HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	シスプラチンによる骨格筋萎縮発症機序に関する基礎的研究［全文の要約］
Author(s)	松本, 千波
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。【担当：薬学部図書室】 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(薬科学)
Dissertation Number	甲第15161号
Issue Date	2022-09-26
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/87226
Type	doctoral thesis
File Information	Chinami_Matsumoto_summary.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 の 要 約

博士の専攻分野の名称　博士（薬科学）　氏 名　松 本 千 波

学 位 論 文 題 名

シスプラチンによる骨格筋萎縮発症機序に関する基礎的研究

シスプラチンは、消化器癌、肺癌など様々な癌の治療に広く使用されている抗癌剤であるが、腎障害, 神経障害, 内耳障害など重篤な副作用を伴うことが多く、これらは化学療法を完遂する上で大きな妨げとなる。さらに、シスプラチンが骨格筋萎縮をもたらすことがごく最近明らかとなってきた。骨格筋萎縮は、化学療法中の癌患者の QOL を低下させ、生命予後に影響を与えており、その病態解明や予防・治療法の開発は重要な課題である。

筋萎縮には、蛋白質の分解と合成を制御する多様なシグナル伝達経路が関与している。シスプラチンは、筋特異的ユビキチンリガーゼ Atrogin-1 と MuRF1 を活性化することが明らかになっている。しかしながら、その分子メカニズムについては不明な点が多い。一方、シスプラチンの抗癌作用並びに副作用の発症にアポトーシスが関与し、その機序にミトコンドリア障害が介在していることが示唆されている。ミトコンドリアは、アポトーシス誘導以外にも ATP 産生、活性酸素種（ROS）生成などの多くの細胞機能を制御する重要な役割を担っている。最近、動物実験において、シスプラチンが骨格筋のミトコンドリア障害を引き起こすことが報告されたが、その機序や筋萎縮との因果関係については検討がなされていない。

本研究では、シスプラチン誘発マウス C2C12 筋管細胞萎縮モデル（*in vitro*）を作製し、シスプラチンによる筋管細胞萎縮および筋特異的ユビキチンリガーゼの活性化とミトコンドリア障害の関連性について検討した。また、シスプラチン誘発筋萎縮モデルマウスに関する基礎的検討を行い、さらに補中益気湯の効果を検討した。

C2C12 筋管細胞の生存と萎縮に対するシスプラチンの影響を評価した。50 μmol/L シスプラチンで 24 時間処理した C2C12 筋管細胞は、アポトーシスを誘導することなく細胞萎縮し、ミオシン重鎖（MyHC）蛋白量が減少した。また *Atrogin-1* および *MuRF1* mRNA 発現レベルが上昇した。

次に筋管細胞萎縮におけるミトコンドリア障害と活性酸素生成の関連性を経時的に検討した。シスプラチン処理 2 時間後にミトコンドリア活性酸素レベルの一過性の増加が観察され、その後 24 時間まで細胞内 ROS レベルの持続的な増加が認められた。また、6 時間以降にアポトーシス制御因子 *Bax* mRNA の発現レベルが上昇し、*Bcl-2* mRNA の発現レベルが減少した。

さらに、シスプラチン処理により、ミトコンドリアの酸化的リン酸化の指標である酸素消費速度の低下、解糖の指標である細胞外酸性化速度の低下および ATP 産生の低下が認められた。

以上の結果より、シスプラチンは筋管細胞においてミトコンドリア機能障害を引き起こすことが明らかとなり、これが筋管細胞萎縮をもたらす可能性が示唆された。このことを明らかにするために、ミトコンドリアを標的とした抗酸化物質 Mitoquinone mesylate（MitoQ）の効果を検討した。MitoQ はシスプラチン処理筋管細胞において、細胞内 ROS を減少させ、*Bax* および *Bcl-2* mRNA の変化を緩和した。さらに MitoQ はシスプラチンによる *Atrogin-1* mRNA 増加を抑制し、MyHC 蛋白量を増加させた。一方、MitoQ は ATP 産生速度および細胞内 ATP 量を改善しなかった。以上より、シスプラチンによる Atrogin-1/MuRF1 活性化には、ミトコンドリア障害およびそれにともなう持続的な活性酸素の上昇が主要な役割を果たしていることが明らかとなった。

またシスプラチンにより、*Bax/Bcl-2* 比が変動することが明らかとなったが、Bax は p53 の代表的な標的遺伝子のひとつであり、Bcl-2 の転写も p53 で制御を受けることが報告されている。さらにミトコンドリア外膜上の Bax および Bcl-2 は、ミトコンドリアへ移行した p53 によって直接的な制御を受けること、解糖系が p53 によって抑制されることが知られている。そこで、シスプラチン処理による筋管細胞萎縮モデルにおける p53 の関与について検討した結果、シスプラチンは p53 を活性化させ、筋管細胞のミトコンドリア障害と細胞萎縮を引き起こす可能性が示唆された。

次にマウスにシスプラチンを投与して筋萎縮モデルマウスを作製し、骨格筋重量とその制御因子について検討した。その結果、シスプラチン投与により腓腹筋の重量と握力の低下が認められ、その機序として、腓腹筋の *Atrogin-1* mRNA の増加およびミトコンドリア DNA 量の低下の関与が示唆された。さらに補中益気湯はシスプラチン誘発筋萎縮を改善する効果を有していることが明らかとなった。

本研究の成果により、シスプラチンによる筋萎縮の発症には、活性酸素の発生と p53 活性化によるミトコンドリアの機能低下の関与が示唆された。ミトコンドリアを保護することが、シスプラチン系化学療法による筋萎縮の予防・治療に有用であることが示唆された。