

令和元年6月17日現在

機関番号：34428

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15461

研究課題名(和文) がん治療後に持続する情動障害におけるプロスタノイド受容体CRTH2の役割の解明

研究課題名(英文) The role of prostanoid receptor CRTH2 on the emotional dysfunction lasting after cancer treatment

研究代表者

尾中 勇祐 (Onaka, Yusuke)

摂南大学・薬学部・講師

研究者番号：90749003

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：近年、がん患者で認められる脳機能障害は、治療後も長期間持続する可能性が示されつつある。本研究では、形成させた腫瘍を切除した後のマウスにおいて認められるうつ様行動が、海馬におけるプロスタノイド受容体CRTH2を介して引き起こされる可能性とともに、腫瘍を切除した後のマウスの海馬においてミクログリアの機能が低下する可能性を示した。本成果は、がん治療後に持続する脳機能障害に対して、海馬における特定のシグナルを標的とした治療の有効性を示すものと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん患者では、抑うつ症状や注意力の低下などの精神機能障害が認められることがあり、一部のがん患者では、治療の終了後も、これらの障害が長期的に認められる場合がある。しかし、そのメカニズムの詳細は不明であった。本研究では、腫瘍の形成とその切除により引き起こされる精神機能障害のメカニズムの一端に、海馬の機能異常が関与する可能性を明らかにした。腫瘍の切除後において認められる海馬の機能異常を標的とした治療を行うことで、がん治療後に持続する精神機能障害の緩和につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：Recently, it has been reported that cancer-related brain dysfunctions would last for a long time after the completion of treatment. This study revealed that depression-like behavior, which was seen in tumor-resected mice, might be mediated by a hippocampal prostanoid signaling via CRTH2 receptor in mice. The present study also found that microglial dysfunction was caused in the hippocampus of tumor-resected mice. These data suggest that the treatment which targets hippocampal specific signaling could be an efficacious strategy.

研究分野：神経薬理学

キーワード：CRTH2 プロスタグランジン がん 精神機能障害 行動薬理学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、長期的なフォローアップ解析の結果から、がん患者で認められる精神機能障害が、がん治療後も持続して認められる場合があることが報告されている(Wefel et al. Lancet Oncol 2011)。今後、がんの治療法の確立により、患者の生存率が増加するにつれ、治療後に持続する精神機能障害に悩む患者は増加すると考えられるが、その詳細な発症メカニズムは不明である。研究代表者は、これまでに、がん細胞を接種後、形成される腫瘍を外科的に切除したマウスにおいて、腫瘍の形成とともに認められる身体変化や末梢炎症は消失するものの、情動・認知障害は持続して認められることを見出し、本マウスが未だ報告の無い、がん治療後に持続する精神機能障害のモデル動物になる可能性を示した。

一方で、プロスタグランジン(PG)D₂は脳内で最も多く存在するPGであり、その受容体の1つであるchemoattractant receptor homologous-molecule expressed on Th2 cells (CRTH2)は、末梢組織における炎症反応の促進に関与することが知られている(Kostenis et al. Trends Mol Med. 2006)。これまでに、研究代表者は、CRTH2の遺伝子欠損マウスや拮抗薬を使った行動薬理的解析から、腫瘍切除後に持続する情動障害の発現にCRTH2が関与することを見出している。このことは、がん治療後に持続する情動障害の発症メカニズムの一部を、CRTH2が担っている可能性を示唆している。

2. 研究の目的

これまでに、腫瘍を切除したマウスで認められる情動障害にCRTH2シグナルが関与することが明らかになっているが、CRTH2が関与する神経基盤等は不明である。そこで、本研究では、腫瘍を切除したマウスにおいて、CRTH2シグナルが亢進している脳領域の特定と、脳内細胞の機能変化の有無を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1)腫瘍切除マウスの作製

マウス大腸がん細胞株であるcolon26を7週齢の雄性BLAB/cマウスの腹部に皮内投与後3日目に形成された腫瘍を外科的に切除した。発現解析や細胞の形態解析に使用したサンプルはすべて、細胞投与後7日目に採取した。

(2)脳内分子の発現解析

マウスから海馬、視床下部、扁桃核、前頭前皮質を採取し、タンパク質を抽出した後、ウェスタンブロッティングを行った。プロスタグランジンの律速酵素であるcyclooxygenase (COX)-1およびCOX-2、神経細胞のマーカー分子であるNeuNおよびβ-tubulin、アストロサイトのマーカー分子であるGFAP、オリゴデンドロサイトのマーカー分子であるOSP、ミクログリアのマーカー分子であるIba1に対する抗体を使用し、腫瘍切除マウスの脳内における各分子の発現を解析した。

(3)CRTH2アゴニストの脳内投与と行動薬理的解析

脳定位固定装置を使い、海馬にガイドカニューレを挿入した後、口腔用セメントにて固定した。1週間以上の回復期間の後、CRTH2アゴニストであるDK-PGD₂を投与し、15分後に社会性行動試験により評価した。社会性行動試験では、幼若マウス(3週齢の雄性マウス)に対する行動を5分間ビデオ撮影した。幼若マウスに対する試験マウスのおいかぎ行動や追尾行動を社会性行動として、計測した。

(4)ミクログリアの形態解析

腫瘍切除マウスの脳を灌流・固定した後、パラフィン包埋し、切片を作製した。Iba1に対する抗体を使って蛍光免疫染色を行い、共焦点顕微鏡にて画像を取得後、Iba1陽性細胞の突起長や細胞体面積を求めた。

4. 研究成果

(1)COXの発現解析

複数の脳領域における、COX-1およびCOX-2の発現量を解析したところ、腫瘍切除マウスの海馬において、COX-1の発現増加が確認できた。一方で、腫瘍切除マウスの他の脳領域において、コントロールマウスと比較して、COX-1およびCOX-2の発現量の変化は認められなかった。このことから、腫瘍切除マウスでは、海馬において選択的にPGシグナルが亢進している可能性が考えられた。

(2)CRTH2アゴニストが社会性行動に与える影響

腫瘍切除マウスの海馬において、PGシグナルが亢進する可能性が考えられたため、次に、海馬のCRTH2シグナルの亢進が、ナীবマウスの行動に与える影響を評価した。その結果、海馬へのCRTH2アゴニストの直接投与は、用量依存的に社会性行動を減少させる傾向を示した。なお、今回用いた用量のアゴニストは、自発運動量の変化を引き起こさないことを確認し

ている。このことは、海馬における CRTH2 シグナルが、社会性の低下に直接関与している可能性を示している。

(3) 海馬における各種細胞マーカーの発現解析

腫瘍切除マウスの海馬において、どのような細胞種の機能変化が情動障害に起因しているのかを明らかにする目的で、各種細胞のマーカー分子の発現量を解析したところ、ミクログリアのマーカー分子である、Iba1 の発現量が、腫瘍切除マウスの海馬において減少することを明らかにした。そこで、Iba1 の免疫染色により、ミクログリアの形態解析を行ったところ、腫瘍切除マウスの海馬における Iba1 陽性細胞の突起長が有意に減少することを明らかにした。ミクログリアは、生理的条件下において、シナプス剪定等の過程を経て、神経細胞の機能調節を行っていると考えられていることから、今回の結果は、腫瘍切除マウスの海馬では、ミクログリアの機能が低下している可能性を示すものである。なお、腫瘍切除マウスの海馬において、神経細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイトの各マーカー分子の発現量の変化は認められなかった。

(4)まとめ

本研究では、腫瘍切除マウスで認められる情動障害の発現において、海馬の PG シグナルが重要な役割を果たしている可能性を見出すとともに、腫瘍切除マウスの海馬において、ミクログリアの機能低下が示唆された。これらの成果は、がん治療後に長期間持続する情動障害に、海馬の機能変化が関与する可能性を示しており、今後、PG シグナルやミクログリアの機能変化を標的とした治療につながることを期待できる。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Nishiyama N, Yamaguchi T, Yoneyama M, Onaka Y, Ogita K Disruption of Gap Junction-Mediated Intercellular Communication in the Spiral Ligament Causes Hearing and Outer Hair Cell Loss in the Cochlea of Mice, *Biol. Pharm. Bull.* 査読あり, 42, 73-80, 2018

Yamaguchi T, Yoneyama M, Onaka Y, Imaizumi A, Ogita K, Preventive effect of curcumin and its highly bioavailable preparation on hearing loss induced by single or repeated exposure to noise: A comparative and mechanistic study. *J Pharmacol Sci*, 査読あり, 134 (4):225-233, 2017

〔学会発表〕(計 4 件)

尾中勇祐、田中優衣、新谷紀人、吾郷由希夫、中澤敬信、米山雅紀、山口太郎、荻田喜代一、橋本均腫瘍切除後に持続する脳機能障害へのプロスタグランジン D2 合成系の関与。第 133 回日本薬理学会近畿部会、2018 年 6 月 1 日

尾中勇祐、新谷紀人、中澤敬信、吾郷由希夫、木野村元彦、田邊航、荻田喜代一、橋本均、がん治療後に持続する高次脳機能障害におけるシクロオキシゲナーゼの関与、第 130 回日本薬理学会近畿部会、2016 年 11 月 19 日

新谷紀人、尾中勇祐、木野村元彦、中澤敬信、橋本均、がんサバイバーの持続的脳機能障害を呈する動物モデル、第 90 回日本薬理学会年会、2017 年 3 月 17 日

尾中勇祐、田中優衣、田邊航、新谷紀人、中澤敬信、吾郷由希夫、米山雅紀、山口太郎、橋本均、荻田喜代一、腫瘍切除後マウスにおける炎症関連分子の発現変化と情動障害への関与、日本薬学会第 138 年会、2018 年 3 月 26 日

〔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

摂南大学薬学部薬理学研究室 HP

<http://www.setsunan.ac.jp/~p-yakuri/>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：橋本均、新谷紀人、中澤敬信、吾郷由紀夫、荻田喜代一、米山雅紀、山口太郎

ローマ字氏名：HASHIMOTO HITOSHI, SHINTANI NORIHITO, NAKAZAWA TAKANOBU, AGO YUKIO, OGITA KIYOKAZU, YONEYAMA MASANORI, YAMAGUCHI TARO

※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。