

令和元年9月6日現在

機関番号：35303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K01737

研究課題名(和文)肥満関連大腸腫瘍発生におけるサルコペニア・マイオカインの作用機序解析と予防法開発

研究課題名(英文)The effect of myokine, interleukin-6, in colorectal tumor associated with obesity

研究代表者

松本 啓志(Matsumoto, Hiroshi)

川崎医科大学・医学部・准教授

研究者番号：20309553

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：動物実験として、肥満関連大腸発癌マウスモデルにおける抗IL-6受容体抗体(MR-16)による大腸発癌抑制効果を示した。また、マウス後肢懸垂(サルコペニアモデル)がアゾキシメタン誘発大腸腫瘍形成に与える影響を検討し、異型腺窩巣形成数は後肢懸垂群で通常歩行群と比較して有意に増加傾向にあった。多周波インピーダンス法を用いたヒトの体格検討では、女性腺腫群は筋肉指数、握力、右・左脚筋肉量、体幹筋肉量、右・左腕筋肉量が正常群よりも優位に低かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マウスおよびヒトにおける実験・観察研究で肥満およびサルコペニアが大腸腫瘍発生と関連があることを示した。動物実験では、マイオスタチンである抗IL-6受容体抗体が肥満関連大腸腫瘍を抑制できることを証明した。これらの結果より、身体活動によるがん抑制効果はIL-6などのマイオスタチンによる効果の可能性が示唆された。このことから新しいがん予防やがん抑制の創薬の可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In the animal study, we have tested the effects of anti-mouse IL-6 receptor antibody (MR16-1) on the formation of colon tumors induced by azoxymethane (AOM) in high fat-induced obesity mice. Male Balb/c mice were fed high-fat diet (HFD) from 5 to 30 weeks of age. The mean number of colonic polyps was significantly smaller in the MR16-1 injected group compared to the IgG-injected control group. In the human study, we examined the necessity of physical activity from the relationship between colonic polyps and body composition in fecal occult blood(FOB)-positive patients. We divided them into two groups using a colonoscopy : a polyp group (male: n=52 and female: n=26) and a control group (male: n=11 and female: n=9). In male subjects, the low skeletal muscle index (SMI) and high % body fat in polyp group was observed compared with control group. On the other hand, in female subjects, the grip strength in polyp group was significantly lower than that in control group.

研究分野：医学、消化管内科学

キーワード：大腸腫瘍 肥満 サルコペニア インターロイキン6受容体抗体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

わが国の死因として、ここ 30 年間悪性腫瘍が第一位となっている。高度経済成長に伴う生活習慣の欧米化、それに伴う肥満が増加しているため¹⁾、肥満に関連する悪性腫瘍が増加してきている。そのなかでも大腸癌の罹患および死亡率は増加の一途をたどっており、その予防はきわめて重大な国民衛生上の課題と考えられる。

世界癌研究基金(WCRF)と米国癌研究協会(AICR)は、大腸癌のリスクを上げる確実なものとして肥満、特に内臓脂肪型肥満をあげている。肥満と大腸癌との関連は強く、主要 23 か国における BMI30 以上の割合と大腸癌発生率は相関する²⁾。メタアナリシスなどの膨大な疫学調査により、肥満が大腸癌リスクを増加させ、BMI が 2 増えると大腸癌は 7%増加することも明らかにされている。わが国においても肥満が大腸癌のリスクを高めることは一致している。ただし、欧米と異なり日本人では BMI25 以上からすでにリスクが高くなること、皮下脂肪よりも内臓脂肪の相関が強いことが発癌初期において示されている。

また、超高齢化社会にあるわが国において、骨格筋量の減少を主体とするサルコペニア(筋萎縮症)も問題となっている。近年では、肥満の情報を加味したサルコペニア肥満が注目されている。肥満高齢者は、身長が同じで痩せた高齢者と筋肉量が同等であった場合、身体を動かすために必要な全体重当たりの筋量が相対的に減少する。そのため単なるサルコペニアよりもサルコペニア肥満の方が身体機能障害リスクが高い。さらに興味深いことにサルコペニア肥満は単純性肥満よりもメタボリック症候群、消化器がんとの関連性が高いと報告されている^{3,4)}。

サルコペニアは、ヨーロッパならびにアジアのコンセンサスが発表され、診断に骨格筋量の測定が必須になっている。一般には 2 重エネルギー X 線吸収法や CT 検査による体幹・大腿筋の面積測定が用いられている^{3,5)}。多周波インピーダンス法 Bioelectrical impedance analysis(BIA 法)は、簡便な機械で微弱な交流電気を流し生体組織の電気抵抗を計測、組織の違いによる電気抵抗の相違を利用し体組成を測定する無侵襲の筋量測定法で、肥満、サルコペニア診断に対する臨床応用が期待されている。

一方で、大腸発癌リスクを減少させる唯一の確実な因子として、WCRF/AICR は身体活動を挙げている。身体活動とは、骨格筋の収縮を伴い、安静時よりも多くのエネルギー消費を伴う状態をさす。日常生活における「生活活動」と体力の維持・向上を目的とした計画的・意図的に行う「運動」に分けられる。身体活動は、大腸癌ならびに大腸前癌病変としてみなされている腺腫に対する予防効果が示されている^{6,7)}。身体活動による予防効果に関して、いくつかのメカニズムが提唱されているが未だ不明点が多い。

2. 研究の目的

サルコペニア肥満と大腸腫瘍の関連性についてマイオカインを中心にマウス(食事誘発肥満および後肢懸垂モデル)・ヒトで検討する。

- (1) 肥満関連大腸発癌マウスモデルにおけるマイオカインの一つであるインターロイキン 6 の受容体抗体、抗 IL-6 受容体抗体(MR-16)による大腸発癌抑制効果の検討
- (2) マウスサルコペニアモデルとして後肢懸垂がアゾキシメタン誘発大腸腫瘍形成に与える影響
- (3) 多周波インピーダンス法を用いたヒトサルコペニア肥満の診断と大腸腫瘍の関連性の検討

3. 研究の方法

- (1) **マウス実験** : 肥満関連大腸発癌マウスモデルにおける抗 IL-6 受容体抗体(MR-16)による大腸発癌抑制効果

1) Balb/c 雄マウスは生後 5 週目から 19 週目まで高脂肪食を摂取開始した。高脂肪食摂取による食事誘発肥満させた Balb/c マウスにアゾキシメタン腹腔内投与(10mg/kg、週 1 回、

6回腹腔内投与)行うモデルを使用する。

- 2) マイオカイン阻害剤として、マイオカインの一つであるインターロイキン6の受容体抗体、抗IL-6受容体抗体(MR-16)(塩野義製薬からの寄贈)を用いた。マウス抗IL-6受容体抗体(MR-16)は5週から13週まで(週1回、計9回)腹腔内投与を行った。投与量は初回のみ2mg/kg bodyで、以後0.5mg/kg bodyとした。
- 3) 以下の4群にわけて検討を行った。普通食(Normal diet:ND)+IgG、高脂肪食(High Fat Diet:HFD)+IgG、ND+MR16、HFD+MR16
- 4) マウスの内臓脂肪面積ならびに筋肉面積測定は、14週目に小動物用CTスキャンで測定で行う。
- 5) 大腸腫瘍発生は、30週目に切除大腸における腫瘍数ならびに大腸がんの前駆細胞とされる異型腺窩巢(Aberrant Crypt Fori: ACF) (ACF)数を用いて評価を行った。
- 6) 血液、大腸、腹腔内脂肪、大腿筋も採取し、マイオサイトカイン(TNF、IL-6、IL15等)の発現評価も行った。

(2)マウス実験 後肢懸垂がアゾキシメタン投与による大腸腫瘍形成に与える影響

マウスサルコペニアモデルとして後肢懸垂モデルを用いて検討を行った。後肢懸垂モデルとは、動物の後肢を吊り上げることで下肢筋群を免荷し、下腿の筋湿重量が減少するものでありトレッドミル走運動や自発走運動、水泳運動とは対極に位置するモデルである。

- 1) 雄性FVB/Nマウスを通常歩行群と後肢懸垂群に群分けした。後肢懸垂は、マウスの尾部にワイヤーを通し、ワイヤーとケージ天井部と接続して行い、後肢筋肉を萎縮させることでサルコペニアモデルとした。マウス実験と同様にアゾキシメタン投与し、その後後肢懸垂を解除して最初から6週後および12週後に解剖を行った。
- 2) 分析対象は大腸、前脛骨筋、ヒラメ筋、足底筋、外側腓腹筋、内側腓腹筋とした。
- 3) 摘出した大腸は長軸方向で切り開き大腸がんの前駆細胞とされる異型腺窩巢(Aberrant Crypt Fori: ACF)を光学顕微鏡で観察し、個数を数えた。
- 4) 大腸におけるアディポネクチン受容体(Adiponectin Receptor:AdipoR1/2)及び炎症性サイトカインTNF- α の発現をRealtime-PCR法で行った。

(3)臨床研究: 多周波インピーダンス法を用いたヒト肥満・サルコペニアの診断と大腸腫瘍の関連性の検討

- 1) 川崎医科大学附属病院 消化管内科において、大腸検査が必要と考えられる患者、すなわち大腸腺腫性ポリープと診断された患者、もしくはその疑い患者を対象とした。除外項目として大腸切除歴のあるもの、大腸癌(腺腫内癌)を認めるもの、とした。
- 2) 倫理委員会の承認を得た後、対象患者に説明書を配布し、十分な説明の後に、文書による同意を得た。
- 3) 多周波インピーダンス法Bioelectrical impedance analysis (BIA)(InBodyS10)を用いた体格・サルコペニア肥満診断を行った。身長、体重、BMI、内臓脂肪面積、内臓脂肪指数、骨格筋量(左右上腕、下腿、体幹)、骨格筋指数 skeletal muscle index (SMI) kg/m^2 =四肢の除脂肪軟部組織量(kg)を身長(m)の2乗で除した数値、筋力として握力測定(左右腕を各2回ずつ測定した平均値とした。サルコペニア診断はアジア基準(AWGS)⁸⁾を用いた。すなわち、最大握力 男性 26kg 未満、女性 18kg 未満、筋量(骨格筋指数 SMI)、男性 $7\text{mg}/\text{m}^2$ 未満、女性 $5.4\text{kg}/\text{m}^2$ 未満で SMI および握力どちらも認めるものをサルコペニア、SMI、握力どちらか一方を認める者をプレサルコペニアとし、BMI 2.5以上を肥満とした。
- 4) 内視鏡検査結果により腺腫性ポリープのみを認めたものを腺腫群、病変を認めず正常とされたものを対照群とした。

4. 研究成果

(1) マウス実験

HFD 群は ND 群と比較して有意に体重差を認めた。しかし、IgG 投与群と MR16 投与群と比較して体重に差は認めなかった。

CT による体組成構成の比較に関しては、HFD 群は ND 群と比較して脂肪率、内臓脂肪面積、皮下脂肪面積すべてにおいて有意に高値であった。しかし、IgG 投与群と MR16 投与群と比較して体重に差は認めなかった。

高脂肪食摂取によって肥満は誘発され、肥満マウスは通常マウスよりも大腸腫瘍の発生が有意に多かった (ND+IgG 群 2.5 ± 1.6 個、HFD + IgG 群 6.67 ± 3.6 個、 $P < 0.005$)。また MR-16 投与群は IgG 投与群と比較して ND 群および HFD 群の両群ともにポリープの数は有意に低下していた (HFD+IgG 群 6.67 ± 3.6 、HFD+MR-16 群 1.6 ± 1.3 、 $P < 0.05$)。

HFD 摂取群 (HFD+IgG 群、HFD+MR16 群) における筋肉 IL-15 mRNA は ND 摂取群 (ND+IgG 群、ND+MR16 群) と比較して有意に高値であった。

HDF+IgG 群と比較して、HDF+MR16 群の肝臓 TNF- mRNA および IL15 mRNA は有意に低値であった。

また、HDF+MR16 群の内臓脂肪 IL-15 mRNA は HDF+IgG 群と比較して、有意に低値であった。

IL-6 は高脂肪食誘発肥満による大腸腫瘍において重要な役割を担っている可能性が示唆された。

(2) マウス実験

マウスの体重変化は、7 週齢時から 14 週齢時において後肢懸垂群で通常歩行群よりも有意な低値を示した。7 週齢時の体組成 (体重、腹腔内脂肪、下肢骨格筋湿重量) いずれにおいても後肢懸垂群は通常歩行群よりも有意に低値を示した。17 週齢時には両群体重の差はなく、腹腔内脂肪量にも有意な差は認められなかった。また採取した下腿骨格筋湿重量も両群で差は認められなかった。ACF 形成数は後肢懸垂群は通常歩行群と比較して有意に増加傾向にあった (通常歩行群 10.3 vs 後肢懸垂群 15.6 個、 $p = 0.056$)。通常歩行群と比較して後肢懸垂群において、大腸の AdipoR1/2 の mRNA 発現量が有意に減少していた ($p < 0.05$)。通常歩行群と比較して後肢懸垂群の後肢懸垂後での内臓脂肪量が有意に低値であり、有意差はなかったものの内臓脂肪および血清中のアディポネクチンの平均値は高値であった。マウスを用いたアゾキシメタン投与による大腸腫瘍形成促進モデルに対し、後肢懸垂を行うことでアディポネクチンに対する感受性が低下し ACF 発生が促される可能性が示唆された。

(2) ヒト臨床研究

多周波インピーダンス法 Bioelectrical impedance analysis BIA を用いた体格・サルコペニア肥満診断と大腸腫瘍との関連を検討した。川崎医科大学附属病院食道胃腸内科を受診した大腸内視鏡検査で大腸腺腫と診断された 116 名、対照群として便潜血陽性症例のうち内視鏡検査で異常なしと診断を受けた 23 名を比較した。

腺腫群は対照群と比較して、サルコペニア (0% vs 15%)、サルコペニア肥満 (0% vs 2%) を多く認めた。腺腫群は平均 66.3 ± 11.5 歳で、対照群の平均 58.7 ± 12.8 歳と比較して有意に年齢が高かった (Table 1)。しかしながら性別、身長、体重、BMI に差は認めなかった。肥満に関する体脂肪率 (対照群 21.8 vs 腺腫群 28.5)、内臓脂肪面積 (対照群 51.5 vs 腺腫群 77.1)、内臓脂肪指数 (対照群 19.9 vs 腺腫群 29.6) に関しては、腺腫群が対照群と比較して有意に高かった。一方で筋肉に関する筋肉指数 (SMI) (対照群 8.2 vs 腺腫群 7.3)、右脚筋肉量 (対照群 8.4 vs 腺腫 7.3)、左脚筋肉量 (対照群 8.3 vs 腺腫群 7.2) に関しては、腺腫群は対照群と比較して低い値を示していた。

次に、対照群と腺腫群の年齢マッチングさせた2群を性別別に比較した。男性に関しては、体脂肪率、内臓脂肪面積、内臓脂肪指数は腺腫群で有意に高く、筋肉指数、右脚筋肉量、左脚筋肉量は有意に低かった。一方、女性は筋肉指数、握力、右・左脚筋肉量、体幹筋肉量、右・左腕筋肉量は腺腫群で優位に低かった。

<引用文献>

1)厚生労働省：平成19年国民健康・栄養調査結果の概要) 2) Calle EE, et al. Nat Rev Cancer 4;579-591.2004, 3) Prado CM, et al. Lancet Oncol 9;629-635.2008, 4) Lim S, et al. Diabetes Care33;1652-1654. 2010, 5) Ochi M, Geriatr Gerontol Int 10:233-243, 2010. 6) Lee KJ, et al. Cancer Causes Control 18:199-209.2007, 7) Pham NM, et al. Japanese J of Clin Oncology 42:2-13.2012 8) Kaido T, et al. Am J Transplant 13:1549-1556, 2013, Chen LK, et al. J Am Med Dir Assoc 15:95-101, 2014

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計3件)

発表者名：松本啓志、塩谷昭子、合田杏祐、勝又諒、葉祥元、福島真弥、平井伸典、大澤元保、村尾高久、石井学、藤田穰

発表課題：多周波インピーダンス法を用いたサルコペニア肥満診断と大腸腫瘍の関連性

学会名：第103回日本消化器病学会総会

発表年 2017年

発表者名 Hiroshi Matsumoto, Shinya Fukushima, Kyosuke Goda, Ryo Katsumata, Takahisa Murao, Manabu Ishi, Akiko Shiotani

発表課題 Anti-interleukin-6 Receptor Antibody (MR16-1) suppressed colonic carcinogenesis in high fat diet induced obesity mouse

学会名 アメリカ消化器病学会

発表年 2018

発表者名 Takafumi Aoki, Eri Oyanagi, Mami Inoue, Kazuyuki Okamoto, Fusako Teramoto, Michael J. Kremenik, Hiromi Yano, Hiroshi Matsumoto, Akiko Shiotani

発表課題 Exploring beneficial impact of physical activity from body compositions of fecal occult blood-positive patients with colon polyps in Japan

学会名 European College of Sport Science Dublin

発表年 2018

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：春間 賢

ローマ字氏名：HARUMA Ken

所属研究機関名：川崎医科大学

部局名：医学部

職名：特任教授

研究者番号（8桁）：4015652

研究分担者氏名：鎌田 智有

ローマ字氏名：KAMATA Tomoari

所属研究機関名：川崎医科大学

部局名：医学部 健康管理学

職名：教授

研究者番号（8桁）：50351888

研究分担者氏名：塩谷 昭子

ローマ字氏名：SHIOTANI Akiko

所属研究機関名：川崎医科大学

部局名：医学部 消化管内科学

職名：教授

研究者番号（8桁）：80275354

研究分担者氏名：中里 浩一

ローマ字氏名：NAKAZATO Kouichi

所属研究機関名：日本体育大学

部局名：保険医療学部

職名：教授

研究者番号（8桁）：00307933

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：