

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590891

研究課題名(和文) 終末期における生活の質の向上ーアシルグレリンシグナルからのアプローチー

研究課題名(英文) Improvement of quality of life in terminal stages -approaches from acyl ghrelin signaling -

研究代表者

浅川 明弘 (ASAKAWA, Akihiro)

鹿児島大学・医歯(薬)学総合研究科・准教授

研究者番号：10452947

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：担癌マウスにおいて、血中のアシルグレリン/総グレリン比、レプチン、アディポネクチンの低下、総グレリン、コルチコステロンの上昇、筋肉中の委縮系遺伝子の発現上昇を認めた。正常マウスに対してのアシルグレリンの腹腔内投与は、lipopolysaccharide (LPS)による摂食抑制作用を減弱させた。-Klotho欠損マウスにおいては、生存日数の短縮、血中の糖、インスリンの低下を認めた。Microglia cellにおいては、LPSによる炎症性サイトカイン上昇を、六君子湯が抑制した。これらの知見により、アシルグレリンシグナルの増強が、癌、炎症、加齢の終末期の治療に有効である可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Tumor bearing mice showed an increase in total ghrelin and corticosterone, and a decrease in leptin and adiponectin, and the ratio of acyl ghrelin to total ghrelin in blood, and an increase in atrophy-related gene expression in skeletal muscle. Intraperitoneal administration of acyl ghrelin attenuated inhibitory effects of lipopolysaccharide (LPS) on food intake in normal mice.

-klotho-deficient mice showed a shorter lifespan and a decrease in blood glucose and insulin levels. In microglia cell, rikkunshito suppressed the elevation of proinflammatory cytokines caused by LPS. These observations indicate that potentiating ghrelin signaling may be useful for the treatment of terminal stages of cancer, inflammation and aging.

研究分野：心身医学

キーワード：終末期 癌性悪液質 老化 炎症 サルコペニア アシルグレリン デスアシルグレリン 漢方

## 1. 研究開始当初の背景

戦後の高度経済成長を背景に、日本の平均寿命は急速に延長し、高齢化率は世界1位となっている。また死因における悪性新生物の割合も増加し続け、3割を超えている。罹癌、炎症に伴う悪液質、加齢によるサルコペニア (sarcopenia: 筋肉減少) は、心身の両面において罹患者の生活の質を著しく低下させ、終末期医療において重要な社会問題となっている。しかしながら、その発症、進展のメカニズムの多くが不詳であり、有効な治療法の開発は遅れている。これまでに、食欲不振が病態の重要な成因の一つになっていることが知られている。食欲調節機構は、上部消化管において発現、分泌される、グレリンや膵臓において発現、分泌される pancreatic polypeptide などの脳腸ペプチド、さらに生体の情動行動の統合中枢である、視床下部における神経ペプチドなどによって制御されている<sup>1</sup>。グレリンは、28個のアミノ酸から成り、同一のグレリン遺伝子から、3番目のセリンが脂肪酸によって修飾されている、アシルグレリンと、脂肪酸の修飾のないデスアシルグレリンが生成され、アシルグレリンは末梢からの食欲促進シグナルとして働く<sup>2,3</sup>。一方、デスアシルグレリンは、アシルグレリンの食欲促進作用などをブロックする作用を有している<sup>4</sup>。最近、グレリン脂肪酸転移酵素がCell誌に報告された<sup>5</sup>。摂食障害、癌性悪液質、持続感染、サルコペニアにおいては、るい瘦、低栄養状態でありながら、食欲不振が認められ、食欲促進シグナルであるアシルグレリンの応答不良、デスアシルグレリンの上昇の関与が示唆されるため、食欲不振の改善のため、アシルグレリンの上昇、アシルグレリン受容体の感受性増強が有用なターゲットとして考えられる<sup>6</sup>。これまでに、漢方薬である六君子湯がアシルグレリンの分泌を増加させること、その作用がヘスペリジンによるものであることが報告されている<sup>7,8</sup>。

## 2. 研究の目的

本研究では、罹癌、炎症、加齢の終末期における心身の変化のうち、特に摂食量、体重、筋肉に焦点をあて、そのメカニズムの解析

を、アシルグレリンの役割を中心に、行うとともに、アシルグレリンシグナルの活性化による治療の臨床応用の可能性について、アシルグレリンシグナル増強作用を有する六君子湯の作用を検討することを目的とし、以下を実施した。

- (1) 担癌モデルマウスにおける病態解析
- (2) 炎症による摂食抑制におけるグレリンの作用の解析
- (3) 老化促進モデルマウスにおける病態解析
- (4) ミクログリア細胞株における六君子湯の抗炎症作用の解析

## 3. 研究の方法

- (1) 担癌モデルマウスにおける病態解析  
担癌 (BALB/c、大腸癌 colon26 腹腔内移植) マウスと非担癌マウスを用いて、以下を測定した。

生存日数、摂食量、体重、筋力 (握力)  
大腸癌移植16日後の臓器重量 (ヒラメ筋、長趾伸筋、腓腹筋、足底筋、心臓、胃)

大腸癌移植16日後の血中の糖、インスリン、総グレリン、アシルグレリン、insulin-like growth factor-1 (IGF-1)、レプチン、アディポネクチン、コルチコステロンの濃度

大腸癌移植16日後のヒラメ筋、長趾伸筋におけるmyostatin、atrogin-1、muscle ring finger-1 (MuRF-1)、casitas B-lineage lymphoma-b (Cbl-b)、IGF-1、IGF-1 receptor (IGF-1R) の遺伝子発現

- (2) 炎症による摂食抑制におけるグレリンの作用の解析

正常マウス (C57BL/6) に対して、アシルグレリン或いは生理食塩水を1回/日、3日間の腹腔内投与を行い、その後にlipopolysaccharide (LPS) 或いは生理食塩水を腹腔内投与し、摂食量を測定した。

正常マウス (C57BL/6) とグレリン欠損マウスに対してvacuolating cytotoxin A (vacA) を腹腔内投与し、摂食量を測定した。

(3) 老化促進モデルマウスにおける病態解析

-Klotho欠損マウスにおいて、生存日数、血中の糖、インスリンの濃度を測定した。

(4) ミクログリア細胞株における六君子湯の抗炎症作用の解析

Mouse microglia cell (MG6)において、LPS及び六君子湯を投与し、tumor necrosis factor- (TNF- ), interleukin-1 (IL-1 ), IL-6、IL-10、inducible nitric oxide synthase (iNOS)、cyclooxygenase-2 (COX-2)、arginase-1の遺伝子発現を測定した。

#### 4. 研究成果

(1) 担癌モデルマウスにおける病態解析

担癌マウスにおいて、非担癌マウスに比べ、摂食量、握力の低下、生存日数の短縮が認められた。

大腸癌移植後16日目において、非担癌マウスに比べ、ヒラメ筋、長趾伸筋、腓腹筋、足底筋、心臓、胃の重量の低下が認められた。

大腸癌移植後16日目の血中レベルにおいて、非担癌マウスに比べ、糖、インスリン、アシルグレリン/総グレリンの比、IGF-1、レプチン、アディポネクチンの低下、総グレリン、コルチコステロンの上昇が認められた。

大腸癌移植後の16日目の筋肉（ヒラメ筋或いは長趾伸筋）の遺伝子発現レベルにおいて、非担癌マウスに比べ、myostatin、atrogin-1、MuRF-1、Cbl-b、IGF-1Rの上昇、IGF-1の低下を認めた。

(2) 炎症による摂食抑制におけるグレリンの作用の解析

正常マウスに対するLPSの腹腔内投与による摂食抑制作用は、アシルグレリンの投与により減弱した。

VacAの腹腔内投与による摂食抑制作用は、正常マウスに比べ、グレリン欠損マウスにおいて強い傾向を示した。

(3) 老化促進モデルマウスにおける病態解析

-Klotho欠損マウスにおいて、野生型マウスに比べ、生存日数、血中の糖、インスリン

の濃度の低下を認めた。

(4) ミクログリア細胞株における六君子湯の抗炎症作用の解析

MG6において、LPSの投与により、対照群（Dulbecco's modified eagle's medium投与）に比べ、TNF- 、IL-1 、IL-6、IL-10、iNOS、COX-2の遺伝子発現は上昇し、アシルグレリンシグナル増強作用を有する六君子湯の投与は、LPSによるTNF- 、IL-1 、IL-6、IL-10、iNOS、COX-2の上昇を抑制した。

これらの知見は、罹癌、炎症、加齢の終末期において、アシルグレリンシグナルの増強が、病態の改善に有効である可能性を示しているものと考えられ、今後、アシルグレリンシグナルの増強作用を有する六君子湯や新規薬物による治療が期待される。

#### <引用文献>

Asakawa A, Inui A, Yuzuriha H, Ueno N, Katsuura G, Fujimiya M, Fujino MA, Niiijima A, Meguid MM, Kasuga M. Characterization of the effects of pancreatic polypeptide in the regulation of energy balance. *Gastroenterology*. 2003 May;124(5):1325-36.

Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*. 1999 Dec 9;402(6762):656-60.

Asakawa A, Inui A, Kaga T, Yuzuriha H, Nagata T, Ueno N, Makino S, Fujimiya M, Niiijima A, Fujino MA, Kasuga M. Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. *Gastroenterology*. 2001 Feb;120(2):337-45.

Chen CY, Asakawa A, Fujimiya M, Lee SD, Inui A. Ghrelin gene products and the regulation of food intake and gut

motility. Pharmacol Rev. 2009 Dec;61(4):430-81.

Yang J, Brown MS, Liang G, Grishin NV, Goldstein JL. Identification of the acyltransferase that octanoylates ghrelin, an appetite-stimulating peptide hormone. Cell. 2008 Feb 8;132(3):387-96.

Nakahara T, Harada T, Yasuhara D, Shimada N, Amitani H, Sakoguchi T, Kamiji MM, Asakawa A, Inui A. Plasma obestatin concentrations are negatively correlated with body mass index, insulin resistance index, and plasma leptin concentrations in obesity and anorexia nervosa. Biol Psychiatry. 2008 Aug 1;64(3):252-5.

Takeda H, Sadakane C, Hattori T, Katsurada T, Ohkawara T, Nagai K, Asaka M. Rikkunshito, an herbal medicine, suppresses cisplatin-induced anorexia in rats via 5-HT<sub>2</sub> receptor antagonism. Gastroenterology. 2008 Jun;134(7):2004-13.

Fujitsuka N, Asakawa A, Hayashi M, Sameshima M, Amitani H, Kojima S, Fujimiya M, Inui A. Selective serotonin reuptake inhibitors modify physiological gastrointestinal motor activities via 5-HT<sub>2c</sub> receptor and acyl ghrelin. Biol Psychiatry. 2009 May 1;65(9):748-59.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

浅川明弘、網谷東方、乾 明夫 消化管ホルモンによる食行動・消化管運動調節  
第22回日本消化器関連学会 2014年10月

25日 神戸国際会議場(神戸)

浅川明弘 機能性胃腸障害に対する心身  
相関からのアプローチ 第26回北海道消化  
管運動研究会 2014年6月20日 札幌  
グランドホテル(札幌)

浅川明弘、蔡 明倫、網谷東方、乾 明夫  
Evidence-based 消化器心身医学  
心身ホルモン:グレリン 第54回日本  
心身医学会/第80回消化器心身医学研究  
会 2013年6月27日 パシフィコ横浜(横  
浜)

浅川明弘、山口武人、乾 明夫 癌性悪  
液質におけるグレリンシグナルの役割  
第9回日本消化管学会 2013年1月25日  
京王プラザホテル(東京)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

浅川 明弘 (ASAKAWA, Akihiro)  
鹿児島大学・大学院医歯(薬)学総合研究  
科・准教授  
研究者番号: 10452947

### (2)研究分担者

藤宮 峰子 (FUJIMIYA, Mineko)  
札幌医科大学・医学部・教授  
研究者番号: 10199359

堀内 正久 (HORIUCHI, Masahisa)  
鹿児島大学・大学院医歯(薬)学総合研究  
科・教授  
研究者番号: 50264403

網谷 東方 (AMITANI, Haruka)  
鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・講  
師  
研究者番号: 70535674

乾 明夫 (INUI, Akio)  
鹿児島大学・大学院医歯(薬)学総合研究  
科・教授  
研究者番号: 80168418