

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 6 日現在

機関番号：24302

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011 ～ 2012

課題番号：23700776

研究課題名（和文） 新規マイオカイン Sparc の大腸がん予防作用に関する検討

研究課題名（英文） Investigation on the preventive effect of the novel myokine Sparc on colon tumorigenesis

研究代表者

青井 渉（AOI WATARU）

京都府立大学・大学院生命環境科学研究科・助教

研究者番号：60405272

研究成果の概要（和文）：マイオカイン Secreted protein acidic and rich in cysteine（SPARC）の大腸がん抑制作用について検討するため、SPARC 遺伝子欠損マウスを用いて解析を行った。その結果、野生型マウスと異なり、SPARC 遺伝子欠損マウスでは習慣的運動による大腸前がん病変の形成を抑制する作用がみられなかった。また、SPARC 遺伝子欠損マウスではアポトーシス陽性細胞、Caspase 活性の増加がみられず、運動によって骨格筋から循環中に分泌された SPARC は大腸前がん病変部位のアポトーシスを誘導することによって大腸がんを抑制することが示唆された。

研究成果の概要（英文）：We found a novel muscle-secreted protein, secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC). In this study, I have examined the preventive effect of the novel myokine SPARC on colon tumorigenesis using SPARC-null mouse. As a result, regular low-intensity exercise significantly reduced the formation of the precursor lesions of colon adenocarcinoma in wild-type mice, whereas exercise did not have an inhibitory effect. In addition, regular exercise increased apoptotic activity in the colon of wild-type mice; however, the activity did not differ between sedentary and exercised SPARC-null mice. These results suggest that the secreted-protein SPARC may suppress proliferation of colon tumor cells via increasing caspase activity.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・スポーツ科学

キーワード：骨格筋、マイオカイン、タンパク質、大腸がん、運動

1. 研究開始当初の背景

日常的な運動習慣は大腸がんの予防に有効であることが疫学的研究により報告されている。一方、運動の発がん予防効果のメカニズムについては、いくつかの推察がなされているものの詳細は明らかになっていない。近年、運動による生理機能の変化や健康増進作用を説明するものとして、骨格筋より分泌される生理活性タンパク質がマイオカイン

の存在が注目されている。最近、研究代表者は、運動によって骨格筋から血液中へ分泌される新規マイオカイン Secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) を同定した。SPARC は細胞増殖の抑制作用を有し、大腸など特定の臓器においては腫瘍形成を抑制することがわかっており、運動によって血液中に増大する SPARC が大腸がんの予防に寄与するかもしれない。

2. 研究の目的

マウス大腸発がんモデルにおいて、運動によって骨格筋から血液中に分泌される SPARC が、大腸がん予防に寄与するか否か検証した。

3. 研究の方法

SPARC 遺伝子欠損マウスおよび野生型マウスをそれぞれ安静群、Azoxymethan (AOM) 投与安静群および AOM 投与運動群の 3 群にわけ、運動群には低強度トレッドミル走運動を週 3 回負荷した。6 週間飼育を行った後、大腸上皮粘膜を固定し、メチレンブルーで染色して Aberrant crypt foci (ACF) 形成を顕鏡観察した。また、大腸組織を terminal deoxyribonucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) 染色し、TUNEL 陽性細胞を測定した。大腸上皮からタンパク質を抽出してアポトーシス関連タンパク質 Caspase-3、Caspase-8、Bax、Bcl-2 の発現量を測定した。

さらに、大腸組織内に由来しない外因性 SPARC が大腸の腫瘍形成を抑制することを確認するために、組み換え型 SPARC を投与する試験を行った。AOM 投与により大腸発がんを誘発した野生型マウスに、組み換え型 SPARC を週 3 回、6 週間腹腔内投与して大腸上皮の ACF 形成を観察した。

4. 研究成果

(1) 野生型マウスでは、大腸上皮における ACF 形成は、6 週間の運動によって有意に抑制された。一方、SPARC 遺伝子欠損マウスにおいては、運動による ACF 形成の抑制効果はみられなかった (図 1)。また、安静群において、野生型マウスと比較して SPARC 遺伝子欠損マウスは有意に ACF が高値であった。

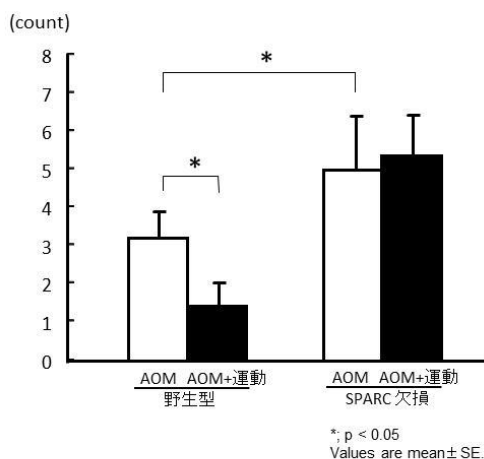


図1. 大腸上皮におけるACFの比較

(2) ACF 形成の主な原因の一つは、細胞アポトーシスの調節不全である。そのため、大腸上皮細胞のアポトーシス活性に着目した。野生型マウスでは運動により TUNEL 陽性細胞の増大がみられ、アポトーシスの活性化が示されたが、SPARC 遺伝子欠損マウスでは運動による影響がみられなかった (図 2)。同様に、野生型マウスにおいてみられた運動による活性型 Caspase-3 および Caspase-8 の増大は SPARC 遺伝子欠損マウスにおいては観察されなかった (図 3)。一方、Bcl-2 および Bax は運動の有無、マウス種によって変動は見られず、アポトーシスの誘導に細胞外因子が関与していること示唆された。

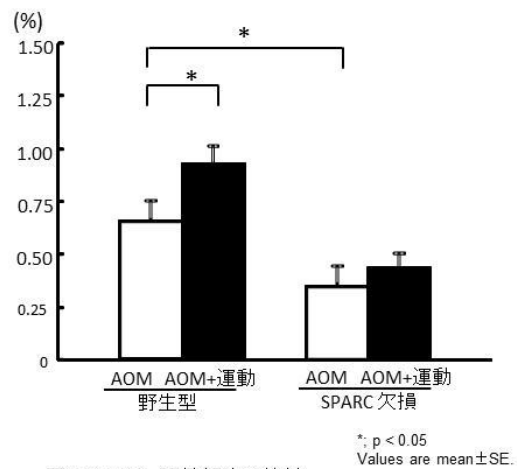


図2. TUNEL 陽性細胞の比較

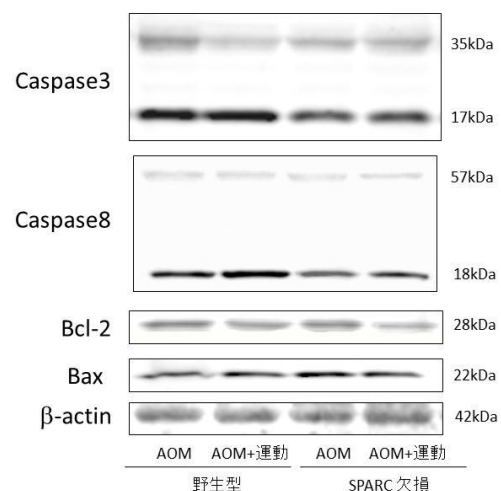


図3. アポトーシス関連タンパク質の比較

(3) 組み換え型 SPARC 投与により ACF 形成の有意な抑制が認められた。また、その効果は投与した SPARC の濃度依存的に認められた。

以上の結果より、運動によって骨格筋から循環中に分泌された SPARC は大腸前がん病変部位のアポトーシスを誘導することによって大腸発がんを抑制することが示唆された。

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 9 件)

(1) Aoi W, Ichikawa H, Mune K, Tanimura Y, Mizushima K, Naito Y, and Yoshikawa T. Muscle-enriched microRNA miR-486 decreases in circulation in response to exercise in young men. *Front Physiol*, 4, 80, doi: 10.3389/fphys.2013.00080, 2013 査読有

(2) Aoi W and Sakuma K. Skeletal muscle: novel and intriguing characteristics as a secretory organ. *BioDiscovery* 7, 2, doi: 10.7750/BioDiscovery.2013.7.2, 2013 査読有

(3) Aoi W, Yamauchi H, Iwasa M, Mune K, Furuta K, Tanimura Y, Wada S, and Higashi A. Combined light exercise after meal intake suppresses postprandial serum triglyceride. *Med Sci Sports Exerc*, 45, 245-252, 2013 査読有

(4) Aoi W, Naito Y, Takagi T, Tanimura T, Takanami Y, Kawai Y, Sakuma K, Hang LP, Mizushima K, Hirai Y, Koyama R, Wada S, Higashi A, Kokura S, Ichikawa H, and Yoshikawa T. A novel myokine, secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC), suppresses colon tumorigenesis via regular exercise. *Gut*, 62, 882-889, 2013 査読有

(5) Aoi W, Naito Y, Tokuda H, Tanimura Y, Oya-Ito T, and Yoshikawa T. Exercise-induced muscle damage impairs insulin signaling pathway associated with IRS-1 oxidative modification. *Physiol Res*, 61, 81-88, 2012 査読有

(6) Aoi W, Naito Y, Hung LP, Uchiyama K, Akagiri S, Mizushima K, Yoshikawa T. Regular exercise prevents high-sucrose diet-induced fatty liver via improvement of hepatic lipid metabolism. *Biochem Biophys Res Commun*, 413, 330-335, 2011 査読有

(7) Aoi W, Naito Y, Yoshikawa T. Dietary exercise as a novel strategy for the prevention and treatment of metabolic

syndrome: Effects on skeletal muscle function. *J Nutr Metab*, 2011:676208.

(2011) 査読有

(8) Aoi W and Sakuma K. Oxidative stress and skeletal muscle dysfunction with aging. *Curr Aging Sci*, 4, 101-109, 2011. 査読有

(9) Aoi W, Takanami Y, Kawai Y, Morifuji M, Koga J, Kanegae M, Mihara K, Yanohara T, Mukai J, Naito Y, Yoshikawa T. Dietary whey hydrolysate with exercise alters the plasma protein profile: A comprehensive protein analysis. *Nutrition*, 27, 687-692, 2011. 査読有

[学会発表] (計 10 件)

① 青井 渉, 新規マイオカイン SPARC の可能性 - 運動による大腸がん予防に着目して - . 第 67 回日本体力医学会大会 (招待講演), 2012 年 09 月 15 日, 岐阜

② Aoi W, Naito Y, and Yoshikawa T. The role of oxidative stress in insulin signaling impairment and muscle damage induced by exercise. 16th Biennial Meeting of the Society of Free Radical Research International (招待講演), 2012 年 09 月 06 日, London, UK

③ 青井 渉. 運動ストレスから考えるアンチエイジング. 第 65 回日本酸化ストレス学会 (招待講演), 2012 年 06 月 07 日, 徳島

④ Aoi W, Naito Y, Takagi T, Tanimura Y, Takanami Y, Kawai Y, Ichikawa H, and Yoshikawa T. A muscle-secreted protein SPARC suppresses colon tumorigenesis via apoptotic effect. 59th Annual Meeting of the American College of Sports Medicine, 2012 年 06 月 02 日, San Francisco, USA

⑤ 青井 渉, 山内晴河, 岩佐真代, 宗慶太郎, 古田香織, 佐々木将太, 和田小依里, 東あかね. 一過性低強度運動が食後血清中性脂肪におよぼす影響. 第 66 回日本栄養・食糧学会, 2012 年 05 月 19 日, 仙台

⑥ Aoi W, Naito Y, Hang PL, Takahashi J, and Yoshikawa T. Inhibitory effect of astaxanthin on protein catabolism signaling in skeletal muscle atrophy. 2011 International Conference of Food Factors, 2011 年 11 月 22 日 Taipei, Taiwan

⑦ 青井 渉, 内藤裕二, 高木智久, 佐久間邦弘, 吉川敏一. 運動によって増大する新規マイオカイン候補の探索・同定. 第 84 回日本生化学会大会, 2011 年 9 月 24 日, 京都

⑧ 青井 渉, 高波嘉一, 川合ゆかり, 谷村祐子, 佐久間邦弘, 市川寛, 内藤裕二, 吉川敏一. 新規マイオカイン候補 SPARC の同定第 66 回日本体力医学会大会 2011 年 9 月 17 日, 山口

⑨ Aoi W, Takanami Y, Kawai Y, Tanimura Y, Takagi T, Naito Y, and Yoshikawa T.

Identification of a new muscle-secreted protein SPARC and its potential effect on antitumorigenesis. 58th American College of Sports Medicine. 2011年6月1日, Denver, USA

⑩青井渉, 運動による脂肪肝の予防・改善作用. 第11回日本抗加齢医学会総会(招待講演), 2011年5月11日, 京都

[図書] (計 1件)

Aoi W, The role and regulation of microRNA in skeletal muscle, In: Sakuma, K. ed. Current Research Trends of Skeletal Muscle. Research Signpost, Kerala, India, pp129-142, 2012

[産業財産権]

○出願状況 (計 0件)

○取得状況 (計 0件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

青井 渉 (AOI WATARU)

京都府立大学・大学院生命環境科学研究科・助教

研究者番号: 60405272