

平成 31 年 4 月 26 日現在

機関番号：34449

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K21517

研究課題名(和文) 癌悪液質に対する新規運動プログラムの開発と筋量減少に関連するバイオマーカーの探索

研究課題名(英文) Preventive effects of low-intensity exercise on cancer cachexia-induced muscle atrophy

研究代表者

田中 稔 (Tanaka, Minoru)

大阪保健医療大学・大阪保健医療大学 保健医療学部・講師

研究者番号：00735508

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本課題では、癌悪液質に伴う筋萎縮に対する低強度全身運動が筋タンパク質合成系経路に与える効果について検証した。癌悪液質により、血中TNF- α の上昇、ヒラメ筋中のHIF-1 α 及びリン酸化AMPKの発現が増加し、リン酸化p70S6Kの発現は低下した。一方で、低強度全身運動を実施した群では、癌悪液質によるHIF-1 α 及びリン酸化AMPK発現増加とリン酸化p70S6K発現低下の抑制がみられた。低強度運動による筋内の血流改善効果が、骨格筋内の低酸素状態を改善し、それに伴うAMPKの活性化を抑制したと考えられる。その結果、筋タンパク質合成の低下が抑制され、癌悪液質に伴う筋萎縮の予防効果を示したものとする。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本課題の結果から、低強度全身運動は筋タンパク質合成低下を抑制させることにより、癌悪液質に伴う筋萎縮の予防に効果的であることが示唆された。低強度運動が癌悪液質に伴う筋萎縮に有効な運動強度であることおよびその筋量減少予防の機序の一部が明らかとなったことで、他の治療法との併用を可能にし、悪液質に対する治療法における選択の幅が広がると考えられる。以上より、本課題の結果が、癌患者における運動療法の適応範囲拡大につながる可能性があるという点から、本課題の結果は社会的意義があるものとする。

研究成果の概要(英文)：The purpose of present study was to evaluate the effects and to clarify the mechanism of low-intensity endurance exercise on cancer cachexia-induced muscle atrophy. We analyzed the changes in muscle mass and the gene and protein expression levels of major regulators or indicators of skeletal muscle protein degradation and synthesis pathway in the soleus muscles. Low-intensity exercise inhibited the muscle mass loss through a suppression of the ubiquitin-proteasome pathway, increased hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) and phosphorylated AMP-activated protein kinase (AMPK), and inhibited the deactivation of mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway in the soleus muscle, which contributed to the prevention of cancer cachexia-induced muscle atrophy. These results suggest that low-intensity exercise has the potential to become an effective therapeutic intervention for the prevention of cancer cachexia-induced muscle atrophy.

研究分野：リハビリテーション医学

キーワード：癌悪液質 筋萎縮 運動

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

1. 研究開始当初の背景

傷病分類別にみた医科診療医療費構成割合において、新生物(癌を含む)は5大疾病の中でも第2位となっており(厚生労働省)、癌および関連した疾患への対策は本邦における重要課題である。さらに癌患者では病状の進行に伴って、急激な筋量減少を特徴とする悪液質と呼ばれる病態になり、それに伴い身体活動量が著しく低下する。一方、癌患者を対象に、転倒などの予後やせん妄を含む術後合併症などの短期予後に関連した研究では、下肢筋力が関連することが示されている。このため、癌患者における下肢筋量減少の予防は治療・加療後の身体機能の回復促進につながり、患者の要介護移行や生命予後改善の観点からも重要課題の一つであると考へた。

癌悪液質とは、著しい筋量減少を特徴とする代謝障害症候群である。また、骨格筋量減少は、筋タンパク質合成の抑制と分解が亢進した結果、惹起される。さらに、筋タンパク質分解亢進は、主要なタンパク質分解経路であるユビキチン-プロテアソーム系の活性が上昇することで惹起される。一方、癌悪液質では、全身性に炎症が惹起される。全身性炎症の状態では腫瘍壊死因子(TNF-)や Interleukin-6 (IL-6)等の炎症性サイトカインが上昇し、ユビキチン-プロテアソーム系を活性化させることで筋タンパク質分解を亢進させる。特に、悪液質では炎症性サイトカインの激しい上昇を示す。そのため、炎症性サイトカインによるユビキチン-プロテアソーム系の活性化を介した筋タンパク質分解亢進が、悪液質に伴う筋量減少の主要な原因になると考へる。そこで、炎症を抑制することが筋タンパク質分解亢進を抑制し、癌悪液質による筋量減少の予防につながるのではないかと考へに至った。

癌悪液質における炎症状態に対して、運動が有効であると報告されている。研究代表者は、全身性炎症モデル動物を用いて、炎症に伴い筋量が減少することを確認した。さらに、全身炎症状態で、電気刺激による局所運動が、刺激された骨格筋の筋量減少を予防できると報告した。一方、電気刺激は局所運動であったために、全身性の抗炎症効果は確認されなかった。癌悪液質では、全身運動が抗炎症効果を示すと報告されている。一方で、十分な運動効果を得るには運動強度を高くする必要がある。しかし、癌悪液質では、高強度運動が代謝異常を亢進させ、悪液質を増悪させる可能性が示唆されており、積極的な運動介入ができない。このため低強度運動が望まれるが、低強度と高強度運動のどちらが筋量減少予防に有効なのか明確でない。さらに、各強度で別メカニズムが働く可能性も考へられる。

2. 研究の目的

本課題では、癌悪液質に伴う筋量減少に対して低強度と高強度運動の効果を比較し、有効な運動強度を明確にすることを目的とした。

3. 研究の方法

癌悪液質モデルラットを作成し、癌悪液質による筋量減少メカニズムおよびマイオカインの変化を解明することを計画した。雄性 Wistar ラットを用い、腹水肝癌細胞(AH-130)を腹腔内注射することにより胆癌を誘発した。実験期間終了後に骨格筋および血液を摘出した。悪液質の状態は体重減少と張力計を用いた把持力により確認した。その後、摘出した組織から ELISA により各種サイトカインとマイオカインおよび Western blot 法や RT-PCR 法により筋タンパク質分解系因子(Akt、FoxO、ユビキチン-プロテアソーム系指標)を解析し、それらを指標として効果判定を行った。

4. 研究成果

5週齢の Wistar ラットを用い、腹水肝癌細胞を腹腔内注射することにより癌悪液質モデルラットを作成し、モデルラットに対してトレッドミルによる低強度全身運動を実施することで、癌悪液質による筋量減少に対する抑制効果およびマイオカインの変化を解析した。腹腔内投与してから9日間の全身運動を実施後、下腿後面の骨格筋および血液を摘出した。摘出した組織から ELISA により各種サイトカインとマイオカインおよび Western blot 法や RT-PCR 法により筋タンパク質分解・合成系因子を解析し、それらを指標として運動効果の判定を行った。その結果、癌悪液質により、除腹水体重及び筋量が低下した。さらに、血中 TNF- の上昇が確認された。以上の結果から、癌悪液質が惹起されたことおよびそれに伴い筋萎縮が惹起されたことが確認された。一方で、全身性運動により、筋量減少の抑制効果が認められたが、血中の TNF- の抑制効果は見られなかった。筋タンパク質分解系の変化は筋特異的ユビキチンリガーゼ(Atrogin-1、MuRF1)を指標とした。その結果、悪液質により各指標は有意に増加しており、筋タンパク質分解系が筋量減少に関連していることが示唆された。一方で、運動により各指標に対する抑制効果を示した。筋タンパク質合成系は、p70S6K のリン酸化を指標とした。その結果、悪液質により有意な低下を示し、筋量減少に関連していることが示唆された。一方で、運動により p70S6K リン酸化低下の抑制効果を示した。以上の結果から、癌悪液質による筋量減少には筋タンパク質分解系の亢進および筋タンパク質合成系の活性低下が関与していることが示唆された。一方で、全身運動により筋タンパク質分解系の亢進抑制および筋タンパク質合成系の活性低下に対する抑制効果を示したことから、全身運動は癌悪液質に伴う筋量減少の抑制に効果的であること示唆された。さらに、低強度全身運動を実施した群では、癌悪液質による低酸素状態の指標となる HIF-1 及び筋タンパク質合成を抑制するリン酸化 AMPK の発現増加の抑

制がみられた。それらの結果から、低強度運動は筋内の血流を改善させることにより、骨格筋内の低酸素状態を改善することが示唆された。さらに、AMPKの活性化はHIF-1の発現量に依存すると報告されている。本課題では低強度運動による筋内の血流改善効果が、骨格筋内の低酸素状態を改善し、それに伴うAMPKの活性化を抑制したと考えられる。その結果、筋タンパク質合成の低下が抑制され、癌悪液質に伴う筋萎縮の予防効果を示したものと考える。本課題の結果から、低強度全身運動は筋タンパク質合成低下を抑制させることにより、癌悪液質に伴う筋萎縮の予防に効果的であることが示唆された。

本課題により、低強度運動が癌悪液質に伴う筋萎縮に有効な運動強度であること、さらにその筋量減少予防の機序が明らかとなったことで、他の治療法との併用を可能にし、悪液質に対する治療法における選択の幅が広がると考えられる。以上より、本課題の結果が、癌患者における運動療法の適応範囲拡大につながる可能性があるという点から意義のある結果であると考え。今後は癌悪液質に伴う筋内の低酸素状態がなぜ生じるのかということに焦点を当て、その原因について詳細なメカニズムを解明していくこととする。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

- 1) Tanaka M, Sugimoto K, Fujimoto T, Xie K, Takahashi T, Akasaka H, Kurinami H, Yasunobe Y, Matsumoto T, Fujino H, Rakugi H. : Preventive effects of low-intensity exercise on cancer cachexia-induced muscle atrophy. *FASEB J.* 2019 Mar 27. doi: 10.1096/fj.201802430R.
- 2) Fujimoto T, Sugimoto K, Takahashi T, Yasunobe Y, Xie K, Tanaka M, Ohnishi Y, Yoshida S, Kurinami H, Akasaka H, Takami Y, Takeya Y, Yamamoto K, Rakugi H. Overexpression of Interleukin-15 exhibits improved glucose tolerance and promotes GLUT4 translocation via AMP-Activated protein kinase pathway in skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun.* 2019 Feb 19;509(4):994- 1000. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.01.024.

〔学会発表〕(計 4 件)

- 1) Fiber-type specificity of cancer cachexia-induced muscle wasting is phosphorylated p70S6K-dependent. *Experimental Biology2018*, San Diego, 2018.
- 2) 田中稔, 藤本拓, 高橋利匡, 赤坂憲, 杉本研: 癌悪液質に伴う筋萎縮に対する全身性運動の予防効果. 第54回日本循環器病予防学会学術大会, 2018.
- 3) 田中稔, 藤本拓, 謝可宇, 栗波仁美, 赤坂憲, 藤野英己, 杉本研: 癌悪液質に伴う筋萎縮に対する低強度全身運動の萎縮予防効果. 第73回日本体力医学会大会, 2018.
- 4) 田中稔, 杉本研, 藤本拓, 謝可宇, 安延由紀子, 高橋利匡, 栗波仁美, 赤坂憲, 藤野英己, 柴木宏実: 癌悪液質に伴う筋萎縮に対する低強度全身運動が筋タンパク質の合成系経路に与える効果. 第23回日本基礎理学療法学会学術大会, 2018.

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 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 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：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：藤野 英己

ローマ字氏名：(FUJINO Hidemi)

研究協力者氏名：杉本 研

ローマ字氏名：(SUGIMOTO Ken)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。