

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：15301

研究種目：奨励研究

研究期間：2021～2021

課題番号：21H04198

研究課題名 変異PC12細胞を用いた抗がん剤による報酬機能障害における細胞機能変容の解明

研究代表者

江角 悟 (Esumi, Satoru)

岡山大学・大学病院・薬剤主任

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 470,000円

研究成果の概要：本研究では、抗がん剤のうち白質脳症を生じて認知機能障害を生じることが知られ、うつ病などの精神症状を生じやすい乳がん治療に用いられるシスプラチンを用いてPC12m12細胞の細胞機能に与える影響を評価した。シスプラチンの暴露によって細胞数に変化は認めなかったが巨大細胞が顕著に増加した。さらに、神経突起が細胞体の大きさの2倍以上の長さに伸長させた細胞の数を計測したところ、シスプラチンの暴露によって神経突起伸長細胞数も有意に増加した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

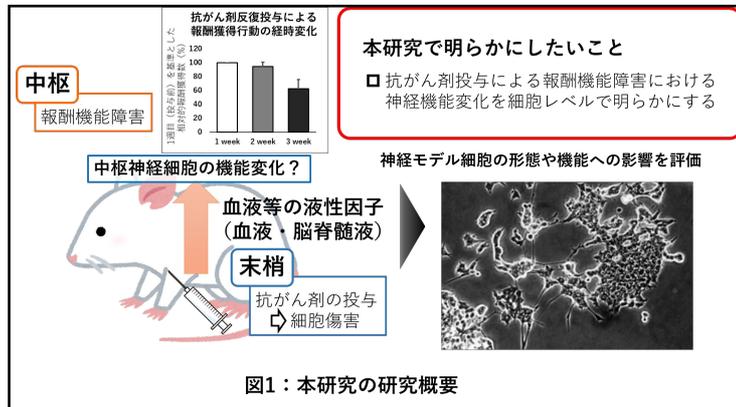
本研究成果は抗がん剤投与患者で生じている抑うつ状態などの精神症状の変化について、抗がん剤そのものの影響を明らかにする手掛かりを提供できたと考えられる。今後、今回の研究成果で認められた細胞の形態変化を説明できる細胞の機能変化を明らかにすることで抗がん剤が精神機能に与える影響を明らかにしていきたい。

研究分野：医療系薬学

キーワード：PC12細胞

1. 研究の目的

抗がん剤には副作用として抑うつ、不安などの精神症状が認められる。実際に、申請者はこれまでの研究で抗がん剤であるドキソルビシン（DOX）ならびにシクロホスファミド（CPA）の併用反復投与は動物実験においてラットの報酬機能障害を生じることを明らかにしている（図1）。報酬機能障害は抑うつなどの精神症状の根幹として存在し、臨床上対策が必要な精神機能障害であることは言うまでもない。



抗がん剤が報酬機能障害を生じる神経学的メカニズムは未だ十分に明らかでない。P-糖たんぱく質や血液脳関門の存在から、末梢に投与された抗がん剤が直接、中枢神経に影響を与えることは考えにくく、末梢で生じた何らかの因子が血液を介して中枢神経に影響すると考えられる。これまでに申請者は、抗がん剤の反復投与が神経細胞数を変化させることなく、脳内ドパミン合成の律速酵素であるチロシンヒドロキシラーゼ発現量を低下させることを明らかにしている。すなわち、末梢における抗がん剤の反復投与は中枢神経細胞を直接傷害するよりも血液などの液性因子を介して間接的に中枢神経の細胞機能を変化させる可能性がある。

以上のことから申請者は、報酬機能障害と細胞機能変化の関連性を抗がん剤の影響を排除して評価するためには、抗がん剤血中濃度トラフ時のラット血漿や脳脊髄液を神経モデル細胞に暴露し、細胞に与える影響を評価することが最適であるとの発想に至った。本研究の意義は、抗がん剤投与により生じた脳内報酬神経機能異常のメカニズムを細胞レベルで評価し、報酬機能異常にかかわる細胞内シグナル伝達を明らかにすることである。

2. 研究成果

本研究でもちいた PC-12 変異細胞は、Kano らが開発した NGF による神経突起の伸長が抑制された変異型 PC12 細胞株である。クローニング法によりコロニーを選択し大量培養したものうち、PC12m3 細胞と m12 細胞と名付けられた細胞株は、NGF に対する感受性は低い、cyclic adenosine monophosphate (cAMP) やいくつかの神経伝達物質、熱ショックストレスが神経突起伸長を促進し、p38 MAPK 経路を活性化することが報告されている<sup>1-4</sup>。また、我々はこれまで、これらの変異細胞を用いて ICSS が神経突起伸長などの神経活動を促進し、p38 MAPK 活性を上昇させることを発見し、情動変化が細胞レベルの活動に影響を与えることを見出している<sup>5,6</sup>。

本研究では、抗がん剤のうち白質脳症を生じて認知機能障害を生じることが知られ、うつ病などの精神症状を生じやすい乳がん治療に用いられるシスプラチンを用いて PC12m12 細胞の細胞機能に与える影響を評価した。シスプラチン 2.2 $\mu$ M（約 0.6ug/mL）の暴露によって細胞数に変化は認めなかったが巨大細胞が顕著に増加した（図2）。

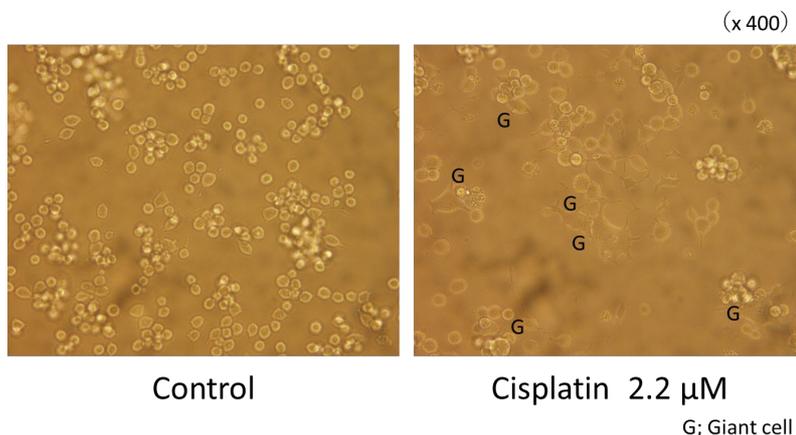


図2：代表的な巨大細胞像

さらに、神経突起が細胞体の大きさの2倍以上の長さに伸長させた細胞の数を計測したところ、シスプラチンの暴露によって神経突起伸長細胞数も有意に増加した(図3)。

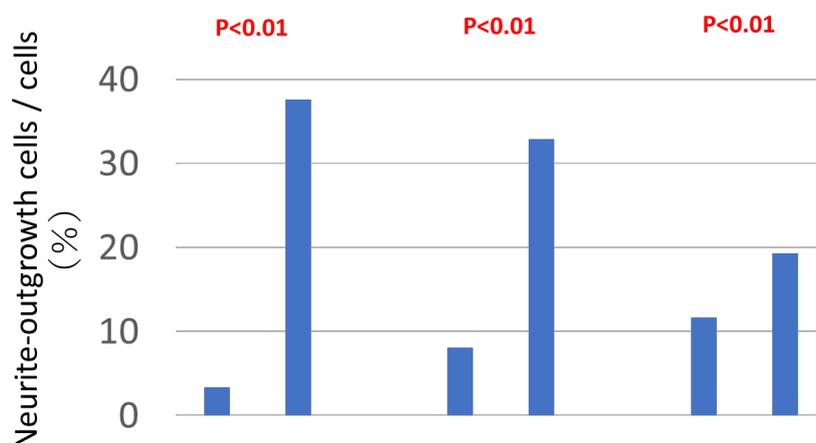


図3：シスプラチンによる神経突起の伸長

以上の結果から、シスプラチンは臨床的な血中濃度として可能性のある濃度で PC12m3 細胞の形態に影響を与えることを明らかにした。シスプラチンによる細胞の巨大化については、悪性黒色腫(メラノーマ)細胞の化学療法耐性化に関与しているとの報告がある<sup>7</sup>。本研究で用いた細胞はラット副腎髄質の褐色細胞腫由来の細胞であり、同様の変化が生じていると考えられるが、これが神経のモデル細胞としたときにどのような機能的変化が生じているか明らかでない。細胞の機能的変化についてさらに詳細に検討を行い、神経伝達物質への反応性の変化など検討することで抗がん剤による精神機能変化の解明につなげたい。細胞の巨大化の影響について文献調査や検討をおこない、研究期間が満了となった。

#### 引用文献

1. Inoue, S. *et al.* Microwave irradiation induces neurite outgrowth in PC12m3 cells via the p38 mitogen-activated protein kinase pathway. *Neurosci. Lett.* **432**, 35–39 (2008).
2. Kano, Y. *et al.* Osmotic shock-induced neurite extension via activation of p38 mitogen-activated protein kinase and CREB. *Brain Res.* **1154**, 1–7 (2007).
3. Kano, Y. *et al.* Heat shock induces neurite outgrowth in PC12m3 cells via the p38 mitogen-activated protein kinase pathway. *Brain Res.* **1026**, 302–306 (2004).
4. Kano, Y. *et al.* cAMP and calcium ionophore induce outgrowth of neuronal processes in PC12 mutant cells in which nerve growth factor-induced outgrowth of neuronal processes is impaired. *Neurosci. Lett.* **303**, 21–24 (2001).
5. Gomita, Y. *et al.* Intracranial self-stimulation and immobilization had different effects on neurite extension and the p38 MAPK pathway in PC12m3 cells. *Life Sci.* **190**, 78–83 (2017).
6. Gomita, Y. *et al.* Intracranial self-stimulation-reward induces neurite extension in PC12m3 cells and activation of the p38 MAPK pathway. *Neurosci. Lett.* **649**, (2017).
7. Weng, C. H. *et al.* Cisplatin-Induced Giant Cells Formation Is Involved in Chemoresistance of Melanoma Cells. *Int. J. Mol. Sci.* **21**, 1–19 (2020).

主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

研究組織（研究協力者）

氏名	ローマ字氏名
----	--------