

Title	Anti-Interleukin-6 receptor antibody prevents muscle atrophy in colon-26 adenocarcinoma bearing mice with modulation of lysosomal and ATP-ubiquitin dependent proteolytic pathways.
Author(s)	藤田, 淳也
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40046">https://hdl.handle.net/11094/40046</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について〈/a〉をご参照ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	藤田 淳也
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 13050 号
学位授与年月日	平成9年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科外科系専攻
学位論文名	Anti-Interleukin-6 receptor antibody prevents muscle atrophy in colon-26 adenocarcinoma bearing mice with modulation of lysosomal and ATP-ubiquitin dependent proteolytic pathways. (C-26担癌マウスにおける抗IL-6レセプター抗体の骨格筋萎縮抑制作用)
論文審査委員	(主査) 教授 門田 守人  (副査) 教授 高井新一郎 教授 平野 俊夫

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

担癌時には筋蛋白の異化は亢進し全身の骨格筋は萎縮を呈する。この現象を抑制することは外科治療あるいは化学療法を施行する上で、また患者のQOLを改善する上でも有用であると考えられる。今回我々は、癌性悪液質時に認められる筋蛋白分解亢進に対するIL-6の関与を明らかにするためColon26 adenocarcinoma (C-26) 担癌マウスに抗マウスインターロイキン6 (IL-6) レセプター抗体 (MR16-1) を投与し、筋重量の変化および筋細胞内蛋白分解系に対する検討を行った。

#### 【方法】

6週齢BALB/cマウスの背部皮下に麻酔下に8mgのC-26腫瘍(腫瘍細胞数約 $1 \times 10^5$ 個)を移植した。

【実験1: 血中パラメーター測定】 腫瘍移植直前に抗マウスIL-6レセプター抗体(MR16-1) 2mg/bodyを静脈内投与し、7日目および11日目に同抗体0.5mg/bodyを皮下投与した。11日目に眼窩静脈叢より採血し、血清中のIL-6濃度(ELISA)、赤血球、白血球、血小板、グルコース、トリグリセライド、 $Ca^{++}$ およびIP濃度を測定した。

【実験2: 骨格筋内蛋白分解酵素系に対する検討】 C-26担癌マウスに対し腫瘍移植後4日目より16日目までMR16-1 0.5mg/bodyを隔日に反復皮下投与した。17日目に体重、腫瘍重量、腓腹筋重量、副睾丸脂肪組織重量を測定し、腓腹筋中のカテプシンB、B+L活性をBarrettの方法にて測定した。また、対側の腓腹筋および大腿四頭筋よりRNAを抽出し、カテプシンB、L、カルパインサブユニット、ポリユビキチン、およびプロテアソームサブユニットのcDNAを用いてノーザンブロット法にて各々のmRNAを定量した。

両実験ともに正常対照群および担癌対照群にはラットIgGを各々同様のスケジュールにて投与した。また担癌対照群の1日当たりの摂食量を連日測定し他の2群にも同量を投与し3群ともpair feedingとした。

#### 【成績】

【実験1】 C-26腫瘍はIL-6を産生することが報告されているが、本実験でも担癌対照群の血中IL-6値は $1142 \pm 282$ pg/mlと正常群に比べ著明に上昇していた。同時に担癌対照群では血小板、血中 $Ca^{++}$ の増加およびIPの減少が認められたが、MR16-1投与によってこれらの変化が抑制されたことより本実験におけるMR16-1のIL-6の生理活性遮断効果が確認された。一方、C-26担癌+MR16-1群では血中のIL-6の値は $4150 \pm 955$ pg/mlと

担癌対照群以上の高値を示した。この原因は不明であるが、本抗体投与によって IL-6 産生の up-regulation あるいは血中 IL-6 のクリアランスの低下が生じた可能性が考えられる。

〔実験 2〕 正常群および担癌対照群の腓腹筋重量はそれぞれ  $130 \pm 2.6$ mg, および  $89 \pm 6.3$ mg で担癌マウスの腓腹筋には著明な萎縮が認められた。MR16-1 投与群は  $109 \pm 2.9$ mg で、その筋重量の減少は有意に抑制された。担癌対照群のカテプシン B, B-L 活性は、正常群に比して上昇する傾向が認められ、B-L 活性の上昇は MR16-1 の投与にて有意に抑制された。また骨格筋中の各蛋白分解酵素系の mRNA の変化に関しては、担癌対照群のカテプシン B, B-L, ポリユビキチン, およびプロテアソームの各サブユニットの mRNA 量はすべて正常群に比べて増加が認められた。これらの変化の中で、カテプシン L, ポリユビキチンの上昇は MR16-1 投与によって有意に抑制された。カルパインサブユニットについては 3 群とも差は認めなかった。

#### 【総括】

病的状態における筋崩壊を誘導する因子として Tumor Necrosis Factor (TNF) が提唱されてきたが in vitro の実験では TNF の筋蛋白分解系に対する直接作用は証明されていない。以前より我々は培養筋管細胞に各種サイトカイン (IL-1, IL-6, INF- $\gamma$ , TNF) を投与し細胞内蛋白の半減期を測定することによりその蛋白分解に与える影響を検討してきたが、IL-6 のみが蛋白分解を亢進させる作用を持つという結果を得ている。また IL-6 トランスジェニックマウスの骨格筋の検討には細胞内蛋白分解酵素系の活性化と著明な筋萎縮を確認している。本実験の結果より C-26 担癌時に生じる筋萎縮は IL-6 によって誘導され、そのメカニズムとしてはリソソーム蛋白分解酵素のカテプシン系と ATP-ユビキチン依存性蛋白分解系双方の亢進が関与しているものと推察された。また、IL-6 レセプター抗体投与は担癌時の筋萎縮の抑制に有用であると考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

臨床上しばしば経験する癌性悪液質では全身の蛋白代謝動態は変動をきたし骨格筋蛋白の分解は異常に亢進することが知られている。本研究は Colon 26 adenocarcinoma 担癌マウスを用いてインターロイキン 6 (IL-6) の骨格筋崩壊亢進作用のメカニズムを解明したものである。同腫瘍を移植されたマウスの腓腹筋は萎縮しその重量は減少したが、同時に筋細胞内ではリソソーム系蛋白分解酵素であるカテプシン系および ATP 依存性蛋白分解系の双方の mRNA レベルの発現が増強することが認められた。このマウスの血中 IL-6 は高値を呈しており、抗 IL-6 レセプター抗体を投与することによってこれらの蛋白分解系の変化は抑制され筋重量の減少も改善することが確認された。

本論文は担癌時において IL-6 が筋細胞内蛋白分解系の発現を増強することを初めて明らかにし、筋萎縮に対する抗 IL-6 レセプター抗体の有用性を示した点で高く評価でき学位に値すると考える。