

運動による時計遺伝子 CRY2 誘導を介した肝がん  
治療法の開発

大阪公立大学大学院

山岸 良多

## 【背景・目的】

肝がんは、5年生存率が35.8%程度(がん腫別統計2025)と低く、その発症数に関しても、ウイルス性肝がんの発症数が有用な抗ウイルス薬の開発により減少傾向となっている一方で、脂肪肝を素地とする肥満関連性肝がんは、増加の一途を辿っており、その病態解明及び予防法の確立は喫緊の課題となっている。

また近年、他の臓器や細胞が遠隔の臓器に作用するいわゆる臓器連関による様々な疾患の発症制御が明らかになってきている。

しかし、運動による抗腫瘍作用の詳細なメカニズムや運動による抗腫瘍効果をどの様に治療法として利用するかといった点はまだ十分解明されていない。

そこで肝がんモデルマウスに規則的なランニングをさせたところ、腫瘍形成が有意に抑制された。また興味深いことにこの条件下では運動による体重の変化は無く、腫瘍抑制が純粋に運動の効果であることが確認された。

さらに、運動群マウスの肝組織に対する発現解析を行ったところ、がん細胞の増殖に寄与する転写因子である c-Myc と E2F1 の標的遺伝子の発現が有意に低下していることが確認された。しかしながら、c-Myc と E2F1 自体の発現はについて、mRNA レベルでは運動による変化は認められなかった。一方、運動で発現が増加した遺伝子について確認したところ、概日リズムを制御する時計遺伝子が多く含まれており、興味深いことにその一つの CRY2 は、ユビキチンリガーゼ Fbx13 のリクルートにより、c-Myc と E2F1 といったがん遺伝子をプロテアソーム系による分解することが報告されていた(Chan et al. *Sci Rep* 2020, Huber et al. *Mol Cell* 2016)。そこで、c-Myc と E2F1 のタンパク質発現を確認したところ、いずれも運動により腫瘍部での発現が低下していることが確認された。

以上の知見を踏まえ、本研究では腫瘍の抑制に繋がる Cry2 の誘導法を検討し、肥満関連肝がんの治療や予防法の開発に繋げることを目的とする。

## 【方法】

**薬剤処理による CRY2 制御機構の検証：**肝がん細胞株を用い、代謝改善薬 (AMPK 活性化剤) を添加し、CRY2 の修飾状態および c-Myc/E2F1 の発現変化を解析した。

**新規結合因子の同定と機能解析：**CRY2 を含む複合体形成に着目し、免疫沈降法を用いて、特定のキナーゼである TLK2 との結合能を解析した。

**運動群マウスを用いた発現変動解析：**運動がこれらの因子に与える影響を検証するため、運動群および非運動群マウスの肝臓組織における TLK2 のタンパク質発現量を比較した。

**網羅的プロテオーム解析：**TLK2 の下流で機能する分子を探索するため、TLK2 の過剰発現系を用いたリン酸化プロテオーム解析を実施した。

## 【結果】

**薬剤処理の影響：**肝がん細胞株において AMPK 活性化剤処理を行ったが、CRY2 の発現や修飾に明確な変化は認められなかった。これにより、運動による効果は当初想定していた代謝経路とは異なる独自の経路を介している可能性が示唆された。

**TLK2 による複合体制御：**新規結合因子として同定した TLK2 について解析した結果、TLK2 のリン酸化状態に応じて、CRY2 を含む複合体との結合能が変動することを見出した。

**運動による TLK2 の抑制：**運動群マウスの肝臓では、非運動群と比較して TLK2 の発現が有意に低下していることが確認された。

**新規因子の同定：**プロテオーム解析の結果、c-Myc の脱ユビキチン化 (安定化) に関与する

特定の酵素が、TLK2 の制御下でリン酸化修飾を受けることを突き止めた。

**【結語および今後の展開】**

本年度の研究により、運動による肝がん抑制の新たな分子メカニズムとして、「運動→TLK2 の減少→特定の脱ユビキチン化酵素の活性制御→c-Myc の分解促進」という一連のシグナル経路の存在が浮上した。

今後は、同定した脱ユビキチン化酵素のリン酸化修飾が、運動による抗腫瘍効果においてどのような役割を果たしているかを詳細に検証する。本研究成果は、運動のメリットを分子レベルで模倣した、新たな肝がん治療・予防法の開発に繋がることが期待される。