

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03516

研究課題名(和文) エキソソームを介した筋萎縮発症機序の解明と新たな治療へのアプローチ

研究課題名(英文) Exosome-mediated muscle atrophy and new therapeutic approaches for cancer cachexia

研究代表者

金山 博臣 (KANAYAMA, Hiroomi)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・教授

研究者番号：10214446

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：悪液質誘導がん細胞由来エキソソームの解析から、筋萎縮を引き起しうる候補因子を同定した。筋細胞へのエキソソーム添加した際に、クエン酸回路内の代謝に変化が生じることが分かった。また、エキソソーム内因子の標的分子にミトコンドリア呼吸鎖複合体の構成因子が含まれており、このミトコンドリア呼吸鎖複合体の発現は、がん由来エキソソームを添加により低下することが確認された。この結果は、クエン酸回路内の代謝変化と一致しており、がん由来エキソソームによるミトコンドリア内代謝変化により、脂肪酸の過剰酸化による脂肪毒性が助長されることを示唆していると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

長年にわたり悪液質に対して炎症性サイトカインを標的として開発が進められてきたが、有効な治療法は確立されていない。我々は、治療標的となりうる新たな仲介分子としてエキソソームに着目した。エキソソームにより筋細胞の萎縮が認められること、さらに筋細胞内代謝変化が生じていることを示したことは、炎症性サイトカイン以外の仲介分子により筋細胞内の代謝変化が引き起こされることによる筋萎縮が起こることを示しており高い学術的意義を有する。また、この研究成果は、がん悪液質における筋萎縮に対する治療に新たなアプローチを可能にするものであり高い社会的意義を有する。

研究成果の概要(英文)：We identified candidate miRNA that may cause skeletal muscle atrophy based on miRNA analysis of exosomes derived from pro-cachectic cancer cells. The inhibitor of the candidate miRNA could rescue the myotube atrophy. As the targets of the miRNA contain components of mitochondrial OXPHOS, we assessed the expressions of mitochondrial OXPHOS in myotube and confirmed that the cancer-derived exosomes lead to the decreased expression of mitochondrial OXPHOS. This result is consistent with metabolic changes in the citric acid cycle, suggesting that mitochondrial metabolic changes induced by cancer cell-derived exosomes may contribute to lipotoxicity due to excessive fatty acid oxidation.

研究分野：泌尿器がん

キーワード：がん悪液質 エキソソーム 筋細胞内代謝

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

悪液質発症のカギとなる因子として研究されたサイトカインやその下流分子を標的とした治療では悪液質の克服には至っていない。研究代表者らは、より実臨床に近いヒト由来がん悪液質モデルを構築し、悪液質における筋萎縮発症機序の解明と新たな治療法の開発を目指し研究を行ってきた。その結果から、筋細胞内の代謝の変化は、悪液質の発症の結果おこる副次的な変化ではなく、悪液質における筋組織萎縮発症のトリガーとなっていることを示した。このようなダイナミックな代謝の変動は、これまで研究されてきたサイトカイン等だけでは説明できない。すなわち、悪液質の発症に未だに同定されていない分子が関与していることを示唆するものである。

悪液質における筋細胞内の代謝変化と同様に、がん細胞内においてはその旺盛な増殖・進展を支えるために様々な代謝の変化が起こっている。また、がん細胞内では代謝を制御する分子にも変化が認められる。つまり、がん細胞から放出されるエクソソームには、がん細胞および筋細胞の代謝を制御する生体情報が含まれていると考えられる。がん細胞から放出されるエクソソームによる筋細胞内の代謝制御を明らかにすることがより詳細な筋萎縮の機序解明につながるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

がん細胞から放出されるエクソソームの解析と筋細胞の代謝に与える影響の評価をとおして、悪液質における筋萎縮の発症機序について明らかにすることを目指す。

3. 研究の方法

(1)エクソソームの単離

悪液質誘導癌細胞株と非誘導細胞株の細胞上清、および悪液質発症、非発症の腎がん患者から回収した血清からエクソソームを MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS (FUJIFILM) を用い抽出した。

(2)悪液質誘導分子の同定を目指したエクソソームの網羅的解析

抽出したエクソソームを、3D-Gene® miRNA Oligo chip を用いた miRNA 解析により評価した。

(3)エクソソームによる筋細胞内の遺伝子発現および代謝変化

がん細胞から放出されたエクソソームが筋細胞の代謝に与える影響を評価することを目的とし、網羅的遺伝子発現解析および metabolomics 解析を用いて代謝変化を評価した。

(4)候補 miRNA による筋細胞内代謝変化と筋萎縮評価

候補 miRNA の inhibitor を用いることにより、細胞内代謝への影響と筋萎縮の抑制効果について検証を行った

4. 研究成果

(1)がん由来エクソソームによる筋萎縮への影響

ヒト骨格筋細胞に、分化誘導開始時にがん細胞由来エクソソームを分化培地中に添加することにより、悪液質誘導がん細胞由来エクソソームによる筋管形成が阻害するとともに、骨格筋構成タンパク質のミオシン重鎖をコードする遺伝子である MYHC の発現量の有意な低下が確認された。

(2) エクソソーム内の悪液質誘導因子の探索

悪液質誘導エクソソーム添加による影響を評価するためにマイクロアレイ解析を行ったところ脂質代謝関連シグナルの発現上昇を認めた。この結果は、先の我々の研究結果を支持するものであり、かつがん由来エクソソームによる細胞内代謝変化が認められることを示している。

エクソソーム内の悪液質誘導因子を同定するために抽出したエクソソームを miRNA 解析により評価し、悪液質モデルと悪液質患者血清由来のエクソソームに共通し発現上昇が認められる因子を同定した。

候補 miRNA による筋萎縮抑制効果を確認するためにヒト由来筋細胞の分化培地に悪液質誘導がん細胞由来エクソソームと候補 miRNA inhibitor、候補 miRNA mimic をそれぞれ添加した。その結果、inhibitor により筋管萎縮の改善がみられ miRNA mimic 添加でも筋管萎縮が生じることが確認された。

(3) エクソソームによる筋細胞内代謝変化と筋萎縮

先の研究にて脂肪酸酸化が亢進していること、また、その脂肪毒性により ROS の発生が起こっていることが示されていることから、クエン酸回路、電子伝達系等のミトコンドリア機能に係る変化を評価するために CE-MS 解析を実施した。その結果、悪液質誘導がん細胞由来エクソソームを添加した筋細胞において、コハク酸の有意な増加が認められた一方で、フマル酸は変化が認められなかった。クエン酸回路内のフマル酸に関連する酵素としてコハク酸デヒドロゲナーゼがあるが、これはミトコンドリア呼吸鎖の構成酵素でもある。候補 miRNA の標的分子としてミトコンドリア吸鎖複合体の構成因子が含まれており、がん由来エクソソームを添加した筋細胞にける呼吸鎖複合体の発現を確認したところ、呼吸鎖複合体 Complex I、Complex II、Complex III、Complex IV の発現低下が確認された。本研究結果は、がん由来エクソソームによるミトコンドリア内代謝変化により、脂肪酸の過剰酸化による脂肪毒性が助長されることを示唆していると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Uemura Motohide, Tomita Yoshihiko, Miyake Hideaki, Hatakeyama Shingo, Kanayama Hiro-omi, Numakura Kazuyuki, Takagi Toshio, Kato Tomoyuki, Eto Masatoshi, Obara Wataru, Uemura Hirotugu, Choueiri Toni K., Motzer Robert J., Fujii Yosuke, Kamei Yoichi, Umeiyama Yoshiko, Pietro Alessandra, Oya Mototsugu	4. 巻 111
2. 論文標題 Avelumab plus axitinib vs sunitinib for advanced renal cell carcinoma: Japanese subgroup analysis from JAVELIN Renal 101	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 907 ~ 923
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14294	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tomita Yoshihiko, Naito Sei, Sassa Naoto, Takahashi Atsushi, Kondo Tsunenori, Koie Takuya, Obara Wataru, Kobayashi Yasuyuki, Teishima Jun, Takahashi Masayuki, Matsuyama Hideyasu, Ueda Takeshi, Yamaguchi Kenya, Kishida Takeshi, Shiroki Ryoichi, Saika Takashi, Shinohara Nobuo, Oya Mototsugu, Kanayama Hiro-omi	4. 巻 18
2. 論文標題 Sunitinib Versus Sorafenib as Initial Targeted Therapy for mCC-RCC With Favorable/Intermediate Risk: Multicenter Randomized Trial CROSS-J-RCC	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Genitourinary Cancer	6. 最初と最後の頁 e374 ~ e385
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clgc.2020.01.001	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fukuta Kyotaro, Daizumoto Kei, Takahashi Masayuki, Mori Hidehisa, Otomi Yoichi, Uehara Hisanori, Fukawa Tomoya, Yamamoto Yasuyo, Yamaguchi Kunihisa, Kanayama Hiro-omi	4. 巻 4
2. 論文標題 Granulocyte colony stimulating factor producing retroperitoneal leiomyosarcoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 IJU Case Reports	6. 最初と最後の頁 75 ~ 78
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/iju5.12243	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 大豆本圭、金山博臣、上原久典、宇都義浩	4. 巻 46
2. 論文標題 鶏卵を用いた次世代患者由来がんモデルの開発	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Medical Science Digest	6. 最初と最後の頁 59-61
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 大豆本圭、福原弥生、布川朋也、高橋正幸、金山博臣
2. 発表標題 微小乳頭型尿路上皮癌 (Micropapillary urothelial carcinoma) のPDX modelの樹立と治療法の開発
3. 学会等名 日本がん分子標的治療学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高橋正幸、大豆本圭、布川朋也、金山博臣
2. 発表標題 転移性腎細胞癌に対するニボルマブ・イピリムマブ併用療法の初期経験
3. 学会等名 日本がん分子標的治療学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 福原弥生、大豆本圭、布川朋也、高橋正幸、金山博臣
2. 発表標題 組織学的特徴を維持した淡明細胞型腎細胞癌のPDC (patient-Derived Cell)の樹立
3. 学会等名 日本がん分子標的治療学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 布川朋也、尾崎啓介、大豆本圭、高橋正幸、金山博臣
2. 発表標題 脂肪酸代謝を標的とした癌に伴う筋萎縮克服への治療戦略
3. 学会等名 日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大豆本圭、福原弥生、上原久典、佐々木雄太郎、尾崎啓介、上野恵輝、津田恵、楠原義人、布川朋也、山本恭代、山口邦久、高橋正幸、金山博臣
2. 発表標題 Micropapillary urothelial carcinomaの病態解明と新規治療法の探索
3. 学会等名 泌尿器科分子細胞研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大豆本圭、福原弥生、尾崎啓介、津田恵、楠原義人、森英恭、布川朋也、山本恭代、山口邦久、福森知治、高橋正幸、金山博臣、上原久典
2. 発表標題 当科における患者腫瘍組織移植PDX (patient-derived xenograft)モデル作製の取り組みとMicropapillary urothelial carcinomaのPDX modelの樹立
3. 学会等名 日本泌尿器科学学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福原弥生、大豆本圭、布川朋也、上原久典、小和田実、福森知治、高橋正幸、金山博臣
2. 発表標題 淡明細胞型腎細胞癌のPDC (Patient-Derived Cell)の樹立
3. 学会等名 日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大豆本圭、福原弥生、上原久典、宇都義浩、小和田実、布川朋也、福森知治、高橋正幸、金山博臣
2. 発表標題 徳島大学病院におけるPDXモデルの確立と微小乳頭状尿路上皮癌における有効な治療法の開発
3. 学会等名 日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上原久典、大豆本圭、福原弥生、小和田実、布川朋也、金山博臣
2. 発表標題 膀胱癌の進展における骨盤内死亡細胞由来因子の関与
3. 学会等名 日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大豆本圭、矢野哲弘、佐々木雄太郎、尾崎啓介、上野恵輝、津田恵、楠原義人、森英恭、布川朋也、山本恭代、山口邦久、高橋正幸、金山博臣、宇山直人、上原久典
2. 発表標題 当院における筋層浸潤性膀胱癌に対する術前化学療法の検討
3. 学会等名 西日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tomoharu Fukumori, Kei Daizumoto, Megumi Tsuda, Keisuke Ozaki, Yoshito Kusahara, Hidehisa Mori, Tomoya Fukawa, Yasuyo Yamamoto, Kunihisa Yamaguchi, Masayuki Takahashi, Hiro-omi Kanayama,
2. 発表標題 Galectin-3 is involved in the tumor progression and drug resistance induced by taxane chemotherapy and poly(adenosine diphosphate [ADP]-ribose) polymerase (PARP) inhibitor in castration-resistant prostate cancer
3. 学会等名 AUA (国際学会)
4. 発表年 2019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	二川 健 (NIKAWA Ken) (20263824)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・教授 (16101)	

6. 研究組織（つづき）

	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	津田 恵 (TSUDA Megumi) (30769188)	徳島大学・病院・特任助教 (16101)	
研究分担者	尾崎 啓介 (OZAKI Keisuke) (30814157)	徳島大学・病院・医員 (16101)	
研究分担者	布川 朋也 (FUKUHARA Tomoya) (70564342)	徳島大学・病院・講師 (16101)	

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