Kudo M, <u>Sakuragi N.</u>	Multivariate prognostic analysis on the patients with adenocarcinoma of the uterine cervix treated with radical hysterectomy and systematic lymphadenectomy.	J Gynecol Oncol	24 (3)	222-228	2013
Dong P, Kaneuchi M, Konno Y, Watari H, Sudo S, <u>Sakuragi N.</u>	Emerging therapeutic biomarkers in endometrial cancer.	Biomed Res Int	2013	130362	2013
Mitamura T, Watari H, Wang L, Kanno H, Hassan MK, Miyazaki M, Katoh Y, Kimura T, Tanino M, Nishihara H, Tanaka S, <u>Sakuragi N.</u>	Downregulation of miRNA-31 induces taxane resistance in ovarian cancer cells through increase of receptor tyrosine kinase MET.	Oncogenesis	25 (2)	e40	2013
Todo Y, Watari H, Okamoto K, Hareyama H, Minobe S, Kato H, <u>Sakuragi N.</u>	Tumor volume successively reflects the state of disease progression in endometrial cancer.	Gynecol Oncol	129 (3)	472-477	2013
<u>Sakuragi N.</u>	Recent advances in research on epigenetic alterations and clinical significance of para-aortic lymphadenectomy in endometrial cancer: an introduction.	Int J Clin Oncol	18 (2)	183-185	2013
Watari H, Todo Y, Kang S, Odagiri T, <u>Sakuragi N.</u>	Proposal of a concept and design of a randomized phase III trial investigating the survival effect of para-aortic lymphadenectomy in endometrial cancer.	J Obstet Gynaecol Res	40 (2)	312-316	2014
Todo Y, Watari H, Kang S, <u>Sakuragi N.</u>	Tailoring lymphadenectomy according to the risk of lymph node metastasis in endometrial cancer.	J Obstet Gynaecol Res	40 (2)	317-321	2014
Dong P, Kaneuchi M, Watari H, Sudo S, <u>Sakuragi N.</u>	MicroRNA-106b modulates epithelial-mesenchymal transition by targeting TWIST1 in invasive endometrial cancer cell lines.	Mol Carcinog	53 (5)	349-359	2014