

学位論文要約
Extended Summary in Lieu of the Full Text of a Doctoral Thesis

氏 名： 松浦 加奈
Full Name

学位論文題目： Choline-deficient-diet Decreases Fibroblasts in the Circulating Tumor
Thesis Title Cell (CTC) Microenvironment

学位論文要約：
Summary of Thesis

腫瘍組織では、腫瘍細胞の増殖とともに線維芽細胞の増殖や免疫細胞の浸潤、さらには血管新生の誘導によって腫瘍微小環境 (TME : Tumor microenvironment) が構築されている。また、腫瘍患者の末梢血液中には循環腫瘍細胞 (CTC : Circulating tumor cell) が存在するが、CTCも血液中において線維芽細胞とクラスターを形成し、CTC微小環境 (CTC microenvironment) を構築することが明らかになっている。腫瘍患者において、CTCは再発や予後不良の指標であり、CTCやCTC microenvironmentを標的にすることは、腫瘍治療成績の向上に繋がる可能性がある。

コリン欠乏食 (CDD : Choline deficient diet) はメチオニン代謝を阻害し、マウスモデルにおいて脂肪肝炎を誘発する。近年、生活環境の変化に伴い脂肪性肝炎が増加しているが、同病態における腫瘍の転移機序、特に CTC や CTC microenvironment を構成する細胞が、腫瘍転移において果たす役割については十分に解明されていない。本研究では、CDD 誘発マウス脂肪肝炎モデルを用いた悪性リンパ腫の新規転移モデルを作成し、メチオニンの代謝異常や脂肪性肝炎が CTC および CTC microenvironment に及ぼす影響について検討した。

【対象と方法】

緑色蛍光タンパク質 (GFP : Green fluorescent protein) を導入したトランスジェニックマウス (C57BL/6-GFP : 8~10週齢) に、4~12週間CDDまたは対照食 (CD : Control diet) を投与した。CDD投与によって脂肪肝炎を誘発した後、赤色蛍光タンパク質 (RFP : Red fluorescent protein) を導入したマウス悪性リンパ腫細胞 (EL4-RFP : 2×10^6 個) をCDDまたはCD投与マウスの脾臓に移植し、悪性リンパ腫転移マウスモデルを作成した。移植から2週間後にマウスを解剖し、蛍光実体顕微鏡 (SZX7) を用いて原発腫瘍 (脾臓) および転移性肝腫瘍を観察し、形態を比較した。また、門脈および心臓穿刺にて採取した血液 (各々0.2 ml) を用いて塗抹標本作製し、同標本におけるCTCの数を測定し、共焦点顕微鏡 (FV1000) で観察した。さらに、CDDおよびCD投与マウスの血液中の循環細胞を数日間培養し、共焦点顕微鏡にて細胞の形態を観察することで、2群間における血中線維芽細胞の相違を検討した。

【結果】

解剖時、CD および CDD マウスの 2 群間において、脾臓の原発腫瘍の大きさに有意差は認めなかった。肝転移性腫瘍の数は、CDD マウスより CD マウスにて増加する傾向を示したが、有意差は認めなかった。また CD マウスと CDD マウスの門脈血および心臓血を比較検討したところ、CTC の数に有意差は認めなかった。採取した血液を培養し血液中の細胞を観察したところ、門脈血の培養における線維芽細胞数は、CDD マウスより CD マウスにて有意に多く観察された ($p = 0.029$)。心臓血の培養では、CD マウス、CDD マウスともに線維芽細胞はほとんど観察されなかった。

【考察】

今回の研究では、RFP によって標識されたマウス悪性リンパ腫細胞を GFP トランスジェニックマウスに移植し、腫瘍転移モデルを作成した。本腫瘍転移モデルマウスは、原発腫瘍や転移性肝腫瘍の形態観察に加え、末梢血液中の CTC を評価することが可能であり、CTC および CTC microenvironment の転移における役割を解析するのに非常に有用である。今回の研究結果より、転

移性肝腫瘍を多く認める CD マウスの門脈血中において、CTC とクラスターを形成する線維芽細胞が増加していることが明らかになった。本研究結果は、CTC microenvironment における線維芽細胞が、転移において重要な働きを果たしている可能性を示唆するものである。コリンはメチオニンの前駆体であるが、CDD 投与マウスではメチオニンレベルが低下することで、腫瘍の増殖・転移に必要なメチオニン代謝が阻害され、線維芽細胞の移動が抑制された可能性が考えられた。一方、肝脂肪化が腫瘍転移の促進や抑制、さらには CTC/CTC microenvironment に及ぼす影響については、さらなる検討が必要である。

【結論】

CTC とクラスターを形成し腫瘍の増殖・転移に深く関与する線維芽細胞は、メチオニン代謝異常をきたすコリン欠乏食投与マウスの門脈血中において有意に減少していた。メチオニン代謝の異常やリプログラミング、さらには肝内コリンの欠乏は、CTC や CTC microenvironment を制御することで腫瘍の転移を抑制する可能性がある。