

令和 5 年 6 月 18 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09042

研究課題名（和文）CD36発現解析による新規膵癌運動介入療法の開発

研究課題名（英文）Development of Novel Pancreatic Cancer Exercise Intervention Therapy by CD36 Expression Analysis

研究代表者

赤堀 宇広（Akahori, Takahiro）

奈良県立医科大学・医学部・学内講師

研究者番号：10423922

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、臨床的には有効性が証明されている癌治療中の運動療法に関して、脂肪酸の細胞内取り込みに中心的役割を果たす脂肪酸トランスポーターで、最近様々な癌種の転移・増殖に関わることが解明されつつあるCD36に着目し、CD36の運動負荷に際しての変化が癌細胞に与える影響、および癌宿主に与える影響を評価することにより、運動負荷が癌治療に与える影響の理論的背景を解明するとともに、より有効な運動負荷を構築すること目標としたものである。現在実験は進行中であるが、実験マウス（特に、ストレプトゾシン誘発糖尿病マウス）におけるCD36の発現の安定性を得ることが困難であり、運動負荷の実験までは至っていない。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、集学的治療完遂や直接の予後向上を目指し様々なプロトコルで栄養や運動介入が試みられているが、運動介入によって筋力が増強・維持され、栄養療法で栄養指標が上昇しても、そのことが治療耐性や予後にいかにつながるのは、明らかにされていない。今回着目した脂肪酸トランスポーターであるCD36は、筋肉・血管内皮・悪性腫瘍など脂肪酸を必要とする細胞に広く分布し、運動介入で発現が変化することが知られており、さらには、悪性腫瘍細胞上にもCD36が発現していることが報告されているため、介入の効果をCD36の発現変化から紐解くことができる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：This study focused on CD36, a fatty acid transporter that plays a central role in the cellular uptake of fatty acids and has recently been shown to be involved in the metastasis and proliferation of various cancer types. The goal of this study is to clarify the theoretical background of the effects of exercise on cancer therapy and to establish a more effective exercise load by evaluating the effects of changes in CD36 on cancer cells and cancer host.

However, it is difficult to obtain the stability of CD36 expression in experimental mice (especially, streptozocin-induced diabetic mice), and we have not yet conducted the experiment of exercise load.

研究分野：外科学一般

キーワード：膵癌 CD36 運動療法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、進行度に関わらず膵癌治療中に、運動療法が取り入れられる傾向にあるが、身体機能の保持・改善が本当に治療の継続・維持に寄与するのか、さらには、身体活動による代謝の変化が腫瘍細胞の増殖や宿主免疫機構などに影響を及ぼすのかなど未だ十分に解明されているとは言えない。

2. 研究の目的

脂肪酸の細胞内取り込みに中心的役割を果たす脂肪酸トランスポーターで、最近様々な癌種の転移・増殖に関わることが解明されつつある CD36 に着目し、(1) 運動負荷が担癌マウスに及ぼす影響の検討、(2) CD36 発現の変化が腫瘍転移機構、腫瘍増殖に与える影響の検討、(3) 宿主免疫機構へ与える影響の解明、(4) 膵癌術前治療施行患者に対する運動介入の有効性を検証する臨床試験を行う。これらの結果により、膵癌治療を腫瘍細胞に対する直接の治療という観点からではなく、その宿主に対する運動介入による支持的治療という側面から再構成し、新たな膵癌治療戦略を構築することを目標とする。

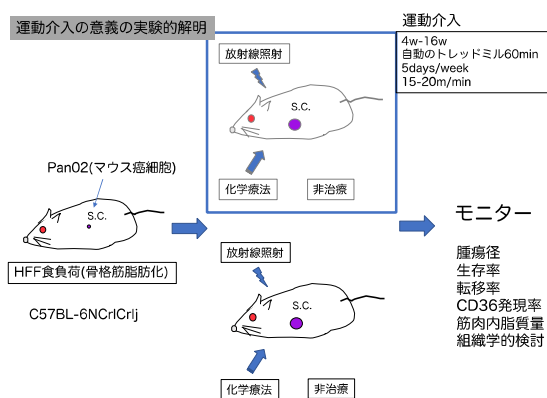
3. 研究の方法

初年度はマウスモデルの作成選定及び担癌状態、治療負荷モデルにおける CD36 発現の臨床的意義の解析を行う。

(1) マウスモデルの選定: C57BL-6 mice に high fat, high-fructose water (HFF)食(60% fat, 20% protein, 70% carbohydrate)を与え、骨格筋、肝臓、心筋における CD36 発現を Real-time PCR 法を用いて定量する。同様に、ストレプトゾシン誘発糖尿病マウス(C57BL-6NCrCrlj) においても HFF 食を投与し、より代謝異常の強いモデルも作成し、骨格筋異所性脂肪を持つ膵癌患者に類似したマウスモデルを選定する。

(2) 野生型腫瘍モデルの作成と治療モデルの検討: 選定したマウスモデルの皮下および腹腔内に Pan02(マウス膵癌株)細胞(1×10^6 個)を注入し、皮下腫瘍および腹膜播種モデルを作成する。同モデルを用いて、担癌状態における CD36 の発現と骨格筋脂肪化、腫瘍進行(腫瘍径別、腹腔内注入後の期間別)ごとに採取した腫瘍組織の CD36 の発現を PCR で測定する。次に、非治療群、放射線治療群、抗がん剤(ゲムシタピン)治療群放射線化学療法群の 4 群に分け、それぞれ、腫瘍径、生存率、転移率と CD36(腫瘍、骨格筋)の発現率との相関、インスリン抵抗性(HOMA-IR)、炎症性サイトカイン(IL-6・IL-8・IL-12・TNF)、各種アディポサイトカイン(レプチン・アディポネクチン・PAI-1)と CD36 の相関、組織(骨格筋)の脂質量との相関を検討する。以上から、担癌状態における CD36 の発現状況を確認した上で、化学療法、放射線治療介入時の CD36 の変化と骨格筋脂肪化増悪のメカニズムの解明を行う。

(3) 運動介入が担癌マウスに与える影響の検討: 2020 年度に使用したモデルマウスに腹膜播種、皮下腫瘍モデルを用い、運動介入群と対照群に分け検討を行う。運動介入は 4w-16w の間に、自動走行のトレッドミル 60 分間/5days/week とし、走行スピードは 15-20m/min とする。介入群において腫瘍細胞、



骨格筋細胞上の CD36 が低下し、骨格筋脂肪量の減少、抗がん剤使用による体重低下などの有害事象の軽減、生存率の向上がおこるのではないかとこの仮説のもととしている。腫瘍組織、心筋、骨格筋における CD36 発現程度と脂質量を計測するとともに、前年度の検討に使用したモニター項目(生存率、腹膜転移個数など)、採血項目(インスリン抵抗性、炎症性サイトカイン、各種アディポサイトカインなど)を計測すると同時に、介入群、対照群間の CD36 発現の差および予後、転移個数の相関を計測する。同検討により運動介入の臨床病理学的意義の解明を実験的に行うことができる。

(4) 運動介入が担癌マウスの免疫機構与える影響の検討: CD36 がマクロファージにも発現していることから、運動介入マウスにおける腫瘍局所環境を検討する。脂肪組織(内臓、皮下、腫瘍周囲)や腫瘍を採取し、腫瘍微小環境内に浸潤する細胞(Foxp3+制御性 T 細胞、制御性 B 細胞、炎症性 M (M1)、抗炎症性 M (M2)) FACS 解析し、CD36 の発現状況を合わせ、対照群と比較検討し、運動負荷が宿主腫瘍免疫に与える影響を検討する。

(5) 膵癌術前治療患者を対象とした運動介入の無作為化比較第 II 相試験: 膵癌術前治療患者に 個人カウンセリング 日常の運動プログラム(週 5 日間の 1 日 30 分の歩行) 強化運動プログラム(週 2 日の通院によるエルゴメータによる心肺機能強化プログラム)を 3 つ柱にした介入プロトコルを策定。2 ヶ月間の術前化学放射線治療(Gemcitabine 1000mg/m²,放射線 54Gy)を行い、主要評価項目は、術後補助療法完遂率とする。同試験により、患者脆弱性に対する術前運動介入の有効性について一定

の見解が得られるものと考えられる。

4. 研究成果

C57BL-6 mice に high fat, high-fructose water (HFF)食(60% fat, 20% protein, 70% carbohydrate)を与え、骨格筋、肝臓、心筋における CD36 発現を Real-time PCR 法を用いて定量を行なったが、実験で扱える十分な CD36 の発現を得ることが困難であり、また、低量での発現でも安定すれば実験可能と考えられたが、手技的な問題なのか特に骨格筋における発現が不安定であり、もともと想定していた担癌マウスの作成、その上で担癌マウスの運動負荷への実験の移行し、CD36 発現の変化確認するなどの想定していた実験の施行が困難な状況となっている。

現在、当教室はもとより国内外の研究協力者と相談しながら、負荷する食餌をの調節や、マウスを変更など、条件を変えながら、実験を継続しているところである。また、より代謝異常の強いモデル(骨格筋異所性脂肪を持つ膵癌患者に類似したマウスモデル)を想定したストレプトゾシン誘発糖尿病マウス(C57BL-6NCrlCrlj)においても同様に CD36 の発現を検討しているが、C57BL-6 mice の実験と同様に実験に用いることができる程度の安定した CD36 発現を得られていないため、想定した実験の進行を得られていない。

なお、マクロファージに発現している CD36 発現の定性、定量は行なっているが、運動負荷と免疫の関連を検討するのが本研究の目的であり、前段の研究が進むことがなければ、十分な研究結果を得ることは困難である。

膵癌術前治療患者に 個人カウンセリング 日常の運動プログラム(週 5 日間の 1 日 30 分の歩行) 強化運動プログラム(週 2 日の通院によるエルゴメータによる心肺機能強化プログラム)を 3 つ柱にし、2 ヶ月間の術前化学放射線治療(Gemcitabine 1000mg/m²,放射線 54Gy)を行い、主要評価項目は、術後補助療法完遂率とする。臨床試験のプロトコール作成中である。前段の CD36 など理論的背景がない状況であるが、そもそも膵癌の術前治療中の運動介入の例は少なく、臨床的な意義は大きいものと思われるため、最終的に本研究の主たる目的である、運動介入に介入する理論的背景の構築というものの解明は困難であるもの、本臨床試験の結果は、最終的には術前運動介入の有効性についての一定の見解を得ることができるものと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	高木 忠隆 (Takagi Tadataka) (20833700)	奈良県立医科大学・医学部附属病院・研究員 (24601)	

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