

研 究 報 告 書  
令和5年度：A課題

令和7年 4月 20日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀 田 知 光 殿

研究施設 県立広島大学 生物資源学部

住 所 〒727-0023  
広島県庄原市七塚町 5562 番地

研究者氏名 岡田 守弘

(研究課題)

臓器関連因子の理解に基づく新規がん悪液質治療法の開発

令和6年 3月18日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

## 【背景と目的】

がん悪液質は進行がん患者の 80%以上に認められ、がんによる死亡の 30%を占めると考えられている (AK. Biswas and S. Acharyya, *Nat Rev Cancer*, 2020)。しかし、現在、がん悪液質を完全に回復させる有効な医療介入はない。がん悪液質研究が立ち遅れている主要な原因は、がん悪液質は全身性の代謝障害のため「個体を使った解析」が必須であるにもかかわらず、その解析が困難な点にある。

現状を打破するために、申請者はショウジョウバエを用いてがん悪液質研究に取り組んできた。大規模なスクリーニングを遂行し、がん細胞から分泌されてがん悪液質を誘導する因子の同定を試みて、最終的に「ネトリン」タンパク質ががん悪液質誘導因子であることを発見した。分泌されたネトリンは、がん細胞から離れた組織に作用してカルニチン代謝異常を引き起こし個体を不調にした (M. Okada *et al.*, *EMBO J.*, 2023)。しかし、依然としてその詳細な分子基盤とその普遍性は明らかではない。そこで本研究では、マウスがん悪液質モデルとショウジョウバエ担がんモデルを用いてがん-宿主連関解析を駆使して、がん悪液質を司る液性因子の分子機構と普遍性を明らかにすることを目指した。

## 【研究方法】

1. ネトリンは神経軸索の誘引因子としての機能が広く知られている (T. Serafini *et al.*, *Cell* 1996)。我々は、ネトリンが離れた臓器同士を連関させる液性シグナルとして機能し、全身の代謝をリモデリングする新規機能を発見した (M. Okada *et al.*, *EMBO J.*, 2023)。しかし、ネトリンがホルモンのように臓器同士を連関される機能は他のモデル生物では全く知られていない。本研究では、ネトリンタンパク質の臓器連関因子としての普遍的な機能を明らかにするため、ネトリンタンパク質をマウス尾静脈に投与し、肝臓における代謝変動の解析を行った。実験には以下の 3 つの条件を設定した。(A)ネトリンタンパク質 1 $\mu$ g を尾静脈投与した群、(B)PBS を尾静脈投与した群 (コントロール 1)、(C)熱処理によって不活化したネトリン 1 $\mu$ g を尾静脈投与した群 (コントロール 2)。各群において、マウス尾静脈投与後、12 時間および 24 時間経過時点で肝臓サンプルを採取し、急速冷凍を行った。その後、採取した肝臓から RNA を抽出し、全 30 匹のサンプルについて網羅的な RNA-seq 解析を実施した。
2. ショウジョウバエ担がんモデルを用いてがん悪液質を誘導する液性候補因子の探索を行った。具体的には、野生型の組織とがんを誘導した組織から RNA を抽出し、網羅的な RNA-seq 解析を実施した。その後、がん組織のみで発現が上昇している遺伝子に着目して、組織特異的な RNAi スクリーニングを行った。その際、担がん個体の生存率を指標にして候補因子の絞り込みを行った。

## 【実験結果】

### ネトリンの臓器連関因子としての機能の普遍性の検証

3 つの条件: (A)ネトリンタンパク質 1 $\mu$ g を尾静脈投与した群、(B)PBS を尾静脈投与した群 (コントロール 1)、(C)熱処理によって不活化したネトリン 1 $\mu$ g を尾静脈投与した群 (コントロール 2)、を設定し、実験を行った。そして、各群において、マウス尾静脈投与後、12 時間および 24 時間経過時点で肝臓サンプルを採取し、急速冷凍を行った。その後、採取した肝臓から RNA を抽出し、全 30 匹のサンプルについて網羅的な RNA-seq 解析を実施した。

ネトリンタンパク質を投与した群では、コントロール群と比較して発現量に有意な変動を示す遺伝子が複数同定された。ネトリンタンパク質 1 $\mu$ g を尾静脈投与した群では、マウス尾静脈投与後、12 時間で 134 遺伝子が有意に上昇し、180 遺伝子が有意に減少した。また、24 時間では、158 遺伝子が有意に上昇し、165 遺伝子が有意に減少した。その中には機能未知の遺伝子が複数含まれていた。注目すべき所見として、ネトリンを投与することでコレステロール合成関連遺伝子が顕著に上昇していた。また肝臓の炎症に関与する遺伝子の上昇もネトリンタンパク質の投与によって認められた。これらの結果は、ネトリンが肝臓における遺伝子発現の調節に関与している可能性を示唆するものであり、ネトリンが臓器連関を介して代

謝機能を調整する因子として普遍的に機能している可能性が考えられる。今後は同定された遺伝子の詳細な機能解析を通じて、ネトリンの作用メカニズムの解明を進める予定である。

#### がん悪液質を誘導する液性因子候補の同定

ショウジョウバエ担がん個体を用いて、網羅的な遺伝子発現解析と RNAi スクリーニングを駆使して、新たながん悪液質誘導因子を探索した。そして、がん悪液質誘導因子候補として「ムチン」を同定した。がん細胞から分泌されたムチンは、その分子機構は依然と不明であるが、全身の糖代謝異常を誘導することを明らかにした。さらに、ムチンに起因する全身の糖代謝異常が原因で担がん個体は不調になり死亡することを見出した。一方、遺伝学を用いてがん細胞特異的にムチンを阻害すると、全身の糖代謝異常が正常レベルに回復し、それに伴い担がん個体の生存率も顕著に上昇した。その際、がん細胞でムチンを阻害しても、がん自体の増殖や大きさには影響を与えなかった。

これらの結果から、がん細胞で発現が上昇したムチンは体液中に分泌され、臓器関連因子として機能する可能性が示唆される。

#### **【謝辞】**

本研究を実施するにあたり、公益財団法人がん研究振興財団からの温かいご支援に深謝申し上げます。