

<研究課題> サルコペニアががん免疫に与える影響についての基礎的研究

代表研究者 愛媛大学大学院医学系研究科 教授 茂木 正樹
共同研究者 愛媛大学大学院医学研究科 准教授 劉 爽

【まとめ】

高齢者における骨格筋量の減少（サルコペニア）が、がん進展に与える影響を坐骨神経切断によるモデルマウスで検討した。サルコペニアによりメラノーマ細胞移植後の生存率が低下する傾向を認め、T細胞の機能低下・T細胞上のPD-1発現増加が認められた。分枝鎖アミノ酸摂取によりT細胞機能低下とPD-1発現低下が抑制された。以上より、サルコペニアを有するがん患者ではがん免疫が低下するも、栄養療法で改善する可能性が示唆された。

1. 研究の目的

1-1 高齢がん患者とフレイル

社会の高齢化に伴い、がんの罹患数と死亡数は増加しており、高齢がん患者の治療の機会も増えている。高齢者ではフレイルを有することが多くなるが、フレイルを有するがん患者の予後の検討は多数報告されているものの、研究の多くは、フレイルを有することにより、高齢者で身体的予備能が変化することによる、がん治療への耐性や予後の予測などを比較検討した報告であり、フレイルそのものが、がん細胞の進展に影響を与えているかどうかを検討した基礎研究はあまりない。また、フレイルの大きな要因のひとつである骨格筋量の減少に伴うサルコペニアを有する高齢者において、骨格筋量の減少が、がんの進展に与える影響について、がん免疫に着目して検討した基礎研究はこれまでほとんどない。

1-2 フレイルと免疫細胞

昨今、免疫細胞の老化に伴った加齢性疾患の発症やがんの進展が誘導されることが報告されており、今回骨格筋細胞の減少に伴って、免疫担当細胞に変化が生じ、免疫細胞の老化が誘導され、がん免疫の低下から腫瘍の増大を誘導するとの仮説を立て検討を行った。この詳しいメカニズムが解明されれば、「フレイルーがん連関」の存在が基礎的にも証明されるとともに、高齢がん患者において、フレイルを評価するこ

とで、がん治療の質の向上につながると考えて検討を行った。

2. 研究方法と経過

2-1 サルコペニアモデルの作成

サルコペニアモデルとして、坐骨神経切断によるサルコペニアモデルを用いた。サルコペニアモデルには各種あるが、拘束型モデルなどではストレスも強く、視床下部・下垂体・副腎系（hypothalamic-pituitary-adrenal axis）の活性化の影響も考慮しなくてはいけないことなどから、今回は坐骨神経切断モデルを用いることとした。対象として sham 手術マウスを用いた。

2-2 サルコペニアモデルでの癌の増殖

SCID マウスに坐骨神経切断を行うことでサルコペニアを誘導し、腫瘍細胞（メラノーマ）をアテロコラーゲン中に混ぜてマウスの右下肢皮下に移植し、がんの進展・転移と生存率について検討した。

2-3 サルコペニアモデルにおける免疫細胞の働き

C57BL6 マウスを用いてサルコペニアマウスを作成し、T細胞をソーティングした後、フラックスアナライザーにてT細胞におけるミトコンドリアの形態的、機能的評価を sham マウスと比較検討した。また、脾臓由来の単核球細胞を抽出し、免疫細胞におけるPD-1の発現について、フローサイトメトリー法にて検討した。

2-4 サルコペニアモデルにおけるアミノ酸投与の影響

ロイシン、イソロイシンの分枝鎖アミノ酸を10%混合した粉餌を、サルコペニアモデル作成8週間後より4週間あるいは8週間投与し、脾臓由来の単核球細胞を抽出し、フラックスアナライザーにてT細胞機能をフローサイトメトリー法にてPD-1受容体の発現について検討した

3. 研究の成果

3-1 サルコペニアモデルにおけるがんの増殖

メラノーマ細胞と移植したマウスの生存曲線を sham マウスならびにサルコペニアモデルマウスとの間で比較すると、サルコペニアマウスにおいて生存日数が少なくなる傾向が見られた。具体的にはサルコペニア群では約60日後にすべての個体が死亡したが、sham群では70日後でも生存するマウスが認められた。しかし、現在までのところ統計学的有意差は認められていない。

3-2 サルコペニアモデルにおける免疫細胞の変化

サルコペニアマウスの脾臓由来 T 細胞のミトコンドリア最大呼吸機能は、sham に比べて顕著に低下し、予備呼吸能も顕著に低下し陰性となったことから、サルコペニアを誘導することで、T 細胞の代謝機能の低下が起こっていることがわかった。

3-3 サルコペニアモデルにおけるアミノ酸投与による影響

細胞培地中に分枝鎖アミノ酸を添加することにより、T 細胞のミトコンドリア機能の回復が濃度依存的に確認された。サルコペニアモデルマウスにロイシンを 1 ヶ月間経口投与することにより、低下したミトコンドリア機能に回復傾向が見られ、最大呼吸能は一部回復、予備呼吸能はプラスとなり絶対値で 10 倍以上増加した。一方、イソロイシン投与による治療効果の確認は見られなかった。

3-4 サルコペニアモデルにおける T 細胞の PD-1 の発現

サルコペニアモデルを用いて T 細胞中の PD-1 の発現をフローサイトメトリー法で検討したところ、サルコペニアモデルにおいては sham マウスと比較して、CD4 subset ならびに CD8 subset の T 細胞において PD-1 の発現の増加を認めた。サルコペニアモデルにおいてロイシンおよびイソロイシンの分枝鎖アミノ酸の投与を行ったところ、上記両分画における PD-1 の発現の増加は、有意に抑制されることが確認された。

以上より、骨格筋の萎縮は T 細胞の機能低下や腫瘍免疫に影響を与え、サルコペニアの存在下では腫瘍の進展がより増大する可能性が示唆された。また、分枝鎖アミノ酸の投与により改善する可能性が示唆された。

4. 今後の課題

今回、サルコペニアモデルマウスにおいて、免疫細胞の機能低下が見出されたこと、PD-1 の発現が増加していることなどから、サルコペニアを有する高齢がん患者においてはがん免疫が低下している可能性が見出された。一方で分枝鎖アミノ酸の投与により免疫細胞の機能低下が改善することや PD-1 の発現増加が抑制されることから、食事介入によりサルコペニア患者におけるがん免疫の回復が期待された。

PD-1 は疲弊した T 細胞上に発現すると言われる。また、分枝鎖アミノ酸、中でもロイシンは mTOR の活性化に重要であることが知られており、mTOR は T 細胞の分化に関与することが知られ、制御性 T 細胞への影響などが報告されている。我々はこれまでに、サルコペニアモデルマウスにおいて Th1/Th17 機能の増強効果が見られ、自己免疫疾患の促進に働く可能性を報告しているが、このようにサルコペニアに伴った免疫細胞の分化に与える影響も関与している可能性もある。

一方で、mTOR は筋肉タンパク質合成を誘導する作用を有しており、骨格筋の減少にも抑制的に働く。高齢者の骨格筋で不可欠なアミノ酸が血中に存在しても mTOR シグナルの活性化が抑制されていることも報告されていることから、実際の高齢者では、筋肉での mTOR の活性が低下していることも考えられ、今回は若年マウスでの検討であるが、老齢のサルコペニアマウスを用いた検討を行うことで、さらに「フレイルーがん連関」の相乗的な影響について理解が深まる可能性がある。

また、がん免疫の低下に関して分枝鎖アミノ酸（ロイシン、イソロイシン）投与の有効性が明らかになり、骨格筋萎縮による免疫異常の介入に、アミノ酸の補充が有用である可能性が示唆された。今後、分枝鎖アミノ酸の投与によるミトコンドリア呼吸酵素との関連性についてのメカニズム、及びサルコペニアを有するがん患者への治療効果向上への影響をさらに検討して行くことで、高齢がん患者の治療効果の向上につなげて行きたいと考えている。

5. 研究成果の公表方法

本研究結果については、さらに詳細な検討を進め、日本サルコペニア・フレイル学会や日本老年医学会などの学会発表で批評を頂いた後、欧米の医学系英文科学雑誌に投稿し広く結果を公表したいと考えている。