

令和元年5月28日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05277

研究課題名（和文）高齢癌術後予後増悪因子であるフレイルへの術前介入の有用性と機序に関する包括的研究

研究課題名（英文）A comprehensive study related to the mechanism and usefulness of pre-operative intervention on physical frailty as a poor prognostic factor after surgery for gastrointestinal cancer in older adults

研究代表者

樂木 宏実（Rakugi, Hiromi）

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号：20252679

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 10,900,000円

研究成果の概要（和文）：フレイル高齢癌患者を対象に術前の運動・栄養介入の術後合併症・予後に対する影響を検討する臨床試験では、術後合併症への影響は明らかではないものの介入群で対照群より身体機能（と精神機能（うつ、意欲））が維持されていることが示された。癌悪液質に対する運動の効果を検討した基礎実験では、低強度運動により筋萎縮、筋力低下が抑制され、筋組織低酸素状態の改善が寄与していることが示された。高齢癌患者に対する術前の適度な運動と栄養補充は、身体機能のみならず精神機能の維持を介して術後予後改善に寄与する可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌術後の合併症の発症や予後の悪化にかかわるフレイルを示す高齢者に対して、術前にフレイルの改善につながる運動とアミノ酸補充を短期間行うことにより、術前後の身体機能や精神状態（うつ、意欲）が改善することが臨床・基礎の両面から示され、長期予後の改善にも寄与することが期待される。本研究成果は、高齢癌術前介入の標準化によるフレイル高齢者に対する手術適応の拡大と予後改善に貢献すると考えられる。

研究成果の概要（英文）：A clinical trial with frail older cancer patients investigating the effect of pre-operative exercise & nutrition intervention on postoperative complication and prognosis suggested that this intervention did not show a clear effect on postoperative complications; however, this intervention maintained physical functions (lower-limb muscle strength, gait speed) and decreased the progression of depression and apathy. A basic study investigating the effect of exercise training on cancer cachexia revealed that low-intensity exercise inhibited cancer cachexia-induced muscle atrophy by improving muscle tissue hypoxia via suppression of capillary regression. Taken together, pre-operative ‘moderate’ exercise and amino-acid supplementation for older cancer patients may contribute improvement of postoperative prognosis through maintaining physical and mental functions.

研究分野：老年医学

キーワード：高齢癌患者 フレイル 術前評価 レジスタンス運動

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

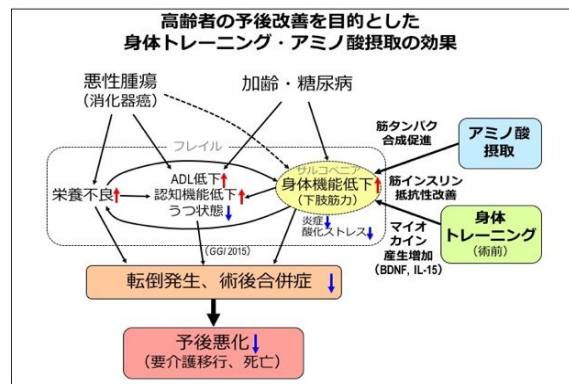
超高齢社会を迎えた本邦では、死亡に直結する心血管病や癌などの発症予防や治療のための先進医療とともに、術後予後改善や要介護移行の防止も重要な課題である。要介護移行を防止する方策としてフレイル、サルコペニアの評価が注目されており、これらに関して地域高齢者を中心に疫学的な検討が全国的に行われ一定の成果が得られつつある。しかしながらフレイルやサルコペニアと判定された患者の予後や術後経過への影響、または介入の効果についての検討はまだ少ない。

我々は当科入院の高齢生活習慣病患者を対象に、高齢者総合機能評価 (CGA) と身体機能検査、フレイル、サルコペニアの評価を行っており、フレイル、サルコペニアの評価が高い転倒予測能を有することを報告するとともに、身体運動教室などでの運動指導の有用性を確認している。大阪大学医学部附属病院消化器外科と共同し、当院高齢消化器癌患者 (当初約 800 例) を対象にした、術前の CGA、身体機能評価の術後合併症または予後推定能の検討を行っており、認知機能検査 (MMSE) とうつスコア (GDS15)、IADL が、従来の術前評価である PS (Performance Status) と独立して術後せん妄を予測すること (Geriatr Gerontol Int 2015)、また膝伸筋筋力も術後せん妄または合併症と関連していることを報告している。以上の検討から、高齢者における CGA または身体機能評価が術後予後予測に有用であることが示されている。

サルコペニアの機序として、筋タンパク合成系の抑制、炎症や酸化ストレス、オートファジー不全等による筋タンパク分解系の亢進、筋サテライト細胞の機能低下等が知られているが、筋収縮により産生されるマイオカインについても、筋量や筋代謝調節への関与が報告されている。筋量増加や抗炎症作用が知られているマイオカイン IL-15 の下腿筋での発現が、骨格筋量低下を示すモデルにおいて野生型に比し低下していることを報告している (日老医誌 50:766-769,2013)。また、マイオカイン BDNF は、中強度以上の運動でその血中濃度が上昇すること、BDNF 血中濃度低値が ICU 患者のせん妄発症と関連することが報告されているが、術後せん妄に対する運動による BDNF を介した有益性については未解明である。

これまでに肺癌や食道癌の周術期からの各種リハビリテーションが術後呼吸器合併症の減少や在院期間の短縮を示した報告はある。一方、動物に癌を発生させ悪液質を誘導させると、タンパク分解誘導因子 (PIF) や炎症性サイトカインの増加を介して筋萎縮が生じることが報告されている。しかし、身体機能がある程度低下した患者に対する身体機能改善を目的とした介入の術後合併症に対する影響を検討した研究、またはカヘキシー状態におけるマイオカインの役割に着目した研究はまだ少ない。サルコペニアに対して最も有効な介入はレジスタンストレーニングとアミノ酸補充の併用であることが示されている。

そこで我々は、身体的フレイル (握力または歩行速度低下) を示す高齢癌患者に対する身体トレーニングとアミノ酸補充が、術後合併症、予後抑制に寄与するかについて、臨床、基礎の両面から明らかにすることを目的とした研究を計画した (右図)。



2. 研究の目的

本研究では、臨床研究と基礎研究を相互補完的に実施する。

臨床研究は、大阪大学医学部附属病院にて消化器癌の外科手術を予定された高齢者に対する身体機能改善を目的とした介入の有無による術後合併症、術後予後への影響を検討する。担癌状態がフレイルに及ぼす影響と身体機能改善を目的とした介入の影響を、マイオカインの関連に着目して検討し、基礎研究との連動を図る。具体的には、消化器癌手術が予定されている高齢者を対象とし、

- (1) 術前からの身体トレーニングとアミノ酸補充が術後合併症または予後改善をもたらすか
- (2) (1) の改善効果にマイオカインが関与しているかについて明らかにする。

基礎研究は、癌細胞接種によるカヘキシー誘導に対し、運動が骨格筋を中心とした全身の表現型とマイオカインに与える影響ならびに、抗炎症マイオカイン IL-15 のカヘキシー抑制効果の有無について遺伝子欠損マウスとの比較で検討し、運動による骨格筋の量・質的变化がマイオカインを介する可能性を検討する。具体的には、マウスを用いた動物実験にて、

- (3) 身体トレーニングとアミノ酸補充が癌カヘキシーを軽減できるか
- (4) マイオカインが癌カヘキシー軽減効果を示すかを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 臨床研究

以下のプロトコルに対して、大阪大学医学部附属病院臨床研究倫理審査委員会の承認を得た後、研究を開始する。

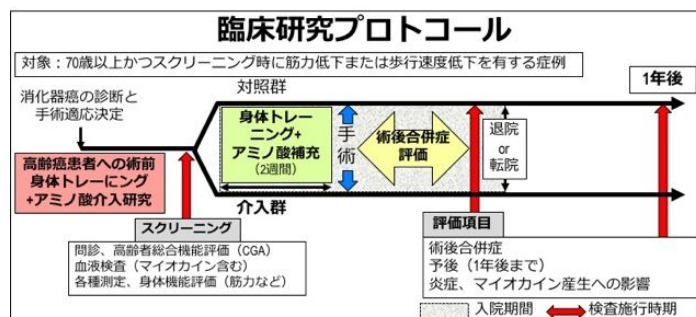
<対象> 大阪大学医学部附属病院受診患者のうち、消化器癌の診断を受け手術適応のある 70

歳以上かつ身体的フレイルを呈する高齢者を対象とした、高齢癌患者への術前身体トレーニング+アミノ酸介入研究を行う。

消化器癌に対する手術必要性が判明後、問診、CGA、血液検査（マイオカインを含む）各種測定、身体機能評価（体組成、握力、下肢筋力、歩行速度、重心動揺検査等）を行う。

身体的フレイル（筋力低下または歩行速度低下、またはその両方）を示す症例について、本臨床研究に関するインフォームドコンセントを取得し、身体トレーニングとアミノ酸補充（ロイシン 40%含有の栄養補助食品）施行群（介入群）と非施行群（対照群）に無作為に2群に分ける。介入群では手術前日までの14日間、身体トレーニング（レジスタンス運動）とアミノ酸補充（1回/日）を行う。

手術前、術後退院前、1年後に前記同様の血液検査と身体機能検査を施行する。術直後から、術後合併症（せん妄、縫合不全、肺炎、肺炎以外の感染性合併症、心血管疾患、出血、腸閉塞、それぞれ出現日と各合併症持続日数を記録）を追跡し、退院までの日数と転帰（自宅退院、転院、院内死亡など）とともに評価する（右図）。

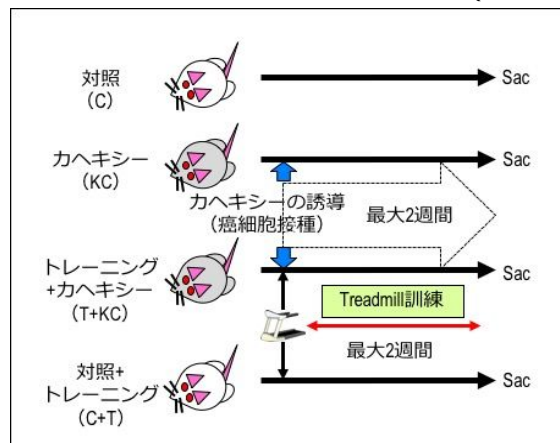


(2)基礎研究

基礎研究では2つの研究を行う。

身体トレーニングによる癌カヘキシー抑制効果の検討

雄性Wistarラット（当初はマウスを使用予定であったが、骨格筋評価を行うため筋肉量が多いラットを使用することに変更）を対照群と運動介入群（当初はアミノ酸補充との併用を計画したが単純化のため運動介入のみに変更）に分け、担癌モデル（吉田腹水肝癌細胞（AH130）移植により誘導）を用いて検討する。対照群（C）、癌細胞接種群（AH）、運動群（Ex）、運動+癌細胞接種群（AH+Ex）の4群で下記の検討を行う。運動プロトコールはトレッドミル訓練（1週間）後、2週間（週5日、10m/secで60分/回）の運動を施行する。約1週間後に握力測定を施行し、翌日に採血、両側下腿筋（前脛骨筋、ヒラメ筋、腓腹筋、大腿四頭筋を採取）、心臓、腎臓、精巣上体脂肪等を採取する。採血検体ではサイトカイン濃度（TNF、IL-15等）の測定を、骨格筋検体では重量測定、組織学的検討（HE染色とラミニン染色による筋組織性状とサイズ、BDNF、IL-15の免疫染色等）、mRNAまたは抽出タンパクを用い筋タンパク分解関連分子（Atrogin1、MuRF1、p70S6K、FoxO1、AMPK、HIF1等）やマイオカイン（IL-6、IL-15等）発現を評価し、運動群と対照群との間で比較検討を行う（右図）。



抗炎症マイオカインの有無による癌カヘキシー抑制効果の検討

筋量増加と抗炎症作用を併せ持つことが知られているマイオカインであるIL-15が、カヘキシー条件下で筋量・筋力低下抑制効果と全身性炎症抑制効果を示すかについて検討する。IL-15遺伝子トランスジェニック（TG）マウス（B6.Cg-Tg(ACTA1-IL15⁺)11650Lsq/J）、IL-15遺伝子ノックアウト（KO）マウス（B6N.Tac-IL15^{tm1TmxN5}）を用いる。

4. 研究成果

(1)臨床研究

方法に示した研究方法を元に、研究計画書、実施計画書、同意説明文書、説明用資料などを作成し、大阪大学倫理審査委員会と数回の協議の末、平成28年11月に大阪大学倫理審査委員会の承認を得ることができた（高齢癌術後予後増悪因子であるフレイルへの術前介入の有用性の検討（ランダム化比較試験）UMIN ID: UMIN000024526）。割付、データ管理は、REDCap（Research Electronic Data Capture）を使用している。本臨床研究は平成29年度から症例エントリーを開始し、現在も継続中である。平成30年度末までの累積症例数は29例であるが、その後の同意撤回や外科手術が介入期間である14日以内に行われるなどにより脱落例が多く、終了・継続している症例は18例である。今後も目標症例数である100例（各群50例）を目指して研究を継続する（倫理審査委員会による承認機関は2021年3月末まで）。

術後退院時まで追跡できている18症例を対象とした中間報告を以下に示す。対象の平均年齢は80.6歳、男性率33.3%、平均BMIは21.4kg/m²。主要評価項目である術後合併症に関しては、術後せん妄を含めて出現頻度に差はみられていないが、副次的評価項目であるCGA項目の変化については、術後退院時とベースラインの比較では、MMSE（認知機能）や手段的ADLについて

は差がないが、GDS (うつ) が介入群で改善傾向、やる気スコアは介入群で有意に改善している (介入群 -4.6 ± 4.6 点 vs 対照群 $+0.5 \pm 3.7$, $p < 0.05$)。

身体組成・身体機能の変化については、介入直後 (2 週間) とベースラインの比較では、介入群で歩行速度が改善する傾向がみられ、術後退院時とベースラインの比較では、下肢筋力が対照群では低下するのに対し介入群では保たれており (介入群 $+1.3 \pm 3.0$ kg vs 対照群 -3.5 ± 2.7 , $p < 0.05$) 歩行速度が改善する傾向がみられるが、握力と体組成 (四肢筋量) については差がみられていない。生化学的検査指標の変化については、いずれも差はみられていない。1 年後予後、血中サイトカイン濃度、ビタミン D 濃度の変化については未検討である。

以上から、中間報告ではあるが、高齢消化器癌患者に対する術前短期間の運動と栄養介入が、術後合併症への影響は明らかでないものの、精神機能や身体機能に対して好影響を及ぼすことが示唆される。

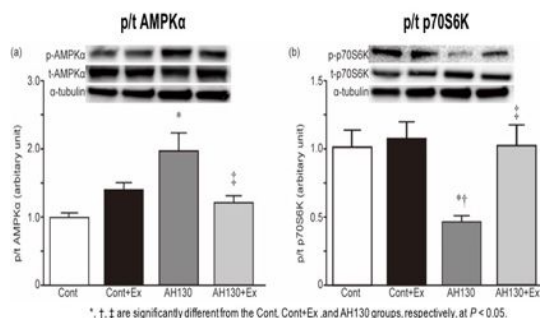
(2) 基礎研究

身体トレーニングによる癌カヘキシー抑制効果の検討

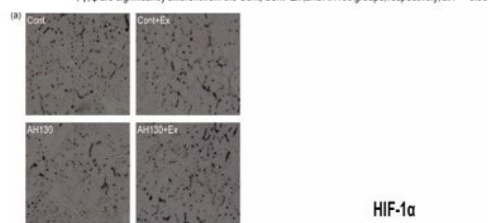
a. 癌誘導と運動を同時に行う研究について、対照群 (C) 癌細胞接種群 (AH) 運動群 (Ex) 運動+癌細胞接種群 (AH+Ex) の 4 群で比較した。癌細胞接種群 (AH, AH+Ex) では血中 TNF 濃度の上昇がみられ、運動群との差はなかった。AH 群でヒラメ筋 (SOL) における Atrogin-1, MuRF-1 発現増加がみられたが、運動同時負荷群 (AH+Ex) ではその発現増加が抑制されていた。FoxO1, P70S6K は AH 群で発現減少がみられたが、AH+Ex 群ではその減少が抑制されていた (右図)。

癌細胞摂取により誘導された TNF 運動により改善しなかったことから、筋微小血管床を評価したところ、AH 群は減少、AH+Ex 群ではその減少が抑制されたため、低酸素応答性の HIF1 を検討したところ、AH 群で増加した HIF1 が AH+Ex 群で抑制され、AMPK のリン酸化も同様の変化を示した (右図)。

以上から、運動によりカヘキシーに伴う筋萎縮が抑制されたメカニズムとして、運動による筋血流低下に伴う低酸素状態の改善に起因するものであり、運動強度は低強度が適正であることが示唆された (中強度運動群では死亡する例が多かったため、筋血流低下が逆に助長される可能性あり)。以上の研究成果は、FASEB Journal 誌に掲載された (発表論文 1)。



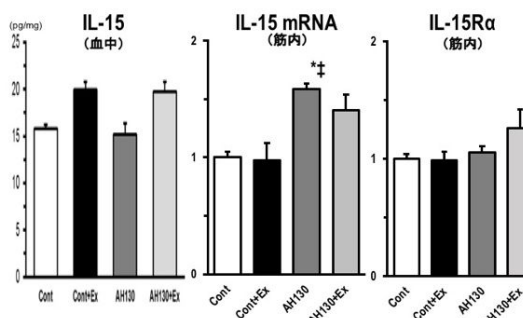
*, †, ‡ are significantly different from the Cont, Cont+Ex, and AH130 groups, respectively, at $P < 0.05$.



*, †, ‡ are significantly different from the Cont, Cont+Ex, and AH130 groups, respectively, at $P < 0.05$.

b. 運動を先に行い、後から癌誘導を行う研究 (当初の計画) については、研究 1) と同様に 4 群に分けた実験は終了しており、現在までに癌誘導による筋萎縮が先行する運動により部分的に抑制される結果を得ている。分子メカニズム解析は現在施行中であるが、成果は 1) と別の論文により発表予定である。

一方、IL-15 は運動により血中濃度は増加するものの、筋での IL-15 発現は AH 群で増加し、AH+Ex 群で低下傾向にあることから、カヘキシー下では筋内に留まりマイオカイン作用が減弱するが運動によりその減弱が抑制する可能性が考えられた (右図)。



* and ‡ are significantly different from the Cont and AH130 groups, respectively, at $P < 0.05$.

抗炎症マイオカインの有無による癌カヘキシー抑制効果の検討

IL-15 トランスジェニックマウス (IL-15TG) を用いた研究は、同時期に行った、IL-15TG の表現型を検討し、IL-15TG が野生型 (B6J) と比較し、耐糖能が良く、その基盤に AMPK 経路が関与していることを示した研究 (発表論文 3) にほぼその大半を使用したこと、IL-15 ノックアウトマウスについては野生型 (B6N) が異なるため比較できないことが判明し、バッククロス法による野生型の統一を行う作業に時間を要したことにより、現在まだ施行できていない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計3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. 査読有. 2019, doi: 10.1096/fj.201802430R
- 2) Isaka M, Sugimoto K, Yasunobe Y, Akasaka H, Fujimoto T, Kurinami H, Takeya Y, Yamamoto K, Rakugi H. The Usefulness of an Alternative Diagnostic Method for Sarcopenia Using Thickness and Echo Intensity of Lower Leg Muscles in Older Males. J Am Med Dir Assoc. 査読有. 2019, doi: 10.1016/j.jamda.2019.01.152
- 3) 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. 査読有. 2019, 509(4):994-1000.

〔学会発表〕(計7件)

- 1) 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, 樂木宏実. 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, 京都, 2018年12月
- 2) 藤本拓, 杉本研, 高橋利匡, 栗波仁美, 赤坂憲, 樂木宏実. マイオカイン IL-15 は骨格筋においてPI3-Akt経路とAMPK経路を介して糖取り込みを亢進させる. 第29回日本老年医学会, 大阪, 2018年11月
- 3) Masaaki Isaka, Ken Sugimoto, Yukiko Yasunobe, Minoru Tanaka, Taku Fujimoto, Hiroshi Akasaka, Koichi Yamamoto, Hitomi Kurinami, Yasushi Takeya, Hiromi Rakugi. Usefulness of the new index using thickness and echo intensity in a diagnosis of sarcopenia of lower leg muscles. 4th Asian Conference for Frailty and Sarcopenia, 大連, 中国, 2018年10月
- 4) 田中稔, 藤本拓, 謝可宇, 栗波仁美, 赤坂憲, 藤野英己, 杉本研. 癌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, 福井, 2018年9月
- 5) 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, 札幌, 2018年6月
- 6) 杉本研, 樂木宏実. サルコペニア・フレイルの外科術前評価としての有用性や介入への応用. 第回日本老年医学会学術集会, 名古屋, 2018年6月
- 7) 藤本拓, 高橋利匡, 安延由紀子, 謝可宇, 田中稔, 栗波仁美, 赤坂憲, 杉本研, 樂木宏実. マイオカイン IL-15 は骨格筋においてPI3-Akt伝達系を通じてグルコース取り込みを亢進させる. 第22回日本心血管内分泌代謝学会, 宮崎, 2018年4月

〔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：杉本 研

ローマ字氏名：SUGIMOTO, Ken

所属研究機関名：大阪大学

部局名：大学院医学系研究科

職名：講師

研究者番号(8桁)：20252679

研究分担者氏名：山崎 誠

ローマ字氏名：YAMASAKI, Makoto

所属研究機関名：大阪大学

部局名：大学院医学系研究科

職名：准教授

研究者番号(8桁)：50444518

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

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。