

論文提出者氏名 松山竜三

論文題目

## Tumor inoculation site affects the development of cancer cachexia and muscle wasting

(日本語訳) 腫瘍移植部位はがん悪液質の進展と筋萎縮に影響する

論文内容の要旨

がん悪液質の表現型や重症度は、がん種によって、また、同じがん種であっても患者ごとに異なる。これには、腫瘍側の因子と宿主側の因子が関与していると考えられ、この機序の一部として腫瘍微小環境における腫瘍と宿主の相互作用が血漿サイトカインおよびプロテオームに影響し、それによりがん悪液質の表現型や重症度の差を生じると考えられている。本研究では、マウス大腸癌モデルを用いて、がん移植部位の差異が、血漿サイトカインおよびTGF- $\beta$ スーパーファミリーであるActivin A, Myostatinに及ぼす影響、さらに悪液質の表現型や重症度の精査として骨格筋、心筋重量に及ぼす影響について評価した。

マウスは7週齢の雄BALB/cマウスを使用し、1週間馴化させた後、検討を開始した。マウスをコントロール群、皮下腫瘍群、腹腔内腫瘍群の3群に分け、1群あたり8~9匹とした。がん細胞株はマウス大腸がん細胞株 colon26 を使用した。移植は colon26  $5 \times 10^6$  個/匹を、8週齢のマウスの右腰部皮下に接種した皮下腫瘍群と、同数のがん細胞を腹腔内に接種した腹腔内腫瘍群を作成した。腫瘍を移植しない対照群とあわせて3群を継続的に体重と摂餌量、皮下腫瘍群においては腫瘍径を計測し、14日目に解剖した。解剖時に精巣周囲脂肪組織、腓腹筋、心臓、血漿を採取した。血漿中 Activin A, Myostatin を ELISA(R&D Systems)で、IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12(p40), IL-13, IL-17, Eotaxin , G-CSF, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , KC, MCP1, MIP1 $\alpha$ , MIP1 $\beta$ , RANTES, TNF $\alpha$  を Bio-Plex array(Bio-Rad Laboratories)で、腓腹筋および心筋における Atrogin-1, MuRF-1 の発現は RNA 抽出後に Real-time PCR で測定した。

皮下および腹腔内腫瘍マウスは、摂取後10日目から体重が減少しはじめ、対照群と比較して摂餌量も著しく低下した。腫瘍を移植した2群で悪液質の進展を認め、摂餌量は両群で差は無かったが、腹腔内腫瘍マウスの体重は、皮下腫瘍群よりも有意に減少していた。精巣周囲脂肪組織の重量は、対照マウスと比較して担がんマウスでは有意に減少しており、特に腹腔内腫瘍群では皮下腫瘍

群と比較し有意に減少していた。腓腹筋重量においても、担がん群は対照群より有意に減少しており、更に腹腔内腫瘍群では皮下腫瘍群と比較し有意に減少していた。心筋重量については、腹腔内腫瘍群で対照群および皮下腫瘍群と比較して有意な減少がみられたが、皮下腫瘍群ではほとんど減少はみられなかった。皮下腫瘍群にいて観察期間を19日に延長し観察すると、がん悪液質は進展し、精巣周囲脂肪組織および骨格筋重量は経時的に減少したが、興味深いことに心筋重量の減少は観察されなかった。

血漿サイトカインについては、腫瘍担がん群では、対照群と比べてIL-6およびTNF- $\alpha$ は増加していた。これとは対照的に、腫瘍担がんマウスにおけるIL-5は、対照群に比べて有意に低下していた。皮下腫瘍群でのIL-10, IL-12(P40)およびKCレベルは、他の2群に比べて高値であった。腹腔内腫瘍群におけるeotaxinのレベルは、皮下腫瘍群よりも有意に高値であった。G-CSFは、腹腔内腫瘍モデルにおいて顕著に高値であった。他のサイトカインについては、群間で有意な差は認めなかった。

骨格筋形成抑制に関わるTGF- $\beta$ スーパーファミリーであるActivin A, Myostatinについては、腫瘍を有するマウスにおいてActivin Aは、対照群よりも高値で、皮下腫瘍群で有意に高い値であった。Myostatinは、皮下腫瘍群においてわずかに高い傾向だったが各群間に有意差は認めなかった。

筋タンパク質分解に働くユビキチンリガーゼであるAtrogin-1およびMuRF-1についての検討では、骨格筋においては、対照群と比較して担がん群において両遺伝子発現とも有意に増加していた。腹腔内腫瘍群におけるこれらのmRNA発現は、皮下腫瘍群よりも高い傾向であったが、有意差は認めなかった。心筋においては、Atrogin-1およびMuRF-1のmRNAの発現は、腹腔内腫瘍群で顕著に増加しており、皮下腫瘍群に比べて有意に高値であった。

以上の結果から、腫瘍細胞が発育する微小環境の違いが、がん悪液質の表現型や重症度に影響を与える可能性が示された。腫瘍移植部位の差異が、循環サイトカインに影響を与え、それらは筋肉内のユビキチンリガーゼの発現に影響し、骨格筋や心筋の萎縮を引き起こす可能性が示唆された。これまでに腫瘍の発育する部位が、がん悪液質の表現型や重症度に影響を与えることを詳細に検討した報告はない。がん悪液質発症のメカニズムを解明するためには、腫瘍微小環境における腫瘍細胞と宿主細胞との相互作用が悪液質形成にどのように影響するかを理解することが重要である。本研究により得られた結果は、がん悪液質の機序の解明および治療法開発の上で、有用な情報となると考えられる。