

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：37116

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K11490

研究課題名（和文）がん悪液質性心機能障害の病態生理の解明と運動および栄養介入による新規治療法の開発

研究課題名（英文）Elucidation of the pathophysiology of cancer cachexia-induced cardiac dysfunction and development of novel therapeutic approaches using exercise and nutrition interventions.

研究代表者

上野 晋 (Ueno, Susumu)

産業医科大学・産業生態科学研究所・教授

研究者番号：00279324

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）：本研究では、ヒト胃がん細胞株85As2細胞を移植したがん悪液質モデルマウスに出現する心機能低下の発症機序の解明すること、その心機能低下に対して栄養補助による改善の可能性を検証することを目的とした。その結果、がん悪液質モデルマウスの心筋では、ユビキチン-プロテアソーム系が亢進していること、この亢進が自発運動の負荷により抑制されることが判明した。また腫瘍を外科的に切除すると、がん悪液質症状が著しく改善することから、おそらくは85As2由来の因子ががん悪液質と心機能障害の発症に重要な役割を果たしていると考えられた。現在ユビキチン-プロテアソーム系の亢進に対するフラボノイドの効果を検討している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、がん悪液質に伴う心機能障害の発症機序にはユビキチン-プロテアソーム系の亢進が関与していること、自発運動負荷はこの亢進を抑制することが判明したことから、この心機能障害に対して運動療法が導入できることが期待される。さらに、心筋のユビキチン-プロテアソーム系に対して選択的にその亢進を阻害する化合物は、補助療法として運動療法と併用できるものにつながる可能性が考えられることから、フラボノイドを中心にこのような作用を示す栄養素を探索する予定である。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to elucidate the pathogenesis of cardiac dysfunction in a mouse model of cancer cachexia in which 85As2 human gastric cancer cell line was transplanted, and to examine the possibility of improving such cardiac dysfunction through nutritional support. We found that the ubiquitin-proteasome system is upregulated in the myocardium of cancer cachexia model mice, and that this upregulation is suppressed by the application of spontaneous exercise. In addition, surgical resection of the tumor markedly improved cancer cachexia symptoms, suggesting that 85As2-derived factors probably play an important role in the development of cancer cachexia and cardiac dysfunction. The effect of flavonoids on the enhancement of the ubiquitin-proteasome system is currently under investigation.

研究分野：神経薬理学

キーワード：がん悪液質 モデルマウス 心機能障害 ユビキチン-プロテアソーム系 自発運動

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

国立がん研究センターがん対策情報センターの推計によると、日本人の2人に1人が生涯でがんになるといわれており、不治の病と恐れられていたがんは身近な病気となっている。がんは、医療技術の進歩により今や治療可能な疾患となっている一方、がんサバイバーの就労問題を含む今後の生活に対する支援、特に抗がん剤治療を受けながら復職を目指す患者の支援が最重要となってきている。抗がん剤や近年その使用が増加している分子標的薬の中にもその副作用として心毒性を生じるものがあり、このような副作用は抗がん剤治療の継続を制限するばかりか、生命維持そのものに直結する場合も多い。また、進行がん患者の約80%に出現し、がん死因の約20%を占めるとされる悪液質では心不全を発症することが近年報告されていることから(文献1,2)、心機能とがんの予後との相関を含めた心臓とがんとの関係が注目されている(文献3,4)。

こうした背景に鑑み、がんサバイバーのフォローアップのための循環器系動態の把握、ならびにがん治療の有効性と心機能の関連を研究する、腫瘍循環器学 Cardio-oncology という学際領域が確立し、臨床現場においてもその取り組みが開始されている。一方、がん悪液質病態下では心機能低下が起こるとされているが、ヒトと同様のがん悪液質を発症する適切なモデルが少ないため、がん悪液質と心機能の関係については未だ不明な点が多く、解析はほとんど行われていない。

最近、ヒト胃がん細胞株 85As2 をラットまたはマウスの皮下へ移植することにより、摂食量、体重、筋肉量の減少を伴う除脂肪量低下などヒトのがん悪液質と類似した症状を呈する動物モデルを、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が確立した(文献5)。臨床上、がん悪液質の病態下では心筋萎縮に伴う心機能障害が起こることが知られており、がんモデル動物でも、心筋障害が惹起されることがすでに報告されている(文献6,7)。これまでに、この 85As2 がん悪液質モデルマウスでは、悪液質の進行とともに顕著な心筋重量、心機能の低下が起こることを見出した。これらはヒトのがん悪液質時に認められる心機能障害と類似しており、85As2 誘発がん悪液質モデルは、がん悪液質における心機能低下のメカニズムを解析する上で適切なモデルであると考えている。さらに慢性心不全時の治療法として推奨されている運動負荷が、この 85As2 がん悪液質モデルに対しても心機能、体重、摂食量、骨格筋重量の低下ならびに心筋変性を抑制することを見出した。

そこで、より効果的なプロトコルの開発には、運動による介入だけでなく栄養による介入も必要ではないかと考えた。実際、がん悪液質患者の治療では、悪液質症状が軽度である pre-cachexia から栄養介入を行うことが推奨されている(文献8)。さらに玉ねぎに多く含まれるフラボノイドの一種ケルセチンは、サルコペニアやがん悪液質による骨格筋萎縮についても改善することが報告されている(文献9,10)。

がん治療時の適正な運動療法や栄養補助のプロトコルを確立できれば、職場での就労の支援に繋がると考えられる。そこで、ケルセチンをはじめとするフラボノイドは、がん悪液質時に起こる心機能障害に対して、運動負荷と合わせるとさらなる相乗効果が期待できると考え、本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

本研究では、85As2 がん悪液質マウスに生じる心機能障害の機序を分子レベルで解明すること、さらにこの心機能障害に対して、ケルセチンをはじめとするフラボノイドの効果を検証することを目的とする。

3. 研究の方法

【がん悪液質モデルマウスの作製と自発運動の負荷】

イソフルラン吸入麻酔下にて BALB/cAJcl-nu/nu nude マウスの皮下にヒト胃がん細胞株 85As2 を移植し(1×10⁶ cells/site×2 sites)、85As2 誘発がん悪液質モデルマウスを作製した。移植後 2 週目より回転かご付ケージ内で飼育することにより自発運動負荷群を作製し、同週齢での対照群、および 85As2 移植/非自発運動負荷群と比較した。また 85As2 移植前、移植後 2 週目、8 週目で骨格筋組織ならびに心筋組織を採取し、遺伝子解析ならびにタンパク質発現量解析を行った。

【がん悪液質モデルマウスに対する腫瘍切除の効果】

85As2 を移植し、がん悪液質症状の出現が確認されたところで外科的に腫瘍を切除して、その後のがん悪液質症状の変化について検討した。

4. 研究成果

【85As2 移植によるがん悪液質発症の機序】

一般的に骨格筋萎縮時に発現量の増加が知られている E3 ユビキチンリガーゼに属する Atrogin-1 および MuRF1 の遺伝子発現量について検討したところ、がん悪液質マウスの骨格筋では発現量が増加していた。この Atrogin-1/MuRF1 遺伝子発現量の増加は、がん悪液質モデルマウスに対する回転かごによる自発運動負荷によって抑制された (図 1)。

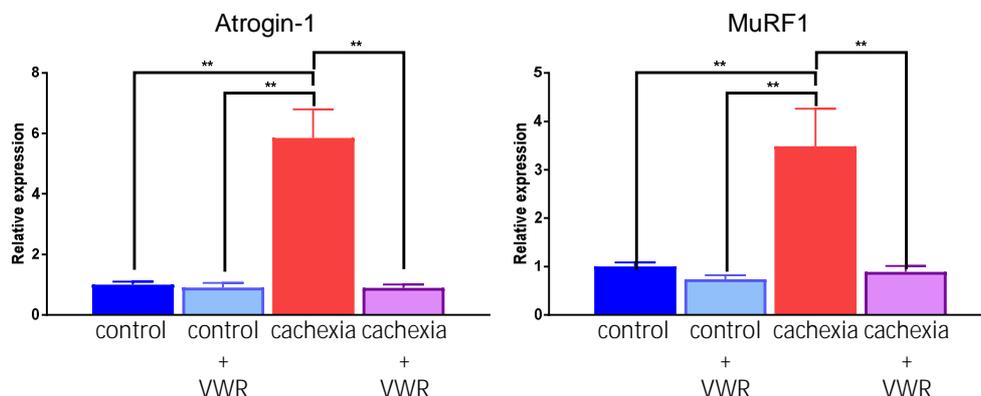


図 1 対照群(control)ならびに 85As2 移植後 8 週群(cachexia)から採取した骨格筋における Atrogin-1(左)、MuRF1(右)発現量、ならびにこれに対する自発運動負荷(VWR)の効果。* $p < 0.01$ vs. age-matched control (unpaired t-test).

心筋組織を用いたマイクロアレイ解析から、85As2 移植前、移植後 2 週目、8 週目で徐々に発現に変動があった遺伝子群として、224 遺伝子が発現量増加遺伝子群、305 遺伝子が減少遺伝子群として検出された。これらの変動遺伝子群に対して KEGG エンリッチメント解析を行い、今回発現量が増加していた E3 ユビキチンリガーゼに着目した。この酵素と心筋障害との関連性については不明な点が多いことから、この遺伝子発現量を検討した結果、回転かごによる自発運動負荷によって遺伝子発現量の増加が抑制されることが判明した (図 2)。

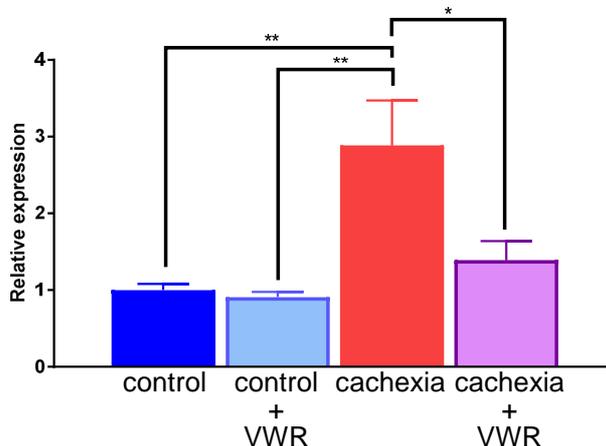


図 2 対照群(control)ならびに 85As2 移植後 8 週群(cachexia)から採取した心筋における E3 ユビキチンリガーゼ遺伝子の発現量、ならびにこれに対する自発運動負荷(VWR)の効果。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. age matched control (unpaired t-test).

またこの E3 ユビキチンリガーゼの基質として知られるタンパク質ダイニンの心筋における発現量の変動を検討したところ、85As2 移植後の経過、すなわちがん悪液質の進行とともにダイニンの発現量は減少していた。このことから、85As2 移植マウスの心筋ではユビキチン-プロテアソーム系が亢進していることが示唆され、これが心機能の低下と関連している可能性が考えられる (図 3)。

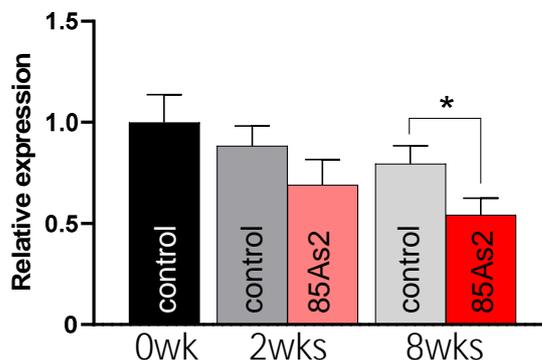


図 3 対照群(control)ならびに 85As2 移植後 2 および 8 週群から採取した心筋におけるタンパク質ダイニンの発現量の変化。* $p < 0.05$ vs. age matched control (unpaired t-test).

また低酸素状態の指標であり、がん悪液質に伴い萎縮する骨格筋で発現量が増加することが知られている低酸素誘導性因子(HIF)のサブユニットの一つ、HIF-1 についても心筋での発現量を検討した。その結果、85As2 移植マウスにおいて有意に増加していることが判明した (図 4)。

以上の結果から、85As2 移植マウスにおける心機能障害の発症機序には、骨格筋萎縮と同様に HIF が活性化しているばかりでなく、ユビキチン-プロテアソーム系の亢進が関与している可能性が考えられる。現在、HIF の活性化およびユビキチン-プロテアソーム系の亢進に対する自発運動負荷の効果についての評価、ならびに免疫組織学的染色による萎縮心筋標本の評価を行っている。

【85As2 移植によるがん悪液質の特徴～栄養補助の効果に向けた検討】

今回、ケルセチンを含むフラボノイドには、最近抗がん作用を示すことで注目されており、フラボノイドが活性酸素(ROS)消去酵素活性の調節、細胞周期停止への関与、アポトーシス誘導、オートファジー誘導、がん細胞の増殖と浸潤の抑制など、多種多様な抗がん作用を有することが示されている(文献11)。そこでまずヒト胃がん細胞株 85As2 を移植することによって生じるがん悪液質に対して、腫瘍を外科的に切除することによる影響について検討した。

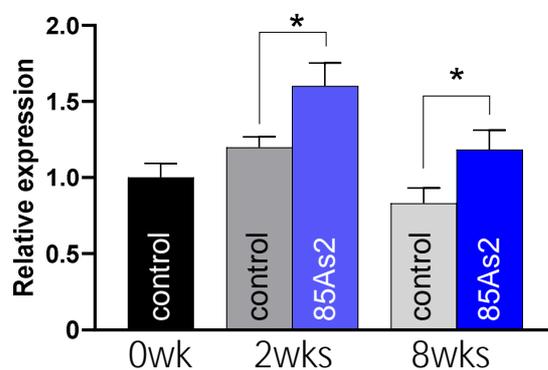


図4 対照群(control)ならびに85As2移植後2および8週群から採取した心筋におけるHIF-1の発現量の変化。*p<0.05 vs. age matched control (unpaired t-test).

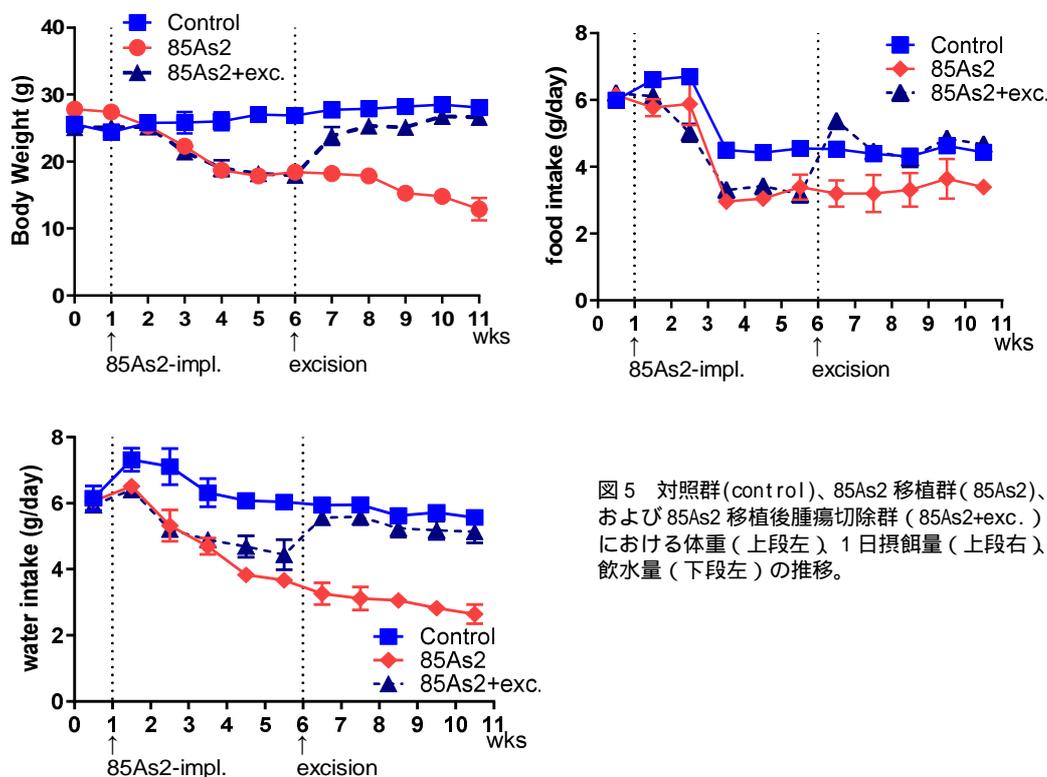


図5 対照群(control)、85As2移植群(85As2)、および85As2移植後腫瘍切除群(85As2+exc.)における体重(上段左)、1日摂餌量(上段右)、飲水量(下段左)の推移。

悪液質の症状である体重減少、食餌摂取量減少、飲水量減少が出現した移植5週間後に腫瘍を外科的に切除したところ、驚くべきことに体重、食餌摂取量、飲水量はいずれも速やかに対照群とほぼ同程度までに回復した(図5)。この結果から、本モデルマウスにおけるがん悪液質症状は、腫瘍が産生する因子により誘導されている可能性が示唆された。またこのことは、本モデルマウスにおいて腫瘍の増殖を直接抑制する効果を示す薬物や化合物はがん悪液質症状を軽減する可能性があることを示唆するものである。

本研究はがん悪液質症状の中でも心機能障害に対する栄養補助の効果を検討する目的であることから、フラボノイドの抗腫瘍効果よりも心機能障害の発症機序に対するフラボノイドの効果を評価する必要がある。計画では当初ケルセチンに着目していたが、ケルセチンには腫瘍細胞の増殖を抑制する効果が既に知られていることから(文献12)、まず本研究で用いている85As2細胞の増殖作用に対するケルセチンを含めた各種フラボノイドの作用についてin vitro系で再評価を行っているところである。さらに心筋細胞における酵素Xの遺伝子発現量に対する各種フラボノイドの効果についてもin vitro系で検討しており、これらin vitro系で得られた結果をもとにin vivo系を用いた85As2移植によるがん悪液質と心機能障害に対する効果を引き続き検証していく予定である。

文献

1. Muscaritoli M, et al. Eur J Cancer. 42:31-41, 2006.
2. Kazemi-Bajestani SMR, et al. J Cachexia Sarcopenia Muscle. 5:95-104, 2014.
3. Hasin T, et al. J Am Coll Cardiol. 62:881-886, 2013.

4. Pavo N, et al. *Heart* 101:1874-1880, 2015.
5. Terawaki K, et al. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 306:E373-387, 2014.
6. Tian M, et al. *Int J Oncol.* 39:1321-1326, 2011.
7. Xu H, et al. *Life Sci.* 88:406-410, 2011.
8. Fearon K, et al. *Lancet Oncol.* 12:489-495, 2011.
9. Velázquez KT, et al. *J Nutr.* 144:868-875, 2014.
10. Francaux M, et al. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 21:159-163, 2018.
11. Kopustinskiene DM, et al. *Flavonoids as Anticancer Agents. Nutrients.* 12:457, 2020.
12. Biswas P, et al. *Int J Mol Sci.* 23:11746, 2022

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 野中美希、上野晋、岸田昭世、大島佳織、宮野加奈子、上園 保仁
2. 発表標題 がん悪液質に伴う心機能障害に対する回し車を用いた治療効果の検討 : Onco-Cardiologyの観点からのがん悪液質治療
3. 学会等名 第7回日本がんサポーターティブケア学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 野中美希、柿木 亮、岸田昭世、大島佳織、後藤元秀、上園保仁、上野 晋
2. 発表標題 がん悪液質モデルマウスに出現する心機能障害と自発運動負荷がもたらす治療的效果
3. 学会等名 第49回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 野中美希、上野 晋、細田洋司、上園保仁
2. 発表標題 がん治療関連心血管疾患に対する治療法確立を目指して - 腫瘍循環器学の発展とこれから -
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 野中美希、大島佳織、上園保仁
2. 発表標題 がん悪液質に関連する心機能障害に対する新規治療法の確立 自発運動を用いて
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 野中美希、上野晋、上園保仁
2. 発表標題 がん患者における心機能低下のメカニズム - がん悪液質モデルマウスを用いた基礎的検討 -
3. 学会等名 第4回日本腫瘍循環器学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 野中美希、上野晋、柿木亮、岸田昭世、呉林なごみ、村山尚、宮野加奈子、寺脇潔、櫻井隆、上園保仁
2. 発表標題 がん悪液質性心機能障害に対する自発運動による治療効果の検討：Cardio-oncologyの観点からのアプローチ
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	野中 美希 (Nonaka Miki) (60758077)	東京慈恵会医科大学・医学部・特任講師 (32651)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------