

令和 4 年 6 月 24 日現在

機関番号：32676

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18H02900

研究課題名（和文）痛みストレスによる腫瘍免疫増悪化と脳内報酬系亢進による免疫回復機構の解析

研究課題名（英文）Analysis of the exacerbation of tumor immunity due to pain-stress and immune recovery mechanisms by brain reward systems

研究代表者

成田 年 (Narita, Minoru)

星薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：40318613

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,200,000 円

研究成果の概要（和文）：痛みストレスや脳内報酬系の亢進による“末梢-脳-末梢”連関を介した腫瘍免疫修飾機構を科学的に解明する目的で、脳内ストレス応答性神経や脳内報酬系の神経ネットワークの賦活による脳-腫瘍免疫連関について解析を試みた。その結果、生体のストレス応答の起始核である視床下部室傍核コルチコトロピン放出ホルモン神経の活性化により、がん病態の悪化が認められた。一方、脳内報酬系を司る中脳辺縁ドパミン神経細胞の投射先である側坐核 D1-受容体含有神経の特異的活性化により抗腫瘍効果が認められた。こうした腫瘍増殖調節機構には、遠心性機構が働き、脾臓内免疫細胞の機能変容に伴うがん免疫の制御が関連している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

痛みストレスによる腫瘍免疫に及ぼす影響や脳内報酬系の亢進による免疫回復機構を解析する研究ベクトルは、国内外でもほとんど行われていない。痛みやストレスによる“末梢-脳-末梢”連関を介した腫瘍免疫修飾機構や快楽刺激による腫瘍免疫制御機構を解析することにより、がん症状緩和の新たなアプローチを提示できる。がん治療におけるがん支持療法・緩和医療の意義、有用性を科学的に解析することを目的とする本研究は、超高齢社会・がん共存社会において極めて重要性が高い。

研究成果の概要（英文）：To scientifically elucidate the "peripheral-brain-peripheral" linkage-mediated modulation of tumor immunity by pain-stress and enhanced brain reward systems, we attempted to analyze the brain-tumor immune linkage by the stimulation of neuronal networks of stress-responsive neurons in the brain and intracranial reward systems. Activation of hypothalamic "stress-neurons" resulted in worsening of the cancer condition. In contrast, specific activation of nucleus accumbens D1-receptor-expressing neurons, the projection area of mesolimbic dopamine neurons responsible for the brain reward system, produced antitumor effects. These tumor growth regulatory mechanisms may be associated with efferent mechanisms and the regulation of cancer immunity accompanied by the exhaustion of splenic immune cells.

研究分野：神経科学

キーワード：中枢-末梢連関 ストレス 脳内報酬系 腫瘍免疫

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

がんの発生・増悪は、生体のホルモン分泌や免疫応答等による腫瘍微小環境の均衡により制御されている。一方、痛みやストレスは、これらの均衡を崩すことで、がんを増悪させることが想定される。痛みによる過剰な知覚情報や、様々なストレス情報は、求心性に脳において収束され、脳内ネットワークを大きく揺るがし、そうした揺らぎが各脳領域において遠心性のシグナル発症起源となって、末梢性にフィードバックされる。このような脳からの遠心性シグナルは、全身免疫応答を修飾し、局所において腫瘍微小環境に影響を与える可能性が考えられる。このような学術的背景や仮説を裏付けるように、最近の大規模臨床研究から、痛みが残存する場合は、様々な疾患において、その生存期間の短縮が認められる。これに対して、早期からの緩和医療の介入により、がん治療患者の生存期間が有意に延長されることが明らかとなった (Temel JS, et al., *N Engl J Med*, 2010; Deplanque G, et al., *Ann Oncol*, 2015)。一方、臨床で報告されるプラセボ効果や「病は気から」という古典的概念で表現されるように、前向きな感情や期待による脳内報酬回路の活性化が、末梢の免疫応答を促進し、腫瘍免疫に影響を及ぼす可能性が想定されるものの、科学的な立証は未だなされていない。

### 2. 研究の目的

本研究では、遺伝子組み換えシステムを応用して、光遺伝学・薬理遺伝学的に、視床下部室傍核内ストレス応答性神経の活動を特異的に制御することによる末梢・腫瘍免疫の変容及び脳・末梢免疫関連機構を明らかにする。一方、脳内報酬回路である中脳辺縁ドーパミン神経回路を人為的に活動制御することで、遠心性経路を介して、がん病態に及ぼす影響について解析する。

### 3. 研究の方法

本研究課題については、星薬科大学動物実験委員会ならびに組換え DNA 実験安全委員会の承認を得て研究を遂行している。

標的神経細胞の特異的活性制御は、薬理遺伝学的手法に従って行った。各種神経細胞特異的 Cre 組み換え酵素を発現する Cre ドライバーマウス (CRH-Cre、D1-Cre、D2-Cre) を使用し、マウスの標的脳領域に対して Cre 陽性細胞特異的に遺伝子改変型ヒトムスカリン受容体 (hM3Dq、hM4Di) を発現させることの可能なアデノ随伴ウイルスベクター (AAV-FLEX-hM3Dq、AAV-FLEX-hM4Di) を脳内微量注入することで、視床下部室傍核 CRH 神経や側坐核内ドーパミン D1 受容体およびドーパミン D2 受容体含有神経の特異的な活性制御が可能な遺伝子改変動物を作製した。このマウスに対して、適正用量の clozapine N-oxide (CNO) を投与することで、標的神経細胞の特異的活性制御を行った。担がんマウスモデルは、マウス由来肺がん細胞を右腰背部へ皮下移植することで作製し、経日的に腫瘍サイズの測定を行った。脾臓リンパ球の変動解析は、FACS 法に従い、マウスの脾臓より分取して細胞数の変化を比較した。また、分取したリンパ球における遺伝子発現解析は、RT-qPCR 法に従い解析を行った。

#### 4. 研究成果

##### (1) 視床下部室傍核内ストレス応答性神経の活動を特異的に制御することによるがん病態への影響

担がん状態下において、ストレス応答性神経系である視床下部室傍核コルチコトロピン放出ホルモン (CRH) 神経特異的に活性化型遺伝子改変受容体を発現させ、適正用量の clozapine N-oxide (CNO) で特異的に活性化制御を行ったところ、がん病態の増悪が認められた。担がん状態における視床下部室傍核 CRH 神経の活性化による末梢免疫の変化について解析を行ったところ、脾臓リンパ球の減少が認められた。この視床下部室傍核 CRH 神経の賦活による脾臓リンパ球の減少は、腫瘍体積および血中ストレスホルモン濃度と負の相関が認められた。さらに、脾臓リンパ球の質的变化について解析を試みたところ、視床下部室傍核 CRH 神経の活性化により、細胞分化・活性化マーカーの発現変化および免疫チェックポイント関連抑制性分子の変動が認められた。

##### (2) 脳内報酬系の神経ネットワークの賦活によるがんの進行への影響について検討

担がん状態下において、脳内報酬系の神経ネットワークの賦活によるがんの進行への影響について検討を行った結果、側坐核 medial shell 領域のドパミン D1 受容体含有神経の特異的活性化により腫瘍肥大の抑制が認められた。また、lateral shell および core 領域に存在するドパミン D1 受容体含有神経の抗腫瘍効果について medial shell の神経活性制御と同様の検討を行ったところ、腫瘍体積の有意な減少が認められた。一方、medial shell に存在するドパミン D2 受容体含有神経の特異的抑制によっては、腫瘍体積及び腫瘍重量に対して影響を及ぼさなかった。加えて、lateral shell および core に存在するドパミン D2 受容体含有神経を特異的に抑制しても、腫瘍体積に対する影響は認められなかった。次に、medial shell に存在するドパミン D1 受容体含有神経を活性化した際の脾臓免疫細胞について検討を行った結果、TIM-3 や LAG-3 といった免疫チェックポイント関連抑制性受容体が発現する CD8 陽性 T 細胞数の有意な減少が認められた。また、免疫チェックポイント関連抑制性受容体の発現細胞数と腫瘍体積との間の相関関係について解析したところ、有意な正の相関が認められた。本研究より、側坐核内ドパミン D1 受容体含有神経の活性化により、CD8 陽性 T 細胞の疲弊化の抑制および抗がん免疫の促進が誘導されることが明らかとなった。

##### (3) 総括

本研究結果より、がん病態下における脳-末梢免疫関連機構の一端として、ストレス応答性である視床下部室傍核 CRH 神経の賦活によりがん病態の増悪化が促される一方、脳内報酬系の賦活によりがんの進行の抑制が認められることが明らかとなった。また、側坐核内ドパミン D1 受容体含有神経細胞の活性化により、脾臓 CD8 陽性 T 細胞の疲弊化の抑制および抗がん免疫の促進が誘導されることを見出した。このような辺縁系-末梢免疫関連の存在は、感情・情動の安定化が全身免疫に影響を及ぼす仮説を科学的に立証し得る根拠となると考えられ、がん病態の悪性化の抑制や効果的治療法を開発する一助となることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Sato D, Hamada Y, Narita M, Mori T, Tezuka H, Suda Y, Tanaka K, Yoshida S, Tamura H, Yamanaka A, Senba E, Kuzumaki N, Narita M.	4. 巻 15
2. 論文標題 Tumor suppression and improvement in immune systems by specific activation of dopamine D1-receptor-expressing neurons in the nucleus accumbens.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Mol Brain.	6. 最初と最後の頁 17
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13041-022-00902-1.	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 -

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 成田 年, 吉田小莉, 濱田祐輔, 成田道子, 葛巻直子
2. 発表標題 痛みストレスによる脳内の持続的なシグナルの「ON」状態が免疫恒常性に及ぼす影響
3. 学会等名 第12回日本緩和医療薬学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Narita M
2. 発表標題 Crosstalk between pain stress-related central neurocircuits and immune systems in tumor progression
3. 学会等名 WCP2018 KYOTO
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 成田 年
2. 発表標題 疼痛を含む全身性ストレスの緩和による難治性疾患治療向上の科学的検証：漢方薬の有用性を考える
3. 学会等名 日本生薬学会第67回年会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 成田 年
2. 発表標題 痛みやストレスの制御がもたらす生体内免疫機構に対する影響：痛みストレス病態センシングの解析
3. 学会等名 第 125 回生涯教育研修セミナー（慶應義塾大学）（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 成田 年
2. 発表標題 脳内報酬ネットワークを介した複合的鎮痛・免疫機構
3. 学会等名 第 22 回 新・痛み of 研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 葛巻直子、濱田祐輔、宮野加奈子、成田 年
2. 発表標題 痛みによる免疫変容と末梢・中枢連関
3. 学会等名 第42 回日本疼痛学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 成田 年
2. 発表標題 Influence of pain-related neurocircuits on tumor immune response
3. 学会等名 50th International narcotics research conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 成田 年, 濱田祐輔, 葛巻直子
2. 発表標題 Influence of an activated neural network on tumor growth
3. 学会等名 第 78 回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 成田 年
2. 発表標題 病いと脳：脳のダメージによる疾病の増悪化
3. 学会等名 アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 濱田祐輔, 吉田小莉, 葛巻直子, 成田 年
2. 発表標題 がん免疫における脳 - 末梢連関の解析から見える包括的緩和医療の重要性
3. 学会等名 第13回日本緩和医療薬学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 成田 年
2. 発表標題 脳内報酬系-ストレス応答神経系-末梢免疫機構のバランス破綻と”痛み・かゆみ”感覚の遷延化
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 成田 年
2. 発表標題 Global understanding of “ Sensory neuron-tumor cell ” interaction and “ Stress/ pain-tumor growth ” immune-interaction
3. 学会等名 第61回日本神経化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 葛巻直子, 濱田祐輔, 成田 年
2. 発表標題 人為的神経活動制御手法から捉える痛みとストレスのクロストーク
3. 学会等名 第11回 日本運動器疼痛学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 葛巻直子, 濱田祐輔, 成田 年
2. 発表標題 脳の「ストレスネットワーク」や「快樂ネットワーク」を制御することによる脳-末梢免疫連関に与える影響
3. 学会等名 医療薬学フォーラム2018 第26回クリニカルファーマシーシンポジウム
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

該当なし
------

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------