

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 24 日現在

機関番号：24201

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25560360

研究課題名(和文) 運動が乳ガン発症を予防する分子機序の解明

研究課題名(英文) Molecular mechanisms underlying prevention of breast cancer by physical activity

研究代表者

東田 一彦 (Higashida, Kazuhiko)

滋賀県立大学・人間文化学部・准教授

研究者番号：50634466

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：近年の大規模疫学研究により、習慣的な身体活動が乳ガン発症や再発を低下させることが明らかとなってきた。しかし、「なぜ身体活動は乳ガンの発症を減らすことができるのか？」という、分子機序は明らかではない。身体運動を行うことで骨格筋から様々な分子が分泌されていることが近年明らかにされているため、本研究では、身体活動による乳ガン抑制効果に骨格筋由来因子が関与しているとの仮説を立て、骨格筋由来因子がガン細胞の増殖能に及ぼす影響を検討した。本研究の結果、骨格筋由来因子CTRP15は乳ガン細胞のエネルギー代謝を調節することで増殖能を低下させる可能性が考えられる。

研究成果の概要(英文)：Recent report demonstrated that physical activity probably contributes to a decrease in the risk of breast cancer. The molecular mechanisms underlying this inverse association have not been understood. The purpose of the present study is to evaluate the involvement of myokines, are secreted by muscle cell in the prevention of breast cancer cell proliferation. Human breast cancer cell lines (MCF-7, MDA-MB-231, BT-474) were cultured with CTRP15. Forty-eight hours later, The cells were harvested and analyzed for cell proliferation and transporter expression. We found that CTRP15 inhibited the proliferation of the MCF-7 cell line, but not in other two cell lines. Furthermore, CTRP15 decreased the L-type amino acid transporter protein expression in MCF-7. These results suggest that CTRP15 slowed down MCF-7 proliferation via downregulation of amino acid metabolism.

研究分野：運動生理学・生化学

キーワード：運動 骨格筋 乳ガン

1. 研究開始当初の背景

日本人女性の乳ガンの罹患率は増加の一途を辿り、現在では胃ガンを抜いてトップになっている(平成23年人口動態統計)。また、乳ガンは女性の全ガンによる死亡数の中で4位と上位に位置しており、乳ガン予防対策は喫緊の課題である。

乳ガン発症の危険因子としては、早い初潮年齢、遅い初産年齢、少ない出産回数、遅い閉経年齢や乳ガンの家族歴(遺伝的素因)が知られている。一方、生活習慣が乳ガン発症リスクに関連することも報告されており、生活習慣を変えることで罹患率を下げることも可能であると考えられている。その中でも、習慣的な身体運動が乳ガン発症のリスクを低下させる可能性を示唆する疫学研究が近年増加している。また、大規模疫学研究により、運動量と乳ガン発症、再発や死亡率との関係が明らかとなってきた。「活動的な生活習慣の女性は乳ガン発症率が低い」とする研究結果は、国内外のコホート研究で示されており、さらに、乳ガン診断後に身体活動量が増えた女性は、身体活動量が少ない女性より死亡する頻度が有意に低い(0.6倍)という、運動による乳ガン増殖・転移抑制効果も報告されている。しかしながら、「なぜ習慣的な身体運動は乳ガンの発症を減らすことができるのか?」という、分子機序に関しては全く研究が行われていない。この分子機序が明らかとなれば、他の生活習慣病だけでなく、ガン予防のために身体活動量を推奨する大きな根拠を示すことが可能となる。また、普段不活動な生活を送っている人にとって、運動を開始する大きな動機付けとなるかもしれない。

近年、骨格筋から分泌される分子、いわゆるマイオカインが、生体の代謝機能に影響を及ぼすことが明らかとなってきた。その中には、体に蓄積した脂肪を燃焼させる効果のある分子や、大腸ガンの発症予防に貢献している可能性を示すものなどがある。そこで、本研究では、身体運動による乳ガン発症予防の分子機序を明らかにすることを目的に研究を行うこととした。その際、骨格筋から分泌される因子が、乳ガン発症予防に関連しているという仮説を立てて検証を行った。

2. 研究の目的

身体活動による乳ガン抑制効果に骨格筋由来因子が関与しているとの仮説を立て、骨格筋由来因子がガン細胞の増殖能に及ぼす影響を検討する。

3. 研究の方法

(1) 研究課題1

身体運動による乳ガン発症予防効果に、骨格筋由来の体液性因子が関与している、と仮説を立て、この仮説を検証した。

3種類のヒト由来乳ガン細胞株(MCF-7、MDA-MB-231、BT-474)を、これまでに報告さ

れている骨格筋由来因子を添加した培地とともに培養を行った。この際、骨格筋由来因子としては、身体運動により血中濃度が増加することが報告されているものを採用した。

-aminoisobutyric acidは身体運動により骨格筋から分泌され、白色脂肪細胞の褐色化を引き起こすことで、運動により体重減少に貢献している可能性が報告されている(Roberts et al. 2014 Cell Metabolism,)。また、CTRP15も、身体運動により骨格筋から分泌され、全身の脂質代謝を亢進することが報告されている分子である(Seldin et al. 2012 J Biol Chem.)。これらの骨格筋由来因子とともに48時間培養した後、細胞増殖能をMTTアッセイにより検討した。

(2) 研究課題2

骨格筋由来因子が乳ガン細胞の増殖速度を低下させる分子機序について検討を行った。研究課題1で乳ガン細胞増殖速度を低下させることが示された骨格筋因子を乳ガン細胞を培養する培地に添加し、48時間の培養後、エネルギー代謝および栄養素のトランスポーターをウエスタンブロッティング法により測定した。

4. 研究成果

(1) 研究課題1の成果

ヒト由来乳ガン細胞株(MCF-7、MDA-MB-231、BT-474)をCTRP15、-aminoisobutyric acidと共に48時間培養した。

CTRP15はMDA-MB-231、BT-474の細胞増殖速度に影響を及ぼさないことが明らかとなった。一方、CTRP15の培地への添加は、MCF-7の細胞増殖速度を有意に低下させることが明らかとなった(図1)。

CTRP15とは対照的に、同じ骨格筋由来因子である-aminoisobutyric acidの培地への添加は、本研究で用いたすべての乳ガン細胞において増殖速度を高めることが明らかとなった。

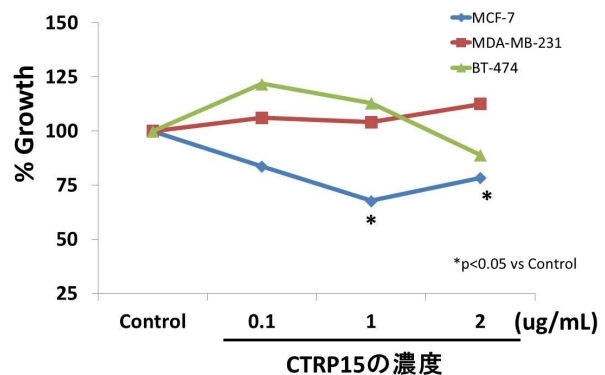


図1. CTRP15 と共に培養した乳ガン培養細胞の増殖速度

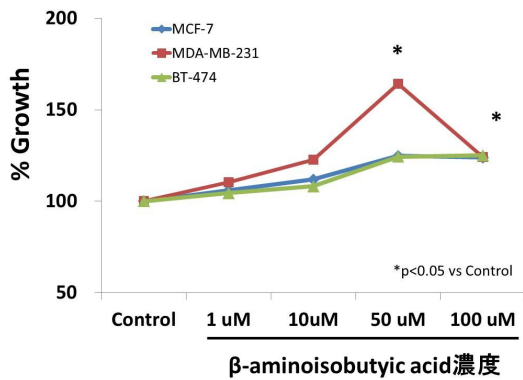


図 2. β -aminoisobutyric acid と共に培養した乳ガン培養細胞の増殖速度

ガン細胞で亢進している糖質代謝が相対的に制限されることで、細胞増殖速度が低下すると仮説を立てていた。しかしながら、 β -aminoisobutyric acid の培養液への添加により細胞増殖速度が高まったことから、骨格筋から分泌する分子にはガン細胞の増殖速度を低下させるもとの、高めるものの両方が含まれる可能性が示された。

(2) 研究課題 2 の成果

研究課題 1 において乳ガン細胞の増殖速度を低下させる効果が認められた CTRP15 が、どのような作用機序により細胞増殖速度を低下させるかを検討した。

上述したように、各種ガン細胞では糖質代謝（解糖系）が亢進していることが知られている（Warburg 効果）。そのため、細胞増殖能が低下する機序として、グルコースを細胞内に取り込むグルコーストランスポーター発現量の減少が関与していると仮説を立て、グルコーストランスポーター発現量をウエスタンブロット法の検討を行った。

その結果、CTRP15 の添加は、MCF-7 ガン培養細胞に発現しているグルコーストランスポーターの発現量に影響を及ぼさない可能性が示された（図 3）。

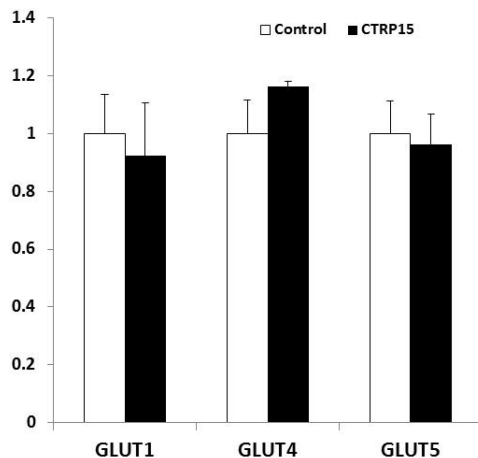


図 3. CTRP15 が MCF-7 ガン細胞のグルコーストランスポーター発現量に及ぼす影響

続いて細胞増殖に必要なアミノ酸トランスポーターの発現量をウエスタンブロット法にて検討した。

その結果、アミノ酸トランスポーターの一つである LAT1 タンパク質量が CTRP15 を培地に転化することで有意に低下することが明らかとなった（図 4）。

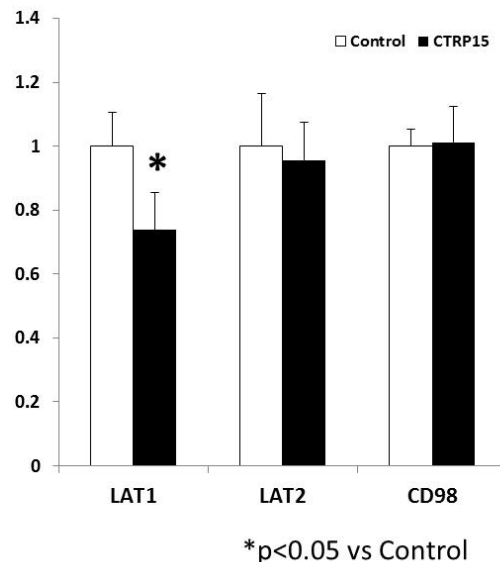


図 4. CTRP15 が MCF-7 ガン細胞のアミノ酸トランスポーター発現量に及ぼす影響

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計 5 件)

1. 東田一彦, 園生智広, 藤本恵理, 樋口満. 異なる脂質含量の食餌がラットの骨格筋ミトコンドリア酵素活性および持久性運動パフォーマンスに及ぼす影響. *スポーツ科学研究*. 2015. 12:137-144.

2. Yokokawa T, Sato K, Iwanaka N, Honda H, Higashida K, Iemitsu M, Hayashi T, Hashimoto T. Dehydroepiandrosterone activates AMP kinase and regulates GLUT4 and PGC-1 expression in C2C12 myotubes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015. 17-24;463(1-2):42-7. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.05.013.

3. Oishi Y, Tsukamoto H, Yokokawa T, Hirotsu K, Shimazu M, Uchida K, Tomi H, Higashida K, Iwanaka N, Hashimoto T. Mixed lactate and caffeine compound increases satellite cell activity and anabolic signals for muscle hypertrophy. *J Appl Physiol* (1985). 2015 118(6):742-9.

doi: 10.1152/japplphysiol.00054.2014.

4.Ogasawara R, Sato K, Higashida K, Nakazato K, Fujita S. Ursolic acid stimulates mTORC1 signaling after resistance exercise in rat skeletal muscle. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2013. 305(6):E760-5.
doi: 10.1152/ajpendo.00302.2013.

5. Higashida K, Tabata I, Higuchi M, Terada S. Regulation of Skeletal muscle GLUT-4 expression by exercise and nutritional stimuli. J Phys Fitness Sports Med. 2013. 2(3): 355-360.
doi.org/10.7600/jpfsm.2.355

〔学会発表〕(計 1 件)

Higashida K, Semba K, Higuchi M. Effect of myokine on proliferation and energy metabolism of human breast cancer cell lines. The 3rd Institute of Advanced Active Aging Research symposium. 2015年10月30日. 「早稲田大学(東京)」

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.shc.usp.ac.jp/nakai/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

東田 一彦 (Higashida Kazuhiko)

滋賀県立大学人間文化学部生活栄養学科
准教授

研究者番号：50634466