

令和元年5月30日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19310

研究課題名(和文)がん患者におけるサルコペニア発症の分子メカニズムの解明

研究課題名(英文)Molecular mechanism of sarcopenia in cancer patients

研究代表者

中村 信彦(Nakamura, Nobuhiko)

岐阜大学・大学院医学系研究科・その他

研究者番号：80550087

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：がん患者におけるサルコペニアの発症は予後不良因子であるが、その発症メカニズムの詳細は十分明らかになっていない。本研究では、必須アミノ酸であるトリプトファン代謝に注目し、トリプトファン欠乏と骨格筋との関係性を悪性リンパ腫患者の臨床検体、筋芽細胞株、そしてマウス骨格筋を用いて明らかにした。腫瘍細胞が引き起こすトリプトファン欠乏は骨格筋萎縮の一因と考えられ、サルコペニアの発症マーカーや治療ターゲットになる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究による成果により、これまで十分明らかになっていなかった癌患者におけるサルコペニア発症機序の一因を示した。癌患者では発症早期よりアミノ酸バランス異常が起きており、特にトリプトファンの低下が報告されている。このトリプトファン欠乏が骨格筋萎縮を引き起こしていることがわかり、今後サルコペニア発症の予測因子、発症予防、さらには治療ターゲットとして臨床応用されることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Our data show for the first time that tryptophan(Trp) deficiency underlies skeletal muscle atrophy in cancer-related sarcopenia, and we have established a direct link between cancer-related sarcopenia and Trp. Given that evaluations of cancer-related sarcopenia are useful for predicting the prognoses of some cancers and decision-making in relation to treatment strategies, we postulate that the serum Trp level might become a valuable biomarker of sarcopenia development and progression. The results from the present study also indicate that targeting the Trp and kynurenine pathway that is mediated by IDO, might be a promising tactic for preventing or treating sarcopenia in patients with cancer.

研究分野：腫瘍学

キーワード：サルコペニア トリプトファン 癌

## 1. 研究開始当初の背景

サルコペニアには、加齢により筋肉量が減っていく原発性サルコペニアと、がんなどの病気によって引き起こされる2次性サルコペニアがあり、がん患者に起こるサルコペニアは単に栄養不足による体重減少が原因ではなく、タンパク質の消費が亢進して、それを補うために骨格筋タンパク質の分解が促進されているのではないかと考えられている。サルコペニアを合併しているがん患者は予後が不良であることが、様々ながん腫において分かっている。これまで我々は悪性リンパ腫患者において治療前のサルコペニア合併症例は予後不良であることを報告している。しかし、がん患者におけるサルコペニア発症の詳細なメカニズムの解明はされていない。近年、アミノ酸プロファイルと疾患の関係性が注目されている。がん患者においては、早期からトリプトファンとヒスチジンの低下が起きているとの報告がある。

## 2. 研究の目的

がん患者のサルコペニア発症の分子メカニズムの解明が目的である。必須アミノ酸であるトリプトファンの枯渇が骨格筋の分解促進に関与している可能性があり、トリプトファンの代謝酵素であるインドールアミン酸素添加酵素 (IDO) が腫瘍組織に発現していることに着目し本研究を行う。

## 3. 研究の方法

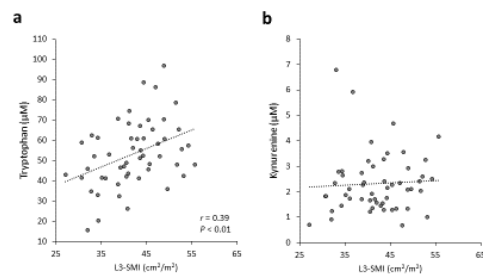
- (1) 悪性リンパ腫患者の臨床検体を用いて、血清トリプトファン濃度、キヌレニン濃度と骨格筋量との関係性を検討する。
- (2) トリプトファン欠乏が筋芽細胞株 (C2C12) に与える影響を検討する。
- (3) トリプトファン欠乏食を用いてマウス骨格筋の変化を病理組織、メタボローム解析を用いて検討する。

## 4. 研究成果

### (1) 血清トリプトファンと骨格筋の関係

びまん性大細胞型B細胞リンパ腫患者 54 人における血清トリプトファンおよびキヌレニン濃度と骨格筋量との関連性を分析した。ピアソンの積率相関係数およびSMIと血清トリプトファン濃度との間の関連についてのP値は、それぞれ  $r = 0.39$  および  $P < 0.01$  であり、SMIと血清トリプトファンレベルとの間に正の相関があることを示した (図1a)。SMIと血清キヌレニン濃度との間に相関は認めなかった (図1b)。

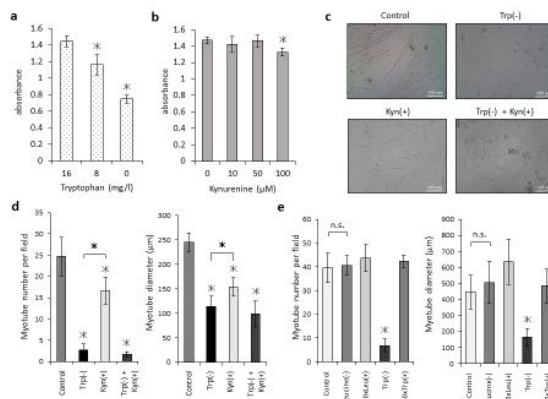
Figure 1.



### (2) トリプトファン欠乏が筋芽細胞の増殖分化に及ぼす影響

トリプトファン欠乏またはキヌレニンが筋芽細胞 C2C12 細胞の増殖を抑制するかどうかを調べた。C2C12 細胞はトリプトファン欠乏培地において細胞増殖は有意かつ用量依存的に阻害された (図2a)。100 µM 未満のキヌレニンは C2C12 細胞増殖を阻害しなかった (図2b)。我々はまた、C2C12 細胞の分化、特に筋管形成に対するトリプトファンとキヌレニンの効果を調べた。トリプトファン欠乏およびキヌレニン含有培地条件では、筋管の数および直径が有意に減少した。トリプトファン枯渇は、キヌレニンの添加と比較して、C2C12 細胞分化を有意に阻害した (図2c, 2d)。次に、ロイシンは骨格筋タンパク質合成を促進する必須アミノ酸なので、ロイシンの枯渇が C2C12 細胞の分化

Figure 2.

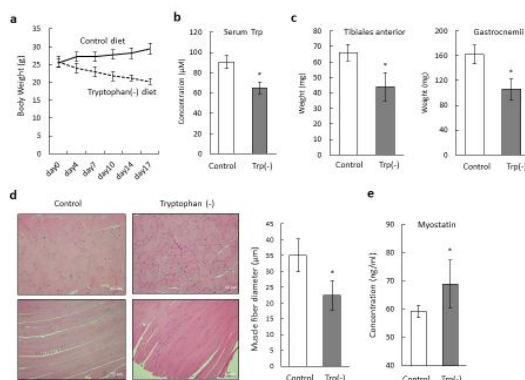


を抑制するかどうかを調べた。細胞をロイシン欠乏条件でインキュベートした場合、筋管数もそれらの直径も変化しなかった (図 2 e)。

### (3) トリプトファン欠乏食によるマウス骨格筋の萎縮

マウスの骨格筋に対するトリプトファン欠乏食の影響を調べた。図 3 a は、経時的な体重の変化を示す。実験中、標準食を与えられたマウスは徐々に体重が増加し、トリプトファン欠乏食を与えられたマウスは徐々に体重が減少した。実験中にマウスが食べた食物の量は、グループ間で差がなかった。21 日目のトリプトファン欠乏食 ( $65.2 \pm 5.9 \mu\text{M}$ ) を与えたマウスの血清トリプトファン濃度は、標準食 ( $90.6 \pm 6.3 \mu\text{M}$ ) を与えたマウスのそれより有意に低かった (図 3b)。トリプトファン欠乏食を与えたマウスからの前脛骨筋および腓腹筋の重量は、標準食を与えたマウスからのこれらの筋肉の重量と比較して有意に低かった (図 3c)。トリプトファン欠乏食を給餌したマウスの前脛骨筋の筋繊維直径は、標準食を給餌したマウスのそれ ( $34.96 \pm 5.18 \mu\text{m}$ ) よりも有意に小さかった ( $22.44 \pm 4.65 \mu\text{m}$ ) (図 3d)。また、トリプトファン欠乏食を与えたマウスの血中マイオスタチンの有意な上昇を認めた。(図 3e)。

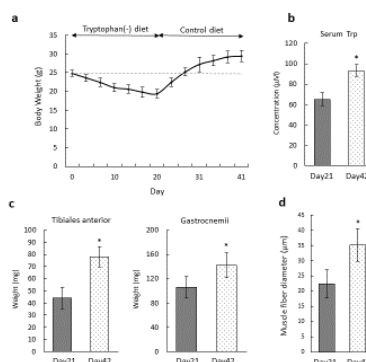
Figure 3.



### (4) トリプトファン欠乏によるマウス骨格筋萎縮からの回復

骨格筋萎縮が回復したかどうかを調べるために、トリプトファン欠乏食を 20 日間マウスに与え、続いて標準食をさらに 20 日間与えた。図 4a は、経時的な体重の変化を示す。トリプトファン欠乏食を 3 週間給餌したマウスは 6g 体重減少し、標準食を摂取した最初の週に体重が回復し、体重は増え続けました。血清トリプトファン濃度は、21 日目と比較して 42 日目 ( $93.3 \pm 2.5 \mu\text{M}$ ) で有意に高かった (図 4b)。前脛骨筋および腓腹筋の重量、筋線維径も回復した (図 4c, 4d)。

Figure 4.



### (まとめ)

本研究により、必須アミノ酸であるトリプトファン欠乏が骨格筋に与える重要性が明らかになった。がん患者では早期よりトリプトファン欠乏が発症していることから、がん患者における骨格筋減少の一因と考えられる。今後、トリプトファンはサルコペニア発症の予測因子や、サルコペニアの治療ターゲットとして有用である可能性がある。

### 5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 2 件)

Nakamura N, Ninomiya S, Matsumoto T, Nakamura H, Kitagawa J, Shiraki M, Hara T, Shimizu M, Tsurumi H. Prognostic impact of skeletal muscle assessed by computed tomography in patients with acute myeloid leukemia. 査読有  
Ann Hematol. 2019 Feb;98(2):351-359. doi: 10.1007/s00277-018-3508-1.

Nakamura N, Ninomiya S, Matsumoto T, Nakamura H, Kitagawa J, Hara T, Shimizu M, Tsurumi H. Recovery of Pure Red Cell Aplasia Following Hematopoietic Stem Cell Transplantation Associated with Interleukin (IL)-6 Elevation Caused by Odontogenic Infection. 査読有  
Intern Med. 2018 Nov1;57(21):3175-3177. doi: 10.2169/internalmedicine.0869-18.

[学会発表] (計 1 件)

Soranobu Ninomiya, Nobuhiko Nakamura, Yuto Kaneda, Takuro Matsumoto, Hiroshi Nakamura, Junichi Kitagawa, Masahito Shimizu, Takeshi Hara, Hisashi Tsurumi Sarcopenia in patients with diffuse large B-cell lymphoma is caused by the deficiency of essential amino acid tryptophan 第 80 回日本血液学会学術集会 2018 年

〔図書〕(計 0 件)

〔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

<http://seesaawiki.jp/ghsp/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：なし

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：二宮 空暢

ローマ字氏名：NINOMIYA SORANOBU

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。