

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：37116

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K01884

研究課題名(和文) 運動療法を導入する新規がん治療法の開発に向けたがん悪液質性心不全の分子機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of mechanisms of cancer cachexia-induced heart failure: Toward the development of novel cancer treatment combined with exercise therapy

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) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：がんの進行に伴う全身性の機能低下、特にがん悪液質によって起こる心機能障害の改善は、がんと就労の両立ならびに患者のQOLや治療予後の向上において重要な課題であり、その対策は急務である。本研究では、がん悪液質モデルマウスにおける心機能を評価するとともに、回転かごを用いた自発運動の効果について検討した。

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では悪液質症状の進展とともに心機能は低下していた。しかし回転かごを設置することで自発運動を誘発させたところ、がん悪液質症状のみならず心機能障害が改善した。がん悪液質が誘発する心機能障害に対して運動療法が治療効果を発揮する可能性が示唆された

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年増加しているがんサバイバーとともに、就労を続けながらがん治療を行う労働者にとって、がんと心機能の関係はより身近で重大な問題である。これまでがん患者に対して、運動負荷が悪液質における筋力低下の改善効果ばかりでなく抗炎症効果、代謝異常改善効果を発揮することは報告されているものの、心機能に対する効果について定量的に評価したものは少ない。本研究結果はヒト由来によって誘発されたがん悪液質とこれに伴う心機能障害に対し運動負荷が治療的な効果を発揮することを示唆したものであり、がん患者の就労とがん治療の両立を目指すための、運動療法を導入した新規治療法のプロトコル確立に寄与できることが期待される。

研究成果の概要(英文)：It is an important issue to improve generalized functional disorder associated with cancer progression, especially cardiac dysfunction caused by cancer cachexia, in balancing cancer and employment as well as improvement of patient's QOL and treatment prognosis. In this study, we evaluated the cardiac function in cancer cachexia model mice and examined the effects of voluntary exercise using running wheels. In cachexia model mice transplanted with the human gastric cancer cell line 85As2 cells, reduced cardiac function was observed with the development of cachexia. However, installation of a running wheel into each mouse cage to induce voluntary exercise improved not only cancer cachexia symptoms but also decreased cardiac function. These results suggest that exercise therapy may exert therapeutic effects on cardiac dysfunction induced by cardiac cachexia.

研究分野：神経毒性学

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

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (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。実際、厚生労働省がん臨床研究事業において実施された「治療と就労の両立に関するアンケート調査」によると、がん診断後の就労について困ったことの中に『通勤・仕事上の副作用や後遺症の問題』が上がっている。抗がん剤の副作用や後遺症によっては、労働者の就労とがん治療が両立できない、といった産業保健上の大きな問題点をはらむこととなり、雇用主にとって貴重な人材を確保するという点からもがん患者の治療における副作用ならびに後遺症の軽減は急務である。

抗がん剤や最近使用されている分子標的薬の中にはその副作用として心毒性を生じるものが知られており、こういった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。また近年、進行がん患者の約80%に出現し、またがん死因の約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)。

こうした背景から、がんサバイバーのフォローアップも含めた循環器系動態の把握ならびにがん治療の有効性の促進化の点より、腫瘍循環器学 Cardio-oncology/Onco-cardiology という学際領域が確立し、臨床現場でもその取り組みが開始されている。悪液質とは、食欲不振、体重減少、脂肪・筋肉組織の消耗、全身衰弱、倦怠感を特徴とする進行性消耗状態である。経済的な観点から就労を継続したい労働者にとっては、治療中に悪液質を生じることはQOL低下ならびに抗がん剤治療抵抗性を招き、就労の継続ばかりでなく生命予後にも影響するため、その改善や予防対策は喫緊の課題である。しかしながら、これまで心臓腫瘍学的な観点からの悪液質に関する病態生理の解明や治療薬・予防法の開発に適したモデルは確立されていなかった。

最近、ヒト胃がん細胞株85As2のラットまたはマウスへの皮下移植により、摂食量低下、体重減少、筋肉量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)。また別のがんモデル動物では心筋障害が惹起されることがすでに報告されていたこともあり(文献6,7)、85As2誘発がん悪液質モデルマウスは腫瘍循環器学的な観点からのがん悪液質モデルとしても有用であると考えて、その心機能評価と分子機序の解明に着手し始めたところである。

さらに最近では慢性心不全の治療の一つとして運動療法が取り上げられ、心血管系機能の改善、副交感神経系の活性化などを介した効果が報告されている。興味深いことに、がん悪液質においても運動療法によりがんの再発防止に加えて入院や投薬コストの軽減などが報告されている(文献8,9)。運動療法はその種類や強度によっては就労しながら家庭や職場でも継続できる可能性があり、がん治療時の適正な運動療法プロトコルを確立できれば、職場での就労の支援に結びつけることが期待できると考え、本研究課題の着想に至った。

2. 研究の目的

本研究課題はがん悪液質モデル動物を用いてその心機能評価、ならびにこれに対する運動負荷の影響について詳細に検討し、心機能改善を目指したがん悪液質出現時に対する運動療法の最適プロトコル開発のための基盤データを蓄積することを目的としている。

3. 研究の方法

(1) がん悪液質モデルマウスの作製

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(1×10^6 cells/site \times 2 sites)、85As2誘発がん悪液質モデルマウスを作製した。がん悪液質症状の評価として、腫瘍容積とともに体重、累積摂食量、骨格筋重量(大胸筋、腓腹筋、ヒラメ筋、脛骨筋、足底筋、長趾伸筋)、脂肪重量(精巣上体周囲)を測定した。腓腹筋については摘出標本の病理組織学的検討も行った。

(2) がん悪液質モデルマウスにおける心機能評価

マウスの心重量の測定、ならびに心エコー検査により心機能を評価した。心筋についても病理組織学的検討を行うとともに心筋に発現する遺伝子群についてDNAマイクロアレイによる網羅的解析を行った。

(3) がん悪液質症状に対する自発運動の効果

85As2細胞を移植して2週目より回し車を飼育ケージに設置して、マウスが自由に回し車にアクセスできるような環境下で飼育することにより自発運動を誘導して、がん悪液質症状ならびに心機能に対する運動の効果をもとに検討した。

4. 研究成果

(1) 85As2誘発がん悪液質モデルマウスにおける悪液質症状ならびに心機能の評価

85As2移植群では悪液質の指標である体重および食餌摂取量の減少は移植後2週目から8週目にかけて腫瘍容積の増加とともに出現した(図1)。

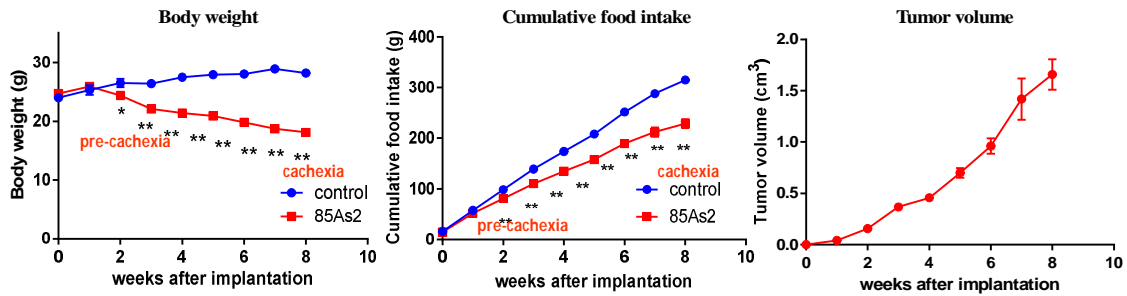


図1 対照群ならびに85As2移植群における体重(左)、累積摂餌量(中)、腫瘍容積(右)の推移
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. age matched control (unpaired t-test).

この結果から体重ならびに摂餌量の低下が始まる移植後2週目を pre-cachexia stage、移植後8週目を cachexia stage と定義することにした。

骨格筋重量については対照群と比較して長趾伸筋を除き pre-cachexia stage より有意に減少した。脂肪量については pre-cachexia stage では有意差はないものの減少傾向が認められ、cachexia stage で著明な減少を認めた(表1)。

表1 対照群ならびに85As2移植群における心重量、肺重量、骨格筋重量、脂肪重量

	baseline	Pre-cachexia (2 wks after implantation)		Cachexia (8 wks after implantation)	
		control	cachexia	control	cachexia
No. of mice	6	9	14	9	12
Heart and lung weight					
HW, mg	130 ± 3	150 ± 5	131 ± 3**	172 ± 6	124 ± 3**
LW, mg	144 ± 4	143 ± 7	140 ± 3	154 ± 2	145 ± 5
HW/TL, mg/mm	5.99 ± 0.10	7.21 ± 0.28	6.42 ± 0.19*	7.86 ± 0.21	5.96 ± 0.16**
LW/TL, mg/mm	6.66 ± 0.16	6.91 ± 0.40	6.85 ± 0.21	7.02 ± 0.13	6.96 ± 0.22
Muscle weight					
Greater pectoral (right), mg	96 ± 4	116 ± 3	99 ± 4**	138 ± 75	75 ± 3**
Gastrocnemius, mg	104 ± 2	117 ± 3	106 ± 3*	133 ± 3	79 ± 3**
Soleus, mg	5.86 ± 0.15	6.20 ± 0.24	5.45 ± 0.18*	6.96 ± 0.20	5.23 ± 0.12**
Tibialis, mg	40 ± 1	43 ± 1	39 ± 1*	50 ± 1	32 ± 1**
Plantaris, mg	12.7 ± 0.34	14.2 ± 0.28	12.4 ± 0.40**	16.6 ± 0.33	10.1 ± 0.29**
Extensor digitorum longus, mg	8.99 ± 0.12	9.87 ± 0.38	8.96 ± 0.27	11.63 ± 0.25	7.42 ± 0.21**
Fat weight					
Epididymis, mg	225 ± 21	217 ± 27	186 ± 30	160 ± 12	34 ± 5**

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. age matched control (unpaired t-test)

HR, heart rate; IVST, interventricular septal wall thickness; LV, left ventricular; LVd, LV end-diastolic dimension; LVds, LV end-systolic dimension; LVPW, d, LV end-diastolic posterior wall thickness; LVPW, s, LV end-systolic posterior wall thickness; FS, fractional shortening; EF, ejection fraction.

心機能についてはまず心臓重量において、骨格筋重量と同様に pre-cachexia stage、cachexia stage のいずれにおいても有意に減少していた。また超音波検査による心機能評価では、pre-cachexia stage から左室駆出率の有意な減少を認め、cachexia stage では50%以下にまで減少した(表2)。心重量の減少から心筋萎縮が生じていることが考えられたため、心筋組織標本作製して検討した。移植前ならびに対照群では組織学的変化が観察されなかったが、cachexia stage では心不全状態の心筋で観察されるような線維化ではなく細胞が融解しているような変性所見が観察された(図2)。

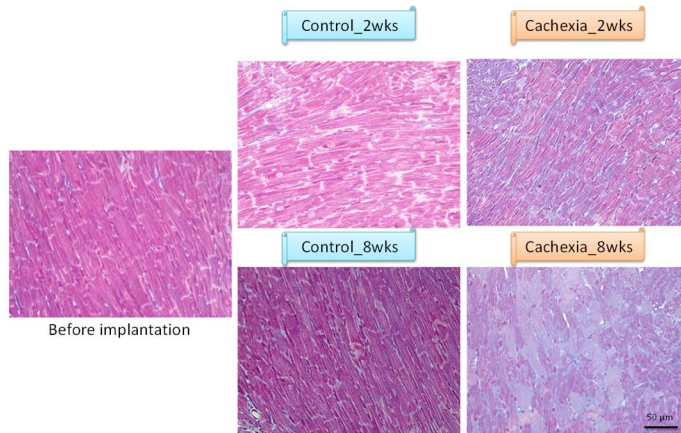
そこで移植前、pre-cachexia stage、および cachexia stage の摘出心筋を用いてマイクロアレイ解析による発現変動遺伝子群を検討した。その結果、pre-cachexia stage から cachexia stage に進行するにつれて発現量が増加した遺伝子群は224遺伝子、発現量が減少した遺伝子群は305遺伝子であった。さらにこれら変動遺伝子群に対してKEGGパスウェイでのエンリッチメント解析を行ったところ、最上位パスウェイとして発現増加遺伝子群からは Neuroactive ligand-receptor interaction パスウェイが、発現減少遺伝子群からは ECM-receptor interaction パスウェイが抽出された。今後、それぞれの遺伝子群から標的遺伝子候補を選択して、さらに詳細な解析を行う予定である。

表2 超音波検査による対照群ならびに 85As2 移植群における心機能評価

	Baseline		Pre-cachexia (2 wks after implantation)		Cachexia (8 wks after implantation)	
	control	85As2	control	85As2	control	85As2
No. of mice	11	12	11	12	11	12
BW, g	24 ± 1	25 ± 0.3	26 ± 1	24 ± 1	28 ± 1	19 ± 1**
HR, bpm	430 ± 11	443 ± 13	468 ± 10	418 ± 13**	483 ± 8	418 ± 15**
IVST, d, mm	0.90 ± 0.02	0.91 ± 0.02	0.91 ± 0.03	0.87 ± 0.03	0.91 ± 0.02	0.74 ± 0.03**
LVDd, mm	3.75 ± 0.06	3.83 ± 0.08	3.89 ± 0.09	4.07 ± 0.10	4.19 ± 0.04	4.09 ± 0.08
LVDs, mm	2.51 ± 0.05	2.55 ± 0.06	2.52 ± 0.06	2.93 ± 0.09**	2.72 ± 0.03	3.08 ± 0.07**
LVPW, d, mm	0.95 ± 0.03	0.95 ± 0.02	0.98 ± 0.02	0.90 ± 0.03*	0.98 ± 0.03	0.77 ± 0.02**
LVPW, s, mm	1.06 ± 0.02	1.07 ± 0.05	1.08 ± 0.04	1.01 ± 0.03	1.20 ± 0.04	0.91 ± 0.03**
FS, %	33 ± 0.5	33 ± 1	35 ± 1	28 ± 1**	35 ± 0.5	24 ± 1**
EF, %	62 ± 1	63 ± 1	65 ± 1	55 ± 1**	65 ± 1	49 ± 1**

*p < 0.05, **p < 0.01 vs. age matched control (unpaired t-test). HW, heart weight; LW, lung weight; TL, tibia length.

図2 がん悪液質の進展に伴う心筋組織の変化



一方、骨格筋については cachexia stage において、組織標本から筋束断面面積の有意な減少、ならびに悪液質やサルコペニアで発現が増加することが知られているユビキチンリガーゼの Atrogin-1 と MuRF1 の有意な増加が認められた (図3)。

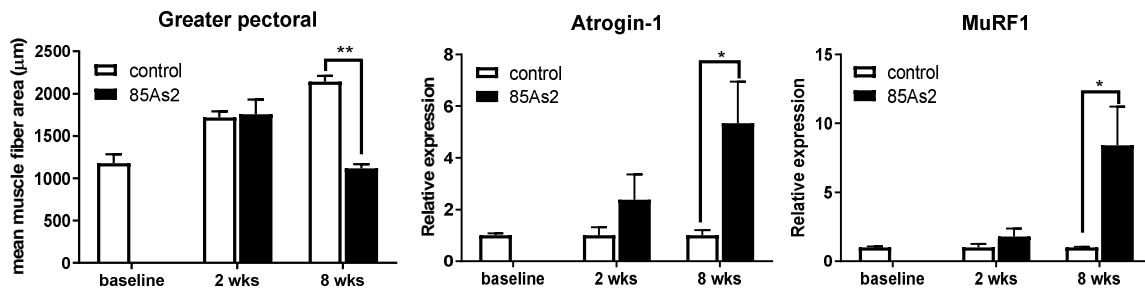


図3 対照群ならびに 85As2 移植群における骨格筋の筋束断面面積(左)、ならびに Atrogin-1(中)および MuRF1(右)遺伝子発現量

*p < 0.05, **p < 0.01 vs. age matched control (unpaired t-test)

(2) がん悪液質症状ならびに心機能に対する自発運動の効果

前述したように、移植後2週目すなわち pre-cachexia stage より回転かごによる自発運動が可能な環境下で飼育し、移植後6週目までの期間でその効果を検討した。悪液質/非運動群で観察された悪液質症状である体重および食餌摂取量の減少は、悪液質/自発運動群では有意に抑制されていた。興味あることに、腫瘍容積の増大も悪液質/自発運動群では有意に抑制されていた (図4)。

骨格筋重量および脂肪重量については悪液質/非運動群に比べ、悪液質/自発運動群において有意な増加あるいは増加傾向を認めた (表3)。

心機能については、まず心重量が骨格筋重量と同様、悪液質/非運動群に比べて悪液質/自発運動群で有意に増加していた (表3)。超音波検査による左室駆出率の評価でも、悪液質/非運動群に比べて悪液質/自発運動群での駆出率が有意に改善していた (図5)。また悪液質マウスの心筋

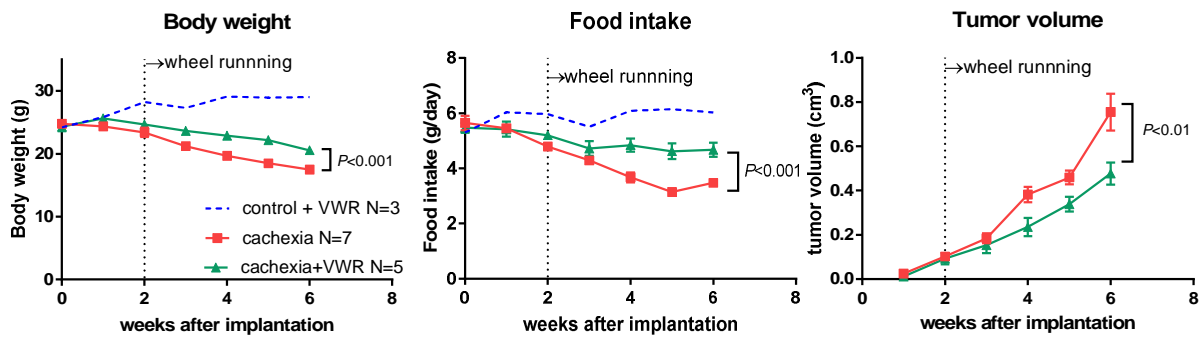


図4 85As2 移植群における体重(左)、累積摂餌量(中)、腫瘍容積(右)の推移とこれに対する自発運動の効果 VWR; voluntary wheel running, $p < 0.01$ or $p < 0.001$, using two-way ANOVA

組織標本において観察された心筋変性については、自発運動群で変性部位が出現する割合が減少している傾向が認められており、さらに詳細な検討を行っている。

以上よりヒト胃癌細胞株 85As2 を移植したマウスではヒトの患者と類似したがん悪液質症状、すなわち腫瘍の増大とともに体重減少、摂餌量減少、骨格筋重量の減少を呈することが判明した。さらにこのマウスでは心重量の減少に伴う左室駆出率の低下といった心機能障害も出現したことから、85As2 移植マウスが心機能障害を伴うがん悪液質モデルマウスとして有用であることが示唆された。

さらに回転かごを用いた自発的な運動は、悪液質症状の進行ばかりでなく心機能障害の進行に対しても抑制する効果を発揮することが判明したことから、運動負荷ががん悪液質による心機能障害に対する治療法の一つになる可能性が示唆された。

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. Sasso JP, et al. J Cachexia Sarcopenia Muscle. 6: 115-124, 2015.
9. Lira SF, et al. Curr Opin Support Palliat Care. 9: 317-324, 2016

表3 85As2 移植群における心重量、肺重量、骨格筋重量、脂肪重量に対する自発運動の効果

	cachexia	cachexia + VWR
No. of mice	7	5
Heart and lung weight		
HW, mg	114 ± 3	138 ± 9*
LW, mg	135 ± 4	148 ± 4*
HW/TL, mg/mm	5.3 ± 0.11	6.4 ± 0.44*
LW/TL, mg/mm	6.3 ± 0.10	6.9 ± 0.23*
Muscle weight		
Greater pectoral (right), mg	58 ± 3	75 ± 3**
Gastrocnemius, mg	67 ± 2	79 ± 3*
Soleus, mg	4.1 ± 0.34	4.7 ± 0.37
Tibialis, mg	27 ± 1	29 ± 1
Plantaris, mg	8.1 ± 0.46	10 ± 1*
Extensor digitorum longus, mg	6.0 ± 0.42	7.0 ± 0.44
Fat weight		
Epididymis, mg	11 ± 2	20 ± 2*

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. cachexia (unpaired t-test)

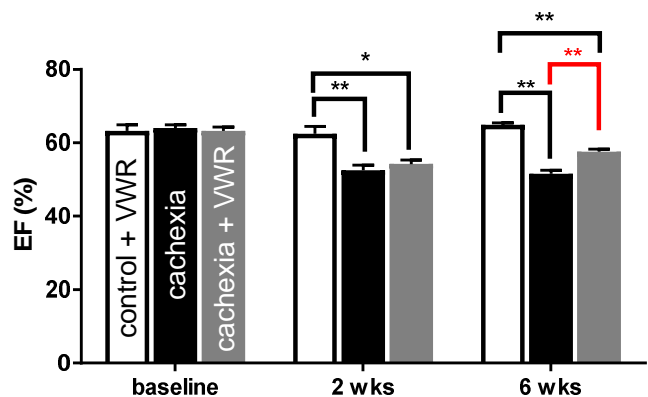


図5 85As2 移植群における左室駆出率に対する自発運動の効果

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. cachexia (one-way ANOVA followed by the post hoc Tukey's multiple comparison test).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Nonaka Miki, Ueno Susumu, Uezono Yasuhito	4. 巻 155
2. 論文標題 Cardio-oncology - elucidation of the mechanism of cardiac dysfunction caused by cancer therapy and cancer cachexia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Folia Pharmacologica Japonica	6. 最初と最後の頁 165 ~ 170
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1254/fpj.19123	査読の有無 有
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13件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 野中美希, 上野晋, 上園保仁
2. 発表標題 がん患者に起こる心機能障害発現メカニズムの解明：腫瘍循環器学の観点から
3. 学会等名 第46回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野中美希, 上野晋, 柿木亮, 呉林なごみ, 村山尚, 櫻井隆, 上園保仁
2. 発表標題 がん悪液質による心機能障害は自発運動により改善される
3. 学会等名 第2回日本腫瘍循環器学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上野晋, 野中美希, 後藤元秀, 上園保仁
2. 発表標題 がん患者の機能障害に対する職場での運動療法の確立を目指したがん悪液質モデルマウスに対する運動負荷の効果
3. 学会等名 第37回産業医科大学学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nonaka M, Ueno S, Kakigi R, Kurebayashi N, Murayama T, Terawaki K, Sakurai T, Uezono Y. Nonaka M, Ueno S, Kakigi R, Kurebayashi N, Murayama T, Terawaki K, Sakurai T, Uezono Y.
2. 発表標題 Possibility of exercise therapy as a new treatment for cancer patients with cardiac dysfunction by cachexia.
3. 学会等名 第50回生理研国際シンポジウム'MIRACLES' in Cardiovascular Physiology~Metabolism, Interactions, Regulation, Application, Chemical Biology, Longevity, Exercise and Signaling~ . (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野中美希, 上野晋, 柿木亮, 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 自発運動はヒト胃がん細胞株85As2誘発性がん悪液質に関連する心機能障害を改善する
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野中美希, 上野晋, 柿木亮, 呉林なごみ, 村山尚, 櫻井隆, 上園保仁
2. 発表標題 がん悪液質による心機能障害は自発運動により改善される
3. 学会等名 第2回日本腫瘍循環器学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野中美希, 大島佳織, 寺脇潔, 宮野加奈子, 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
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ueno S, Nonaka M, Kakigi R, Kurebayashi N, Murayama T, Terawaki K, Sakurai T, Uezono Y.
2. 発表標題 Therapeutic effects of voluntary wheel running on cardiac dysfunction induced by cancer cachexia
3. 学会等名 The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野中美希, 柿木亮, 呉林なごみ, 村山尚, 寺脇潔, 櫻井隆, 上園保仁, 上野晋
2. 発表標題 ヒト胃がん細胞株85As2によって起こるがん悪液質における心機能障害との関連
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野中美希, 柿木亮, 呉林なごみ, 村山尚, 寺脇潔, 櫻井隆, 上園保仁, 上野晋
2. 発表標題 がん悪液質誘発性心機能障害に対する自発的運動の効果
3. 学会等名 第71回日本薬理学会西南部会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上野晋, 野中美希, 柿木亮, 宇津美秋, 呉林なごみ, 村山尚, 寺脇潔, 櫻井隆, 上園保仁
2. 発表標題 がん誘発性悪液質モデルマウスにおいて回転かごによる自発走運動は心機能障害を改善する
3. 学会等名 第92回日本薬理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野中美希, 上園保仁
2. 発表標題 腫瘍循環器学 - がん治療ならびにがん悪液質によって起こる心機能障害発現メカニズムの解明 -
3. 学会等名 第92回日本薬理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野中美希, 柿木亮, 呉林なごみ, 村山尚, 寺脇潔, 櫻井隆, 上園保仁, 上野晋
2. 発表標題 がん悪液質性心不全に対する回転かご自発走行運動がもたらす治療効果
3. 学会等名 第95回日本生理学会大会
4. 発表年 2018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)	国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・特任研究員 (82606)	