

## がん性悪液質発症に伴う骨格筋弱体化誘導因子の解明と運動療法介入効果

宮崎充功 (PT, PhD)<sup>1)2)</sup>

- 1) 北海道医療大学リハビリテーション学部理学療法学科 (2021年3月まで)
- 2) 広島大学大学院医系科学研究科生理機能情報科学 (2021年4月より)

キーワード：がん悪液質，骨格筋萎縮，運動療法

### はじめに

悪液質とは、がんをはじめとする慢性消耗性疾患における、脂肪および骨格筋量の二次的低下を主徴とした全身性代謝障害症候群である<sup>1)</sup>。原発病巣以外の末梢組織である脂肪や骨格筋が強く影響を受けることから、がん性悪液質の発症・進行には全身性因子の関与が疑われているが、悪液質の発症機序を含めその詳細は不明な点が多い。またがん悪液質に対する治療戦略には、一次疾患由来の慢性炎症の管理に加え、栄養および運動療法を含めた包括的介入が必要とされるが、効果的な運動療法プロトコルおよびその介入効果についても不明な点が多い<sup>2)3)</sup>。本研究では、「がん悪液質誘導因子の探索」および「がん悪液質発症予防に向けた理学療法プログラム」の開発を念頭に、悪液質の発症・進行防止策としての身体運動介入効果について検討を行った。特にがん悪液質の動物実験モデルとして遺伝子工学的手法およびがん細胞移植法の2種類の手法を採用し、悪液質発症機構および運動介入効果について検討を行った。

### 対象および方法

#### 1. 実験動物

##### 1) Cre-loxP システムを用いたがん悪液質モデル

がん原遺伝子 Kras の恒常活性変異型 Kras<sup>G12D</sup> 蛋白の発現、およびがん抑制遺伝子 p53 の欠損をタモキシフェン依存性・すい臓特異的に誘導可能な遺伝子工学モデル (Pdx1-CreER/LSL-Kras<sup>G12D</sup>/p53<sup>fllox</sup>) を採用した。

##### 2) Colon-26 細胞の皮下移植モデル

マウス大腸ガン由来細胞株 (C26: Colon-26, Riken BRC Cell No. RCB2657) を培養し、7週齢の CD2F1 系雄性マウスの腹壁部へ皮下移植 (1個体当たり  $1 \times 10^6$  個) することでがん悪液質を誘導した。本研究は、北海道医療大学動物実験規程の定めに基づいて計画・承認された (北海道医療大学動物実験委員会承認番号第 20-005 および 20-006)。

#### 2. 運動介入

有酸素運動を模した運動形式として自発走運動 (シ

ナノ製作所、回転式運動量測定器 SN450) を採用し、CD2F1 系マウスへの C26 細胞移植直後から4週間の介入を行った。またレジスタンス運動を模した介入として共働筋切除による足底筋への代償性過負荷モデルを移植2週目に施行し、手術後2週目 (がん移植4週目に相当) に骨格筋をサンプリングして生化学的解析を行った。

#### 3. 統計処理

得られた測定値は平均値±標準誤差で表記した。2群間の比較には Student の t 検定を採用し、また多群間の比較には二元配置分散分析を用い、交互作用および主効果検定の後に Tukey-Kramer の多重比較検定を行った。有意水準は5%とした。

### 結 果

#### 1. がん悪液質の遺伝子工学モデル

8週齢の雄性モデルマウスにタモキシフェンを投与し、6週間の飼育後に骨格筋サンプルを採取し、組織重量を測定した。その結果、採取したいずれの筋 (腓腹筋、ヒラメ筋、足底筋、前脛骨筋) においても、溶媒投与の対照群に比較して有意な変化は認められなかった。

#### 2. レジスタンス運動に対するタンパク質合成不全

C26 細胞移植によりがん悪液質を誘発した動物実験モデルでは、代償性過負荷に伴う骨格筋肥大適応 (骨格筋重量/タンパク質合成効率の増加、タンパク質合成系を促進するシグナル経路の活性化) が、対照群に比較して顕著に抑制された (図1)。

#### 3. 悪液質による骨格筋酸化ストレスは有酸素運動介入により改善される

C26 細胞移植モデルの骨格筋において酸化ストレスの増加およびミトコンドリア形態異常が惹起されるが、有酸素運動を模した自発走運動介入による軽減効果が認められた (図2)。

### 考 察

本研究の主目的のひとつである遺伝子工学的手法を用いたがん悪液質モデルの作成については、タモキシフェン投与後6週目というタイムポイントにおいては、筋力および骨格筋重量の有意な変化は認められなかった。類似した手法を用いた先行研究<sup>4)</sup>と比較した場合、DNA 組み換え誘導のタイミングや手法などに差異が認められるため、サンプリングの時系列を含め、実験条件の詳細を検討し、現在も解析を継続中である。

また従来から用いられてきた C26 皮下移植法を用いた検討においては、がん悪液質に伴い筋タンパク質合成抵抗性が惹起され、レジスタンス運動に対する骨格筋肥大適応を阻害する因子となりうるということが明らかとなった。一方で有酸素運動を行った場合、がん悪液質に伴う

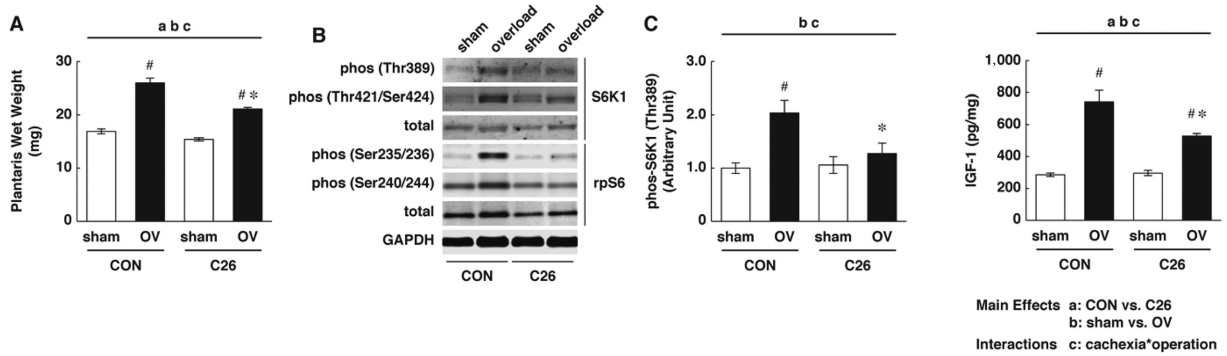


図 1

がん悪液質の発症 (C26) に伴い、代償性過負荷 (OV) に伴う骨格筋肥大適応は、顕著に抑制される。A) 骨格筋重量。B) ウェスタンブロットイングの典型像。C) たんぱく質合成を正に制御する mTOR (mechanistic target of rapamycin) 系シグナル経路の活性化状態 (mTOR の下流因子であるリボソームタンパク質 S6 キナーゼベータ 1: S6K1 および S6 リボソームタンパク質: rpS6 のリン酸化量を定量化)。

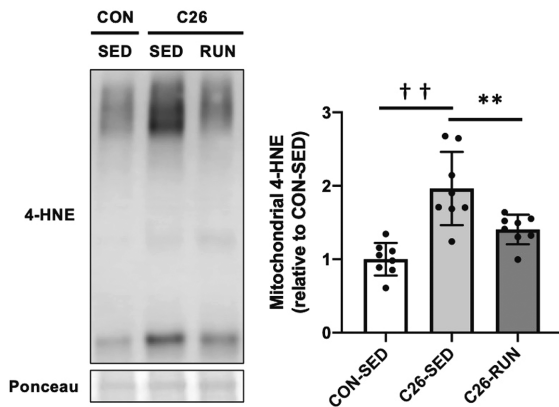


図 2

骨格筋ミトコンドリア分画における 4 ヒドロキシノネナール (4-HNE, 酸化ストレスマーカー) の増加はがん悪液質の発症に伴って誘導され、自発走運動介入により抑制される。

骨格筋酸化ストレスが是正され、骨格筋量維持に貢献する可能性が示唆された。以上の結果は、がん悪液質に対する運動療法処方において、比較的低強度の運動介入の有効性を示している。

### 利益相反

開示すべき利益相反はない。

### 文 献

- 1) Fearon K, Strasser F, *et al.*: Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus. *Lancet Oncol.* 2011; 12(5): 489-495.
- 2) Maddocks M, Hopkinson J, *et al.*: Practical multimodal care for cancer cachexia. *Curr Opin Support Palliat Care.* 2016; 10(4): 298-305.
- 3) Crawford J: Clinical results in cachexia therapeutics. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2016; 19(3): 199-204.
- 4) Danai LV, Babic A, *et al.*: Altered exocrine function can drive adipose wasting in early pancreatic cancer. *Nature.* 2018; 558(7711): 600-604.

### 発表実績

#### 【学会発表】

- 1) 宮崎充功：がん悪液質に対する運動療法介入効果と骨格筋タンパク質代謝制御。第 39 回日本臨床運動療法学会、シンポジウム 5「病態を癒す」運動のサイエンス～基礎研究から臨床研究まで～。2020 年 9 月、札幌 (オンライン開催)
- 2) 宮崎充功：Molecular mechanisms underlying anabolic resistance to muscle protein synthesis in cancer cachexia。第 8 回骨格筋生物学研究会。2021 年 3 月、熊本 (オンライン開催)
- 3) 宮崎充功：がん悪液質に伴う筋タンパク質合成抵抗性の分子機構。第 86 回日本体力医学会 中国・四国地方会。2021 年 6 月、倉敷 (オンライン開催)
- 4) Kitaoka Y, Miyazaki M, *et al.*: Voluntary exercise prevents abnormal muscle mitochondrial morphology in cancer cachexia mice. *Physiol Rep.* 2021; 9(16): e15016.