

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02724

研究課題名（和文）脳内神経炎症を機軸とした癌関連疲労および悪液質病態の解明

研究課題名（英文）Study of cancer-related fatigue and cachexia from the point of view of neuroinflammation

研究代表者

片岡 洋祐（Yosky, Kataoka）

国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・チームリーダー

研究者番号：40291033

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,600,000円

研究成果の概要（和文）：担がんマウスを作製し、体重減少や骨格筋の萎縮から悪液質の誘発を評価した。ファイバー型顕微内視鏡技術により腫瘍内の微小環境や腫瘍細胞増殖活性と悪液質の惹起との関係を調べたところ、腫瘍内の低酸素領域の形成などの不均一性の出現が悪液質の誘発と関係することが見いだされた。特に、腫瘍内微小環境の変化が脳内神経炎症などを介して自律神経機能を低下させ、がん性疲労や悪液質を惹起することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん関連疲労およびがん性悪液質は、がん患者にとって深刻な苦痛であり、さらにはがん治療継続の意思決定にも強く関わるため、患者の予後に大きく影響する。こうした病態に対して医学的対策の重要性が認識されてきたにも関わらず、現在もその発生メカニズムは十分わかっておらず、予防・治療法も確立されていない。本研究により腫瘍内の環境と脳機能や全身臓器のはたらきとの関係が明らかになれば、がん関連疲労およびがん性悪液質の予防・治療法の開発が大きく前進するため、社会的意義はきわめて大きい。

研究成果の概要（英文）：We have prepared cancer-bearing mice, and evaluated the induction of cancer-related fatigue and cachexia by monitoring weight loss and skeletal muscle atrophy in those mice. Observation of cancer micro-environment and cancer cell proliferative activity under the cachexia by using fiber bundle-based micro-endoscopy revealed that heterogeneity of tumor tissue including generation of hypoxic regions was involved in the induction of cachexia. Particularly, cancer microenvironment is thought to affect systemic organs through neuroinflammation in the brain and dysfunction of the autonomic nervous system.

研究分野：生理学・組織学

キーワード：がん性悪液質 がん関連疲労 神経炎症 中枢神経 顕微内視鏡 広域電子顕微鏡

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

がん関連疲労およびがん性悪液質は、がん患者の QOL ならびに予後を大きく左右する。米国 NCCN ガイドライン(2016 ver1)によるとがん関連疲労は「がんやがん治療に伴う肉体的、精神的、認知的な倦怠または消耗による辛く永続的な主観的感覚で、普段の機能を障害するもの」と定義されている。がん関連疲労はがん患者にとって深刻な苦痛であり、さらにがん治療継続の意思決定にも強く関わるため、患者の予後に大きく影響する。このように、長年、がん関連疲労の医学的対策の重要性が認識されてきたにも関わらず、現在もその発生メカニズムは十分わかっておらず、予防・治療法も確立されていない。

申請者はこれまでに、さまざまな原因による疲労倦怠感が、脳内でミクログリアが産生するインターロイキン 1 (IL-1) により引き起こされていることを証明してきた (Yamato et al., *PLoS ONE*, 2014)。また、脳内でのミクログリアの活性化を伴う神経炎症は、自律神経機能の持続的異常 (持続的副交感神経機能の低下) を招くこともわかっており、がん患者がたとえ身体を休めていても全身の代謝は低下することなく亢進し続け、急激な体重減少と多臓器不全を招いて死に至る、言わば”中枢性の Death Signal” によってがん患者はがん死するとの仮説を立てた。そこで、脳内神経炎症と、がん性悪液質病態との関係を明らかにすべく、研究を実施した。

### 2. 研究の目的

がん関連疲労およびがん性悪液質は、がん患者の QOL ならびに予後を大きく左右する。申請者らは、これまでにがん性悪液質病態を再現した担がんマウスにおいて、脳内で免疫応答を担当するミクログリアの活性化と、インターロイキン 1 (IL-1) を含む炎症性サイトカインの持続的な発現上昇 (神経炎症) が引き起こされていることを発見した。また、脳内に IL-1 を投与して神経炎症を惹起すると、担がん動物でなくとも個体死にも繋がる急激な体重の減少が現れ、がん性悪液質に酷似する病態が再現されることも見出している。そこで、がん関連疲労や悪液質病態の発生には脳内の神経炎症が深く関わるとの仮説を立てた。本申請研究では、担がんマウスを対象にがん性悪液質モデルを作製し、腫瘍内微小環境と脳内神経炎症、そして全身臓器の機能について、その関係を明らかにするための研究法を構築し、3 者間の病態生理学的関係を解明することを目的とした。

### 3. 研究の方法

マウス大腸がん細胞株やヒト線維肉腫由来細胞株を移植した担がんマウスを作製し、がん関連疲労・がん性悪液質を誘導した。悪液質病態は、体重減少、特に筋肉量・脂肪量の減少を体重測定ならびに X 線 CT 撮像を経時的に行うことで評価した。さらに、骨格筋や心筋、脳などの各臓器について、動物屠殺後に組織学的変化を検討した。また、脳内神経炎症については当該担がんモデル動物における脳内ミクログリアの活性化を組織化学的に、さらに、IL-1、IL-6、TMF などの炎症性サイトカイン等、各種サイトカインの発現を PCR によって測定することで評価した。自律神経機能については心電図測定による心拍変動解析により評価した。

また、腫瘍内微小環境についてはファイバー型顕微鏡内視鏡を用いたライブイメージング技術を駆使して観察し、特に腫瘍細胞増殖活性については Fucci 5 をがん細胞株へ導入することで評価した。さらに、腫瘍や脳内の超微構造の変化について、広域電子顕微鏡技術を用いて広い範囲 (数 mm 四方) を一枚の画像内で観察・評価した。

#### 4. 研究成果

マウス大腸がん細胞株やヒト線維肉腫由来細胞株を移植した担がんマウスを作製し、がん関連疲労・がん性悪液質モデル動物を用意した。大腸がん細胞を移植した担がんマウスでは、脳内でインターロイキン1を含むサイトカインの発現上昇（神経炎症）が引き起こされていることを確認した。しかし、

本細胞株を移植したモデルでは、腫瘍重量の増加に比して悪液質の指標となる体重減少が惹起される効率が悪く、他のデータ取得が困難であった。そこで新たに、ヌードマウスへヒト線維肉腫由来細胞株を移植した担がん動物を作製した。当モデルでは腫瘍重量の増加に比して早期に体重減少がみら

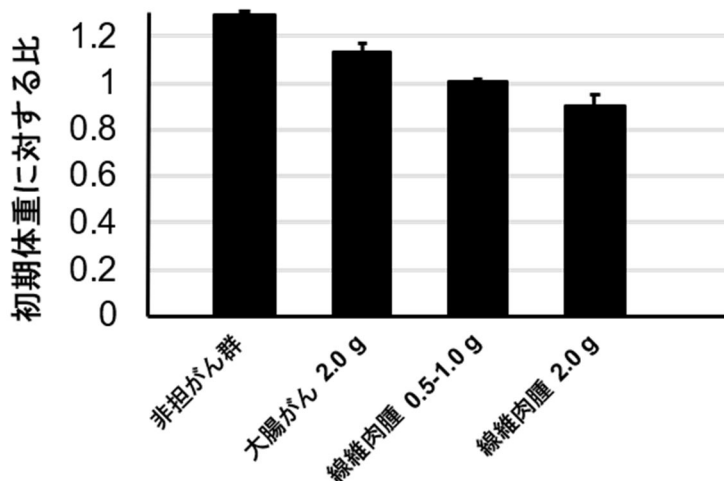


図1 非担がんマウスおよび各担がんマウスの初期体重に対する体重比（数字は腫瘍重量）

れ、効率よくがん性悪液質モデルを再現することができた（図1）。そして、当悪液質モデル動物に対するX線CTでの全身撮像により、骨格筋のみならず、心臓においても筋肉量が減少していること、さらに、脾臓体積も減少していることがわかった。また、顕微鏡を用いた組織学的観察により、骨格筋ならびに心筋の筋線維が萎縮していることが確認できた（図2）。

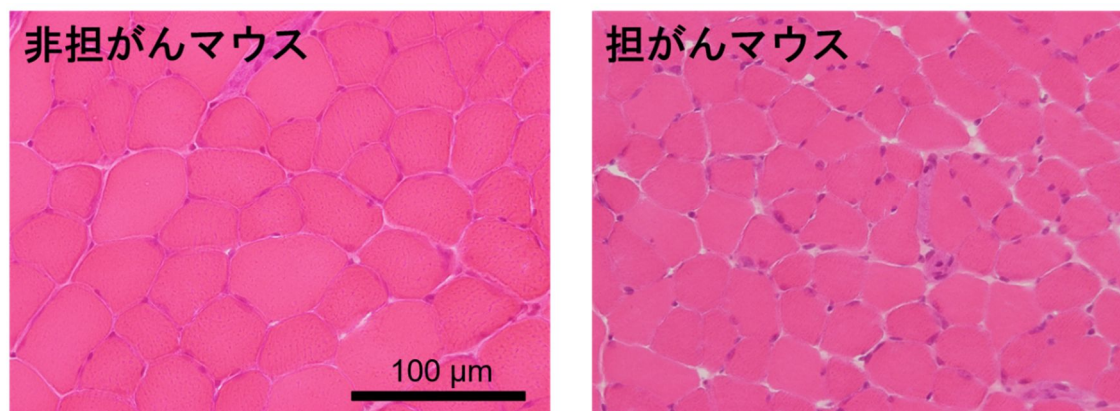


図2 骨格筋のH.E.染色像

また、細胞周期インジケータであるFucci 5を導入した腫瘍細胞をマウスへ移植して担がんモデルマウスを作製し、ファイバー型顕微内視鏡にてライブイメージングした。顕微内視鏡の光ファイバー先端を経皮的に腫瘍組織表面から腫瘍内へ一定速度で刺入しながら動画撮像し、ファイバー先端が通過した組織中の腫瘍細胞一つひとつの増殖活性をライブイメージングした後、動画画像を再構成してファイバー先端が通過した組織像を二次元画像として描出することに成功した（図3）。その結果、腫瘍の増殖活性は、腫瘍表面に近い領域では非常に高いが、腫瘍の中心部へ近づくと増殖活性が低下する領域が存在することがわかった。特に増殖活性が低下している領域は血管の侵入が乏しく、低酸素領域と一致することもわかった。そこで、悪液質病態へと進展していく過程でファイバー型顕微内視鏡技術を用いた腫瘍微小環境のライブイメージングを経時的に実施した結果、大腸がん株と比較して悪液質を早期に誘発したヒト線維

肉腫株については腫瘍内低酸素領域の形成など、組織不均一性も早期に出現し、腫瘍内微小環境変化が悪液質の誘発に関係している可能性が見いだされた。さらに、線維肉腫株の生体内での増殖活性は必ずしも高くないこともわかり、腫瘍の増殖活性は悪液質誘発とは直接関係しないことも示唆された。今後、腫瘍内での細胞変性や分化異常（上皮間葉転換）等に注目し、さらに詳細な研究へと展開したい。

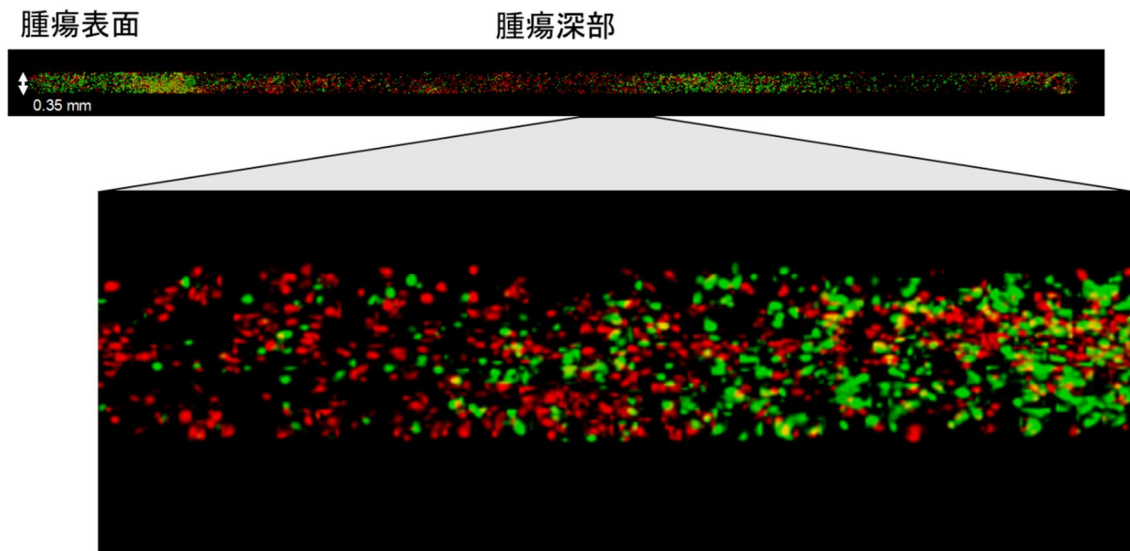


図 3 ファイバー型顕微内視鏡イメージング動画の2次元再構成画像（緑色：増殖している腫瘍細胞の核 赤：増殖していない腫瘍細胞の核）

中枢神経組織を網羅的に評価できる広域電子顕微鏡技術を用いた研究では、悪液質を起こした動物の脳皮質ニューロンの細胞質において変性物質の蓄積や細胞小器官の数の変化などが観察された。また、脳内サイトカイン発現の上昇も確認された。こうした研究成果より、がん性悪液質はさまざまな末梢臓器の変化を伴うだけでなく、中枢神経組織でのサイトカイン発現、さらには細胞代謝異常をも引き起こしている可能性が示唆された。また、心拍変動解析から中枢神経炎症が自律神経機能を低下させることもわかり、腫瘍環境と中枢神経機能、そして末梢臓器の三者の間で機能的連関が存在すること、特に腫瘍内の微小環境変化が悪液質の誘発に直接関係していることや、中枢神経炎症が自律神経機能異常を通して末梢臓器機能へ影響することが少しずつ明らかとなってきた。今後、悪液質病態を惹起する腫瘍内因子について引き続き解明を急ぎ、がん性疲労やがん性悪液質の予防法の開発へとつなげていきたい。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 田村泰久、片岡洋祐	4. 巻 34
2. 論文標題 脳内神経炎症から神経を保護するグリア細胞	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本認知症学会誌	6. 最初と最後の頁 8-12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 田村泰久、片岡洋祐	4. 巻 93
2. 論文標題 炎症制御を介した神経保護に関わるグリア	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 脳神経内科	6. 最初と最後の頁 397-402
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kitami, T., Fukuda, S., Kato, T., Yamaguti, K., Nakatomi, Y., Yamano, E., Kataoka, Y., Mizuno, K., Tsuboi, Y., Kogo, Y., Suzuki, H., Itoh, M., Morioka, M.S., Kawaji, H., Koseki, H., Kikuchi, J., Hayashizaki, Y., Ohno, H., Kuratsune, H., Watanabe, Y.	4. 巻 10
2. 論文標題 Deep phenotyping of myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome in Japanese population.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci. Rep.	6. 最初と最後の頁 19933
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-77105-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Sugita, S., Yamato, M., Hatabu, T., Kataoka, Y.	4. 巻 11
2. 論文標題 Involvement of cancer-derived EMT cells in the accumulation of 18F-fluorodeoxyglucose in the hypoxic cancer microenvironment.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci. Rep.	6. 最初と最後の頁 9668
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-88414-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yamano, E., Watanabe, Y., and Kataoka, Y.	4. 巻 22
2. 論文標題 Insight into metabolite diagnostic biomarkers for myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int. J. Mol. Sci.	6. 最初と最後の頁 3423
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22073423	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計44件(うち招待講演 18件/うち国際学会 13件)

1. 発表者名 Kataoka, Y., Tamura, Y., Yamato, M., Eguchi, A., Takata, K., Goto, T., Maeda, M.
2. 発表標題 Large-scale electron microscopy and imaging big data.
3. 学会等名 第126回日本解剖学会・第96回日本生理学会大会合同大会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kataoka, Y.
2. 発表標題 Large-scale electron microscopy and imaging big data.
3. 学会等名 A3 Foresight Program Meeting 2020(国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 片岡洋祐
2. 発表標題 疲労倦怠感と脳内神経炎症
3. 学会等名 第52回京阪泌尿器腫瘍セミナー(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Maeda, M., Suga, M., Nakamura, M., Suzuki, K., Hasebe, Y., Kikuchi, N., Yamagichi, Y., Eguchi, A., Kume, S., Matsuzaki, R., Ueda, C., Kataoka, Y.
2. 発表標題 Analysis of age-dependent change of tissue microstructure in mouse cerebral cortex using large-scale electron microscopy.
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tamura, Y., Takata, K., Eguchi, A., Kataoka, Y.
2. 発表標題 NG2 glia are associated with neuroinflammation in adult rat brain.
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山野恵美、杉本昌弘、久米慧嗣、渡辺恭良、曾我朋義、Bateman Lucinda、Vernon Suzanne D.、片岡洋祐
2. 発表標題 米国サンプルを用いた筋痛性脳脊髄炎/慢性疲労症候群におけるメタボロミクス研究
3. 学会等名 第16回日本疲労学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kataoka, Y., Tamura, Y., Yamato, M., Kume, S., Takata, K., Eguchi, A., Maeda, M.
2. 発表標題 Dynamics and roles of NG2-expressing progenitor cells.
3. 学会等名 A3 Foresight Program Meeting 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kume, S., Kataoka, Y.
2. 発表標題 Comprehensive analysis of ultra microstructural microscopy images using machine learning.
3. 学会等名 A3 Foresight Program Meeting 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamano, E., Sugimoto, M., Kume, S., Watanabe, Y., Soga, T., Bateman, L., Vernon, SD., Kataoka, Y.
2. 発表標題 Metabolic features of Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS).
3. 学会等名 The 15th Annual International Conference of the Metabolomics Society (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 久米慧嗣、村川泰裕、陳桂花、田村勝、小林紀郎、榎屋啓志、須賀三雄、前田光代、片岡洋祐
2. 発表標題 広域電子顕微鏡技術による生体組織のビッグデータ解析
3. 学会等名 第108回 日本病理学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 片岡洋祐
2. 発表標題 疲労科学研究プラットフォームとその応用展開
3. 学会等名 第15回 日本疲労学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 片岡洋祐
2. 発表標題 光治療の多様性と未来
3. 学会等名 第31回 日本レーザー治療学会・第22回日本レーザー・スポーツ医科学学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 片岡洋祐、大和正典、前田光代
2. 発表標題 光とプラズマを用いた未来再生医療
3. 学会等名 第31回 日本レーザー治療学会・第22回日本レーザー・スポーツ医科学学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 片岡洋祐
2. 発表標題 グリア前駆細胞による免疫制御
3. 学会等名 先端医療研究センターセミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kataoka, Y., Tamura, Y., Kume, S., Maeda, M., Eguchi, A., Suga M.
2. 発表標題 Multi-modal imaging of glial progenitor cells.
3. 学会等名 Neuro2019（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 久米慧嗣、片岡洋祐
2. 発表標題 広域超微細構造イメージング法とAI技術を用いた網羅的生体組織形態解析
3. 学会等名 第51回日本臨床分子形態学会総会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 片岡洋祐、久米慧嗣、前田光代、江口麻美、須賀三雄
2. 発表標題 広域電子顕微鏡技術と画像ビューアーの開発
3. 学会等名 第60回日本組織細胞化学会総会学術集会・第13回日中合同組織細胞化学セミナー合同大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Danno, S., Nakano, M., Goto, T., Wrabel, A., Sakaue-Sawano, A., Ando, R., Miyawaki, A., Funabiki, K., Kataoka, Y.
2. 発表標題 In vivo imaging of cancer microenvironment using fiber-bundle based micro-endoscope.
3. 学会等名 第60回日本組織細胞化学会総会学術集会・第13回日中合同組織細胞化学セミナー合同大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 久米慧嗣、片岡洋祐
2. 発表標題 Comprehensive Morphology Analysis Using The Wide-range Electron Microscopy Imaging and Machine Learning
3. 学会等名 理化学研究所-広島大学 合同シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 片岡洋祐
2. 発表標題 Multi-modal imaging of stem/progenitor cells or cancer cells with PET, optical imaging, and micro-endoscopy
3. 学会等名 理化学研究所-広島大学 合同シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kataoka, Y.
2. 発表標題 Progenitor cells regulating the immune system.
3. 学会等名 Symposium in Kyungpook National University Hospital (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kataoka, Y.
2. 発表標題 Multi-modal imaging technologies including large-scale electron microscopy.
3. 学会等名 Annual Symposium of Tumor Heterogeneity and Network Research Center (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kataoka, Y., Kume, S., Yamato, M., Tamura, Y., Eguchi, A., Takata, K., Danno, S., Maeda, M., Hasebe, Y., Yamaguchi, Y., Kikuchi, N., Suga, M.
2. 発表標題 Large-scale electron microscopy and imaging big data analysis.
3. 学会等名 A3 Foresight Program Meeting 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 片岡洋祐
2. 発表標題 炎症から神経を保護するグリア細胞と認知症の治療戦略
3. 学会等名 第37回日本認知症学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yamano, E., Sugimoto, M., Hirayama, A., Kume, S., Watanabe, Y., Soga, T., Kataoka, Y.
2. 発表標題 Finding of diagnostic biomarkers for chronic fatigue syndrome using metabolome analysis.
3. 学会等名 International Conference of the Metabolomics Society（国際学会）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 久米慧嗣、小林宣夫、片岡洋祐	4. 発行年 2019年
2. 出版社 株式会社技術情報協会	5. 総ページ数 598
3. 書名 ストレス・疲労のセンシングとその評価技術	

1. 著者名 Watanabe Y, Tanaka M, Ishii A, Mizuno K, Sasaki A, Yamano E, Cui Y, Fukuda S, Kataoka Y, Yamaguti K, Nakatomi Y, Wada Y, Kuratsune H.	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 227-233
3. 書名 Make Life Visible	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 断層像処理装置、断層像処理方法、プログラム、情報記録媒体、ならびに、刺入体	発明者 片岡洋祐、團野紗莉、後藤俊志、船曳和雄、中原一郎、溝	権利者 理化学研究所
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-060196	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

RIKEN Microstructural Imaging Metadatabase  
http://clst.multimodal.riken.jp/RIKENImageDB/  
細胞機能評価研究チーム  
https://www.bdr.riken.jp/jp/research/labs/kataoka-y/index.html

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	田村 泰久  (TAMURA YASUHISA)  (60446523)	国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・副チームリーダー   (82401)	
連携研究者	大和 正典  (YAMATO MASANORI)  (50565778)	国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・研究員   (82401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------