

令和 6 年 5 月 18 日現在

機関番号：34428

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06590

研究課題名（和文）腫瘍切除後の海馬ミクログリアの異常を介したうつ様行動の発現メカニズムの解明

研究課題名（英文）Contribution of hippocampal microglial abnormalities to emotional dysfunction in tumor resection mice

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）：本研究では、海馬ミクログリアの異常がシナプスの形態・機能の変化を介して腫瘍切除後に持続するうつ様行動に寄与する可能性を明らかにすることを目的とし、分子生物学的、薬理的検討を行い、以下の成果を得た。ミクログリアの機能調節薬であるミノサイクリンは、腫瘍切除マウスの社会性の低下とともに、海馬におけるミクログリアの形態、神経細胞のポストシナプス数、およびミクログリアとポストシナプスとの相互作用の変化を改善することを明らかにした。以上の結果は、がん病態時およびその治療後において、海馬ミクログリアの機能異常が神経機能の変化を介して、長期的に持続するうつ様行動の発現につながる可能性を示唆するものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

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。一方で、がん患者の脳機能障害がなぜ持続するのかに注目した研究は一切ない。本研究では、腫瘍を切除したマウスにおけるうつ様行動の発現メカニズムに海馬ミクログリアの機能異常が関与することを見出した。本成果は、今後、ミクログリアの機能異常を正常化する方法を模索することにより、がん治療後に持続する脳機能障害を改善する方法の確立につながると考えられる。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to elucidate the potential contribution of hippocampal microglial abnormalities to sustained depressive-like behavior via changes in synaptic morphology and function following tumor resection. We found that minocycline, a microglial modulator, ameliorated alterations in hippocampal microglial morphology, post-synaptic neuronal density, and interactions between microglia and post-synapses, along with the decline in sociability in tumor-resected mice. These findings suggest that dysfunction of hippocampal microglia during cancer pathology and its treatment may lead to sustained depressive-like behavior through changes in neuronal function over the long term.

研究分野：神経薬理学

キーワード：がん うつ様行動 情動機能障害 ミクログリア スパイン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

がん患者において、高頻度で現れる抑うつ症状や不安症状などの情動機能障害は、治療アドヒアランスの低下につながり、がん治療の中断を余儀なくされることもあることから、患者の治療過程や予後に大きな影響を与える。また、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情動機能障害は、寛解後も数年間持続することがあり、患者の社会復帰が遅れる原因となる可能性も示唆されている。現在、がん病態やがん治療に起因して持続して現れる情動機能障害に対しては、既存の抗うつ薬が適応される。しかし、抗うつ薬の効果発現までに長期間の服薬が必要とされることや、強力な副作用などの問題点があり、治療法の改善が必要とされている。がん患者やがん治療後の患者で長期間認められる情動機能障害のメカニズムが明らかになれば、がん治療と並行して情動機能障害の改善や予防に向けたアプローチが可能となる。

我々は、これまでに、大腸がん細胞株 colon 26 を接種したマウスでは、社会性の低下等の情動機能障害が認められることを明らかにしてきた。さらに、本マウスにおいて形成された腫瘍を外科的に切除して作製した腫瘍切除マウスにおいて、全身炎症の消失と、切除後少なくとも 14 日間、社会性の低下が持続することを明らかにし、世界で初めて、がん治療後に持続するうつ症状のモデル動物を作製した。また、腫瘍切除マウスの海馬において、ミクログリアマーカーである Iba1 陽性細胞の突起退縮、および選択的セロトニン(5-HT)再取り込み阻害薬(SSRI)による、本マウスの社会性の低下と Iba1 陽性細胞の突起退縮の消失を見出した。以上のことは、腫瘍切除マウスにおいて、海馬ミクログリアの機能変化が情動機能障害の発現に関連する可能性を示唆している。

2. 研究の目的

海馬ミクログリアの異常がシナプスの形態・機能の変化を介して腫瘍切除後に持続するうつ様行動に寄与する可能性を明らかにする

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 マウスの腹部に皮下投与後 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)薬物投与

30 µg/mL fluoxetine および 70 µg/mL minocycline を水道水に溶解し、腫瘍切除直後から 14 日間マウスに飲水摂取させた。

(3)社会性行動試験

試験マウスを新規飼育ケージに導入し、15 分間馴化させた。馴化後、3 週齢雄性 BALB/c マウスをケージ内に新たに導入した。5 分間の社会性行動試験の様子をビデオ撮影し、試験マウスの 3 週齢マウスに対する匂いかぎ行動、なめる行動、追いかける行動を社会性行動として、計測した。

(4)脳内分子の発現解析

マウスから海馬を採取し、RNA を抽出した後、cDNA を作製し、リアルタイム PCR を行った。発現解析を行った遺伝子は、各種プライマーにより増幅し、各遺伝子発現量は、ハウスキーピング遺伝子である Rplp0 の発現量で補正した。

(5)ゴルジ染色

マウスに麻酔処置を行い、灌流固定し、脳を摘出した。得られた脳サンプルは、5% アガロースゲルに包埋し、200 µm の厚さで薄切した。作製した切片を使用して、sliceGolgi Kit の説明書に従い、ゴルジ染色を行った。

(6)Iba1 と共局在する PSD95 陽性粒子数の測定

マウスの脳を灌流・固定した後、パラフィン包埋し、10 µm の切片を作製した。Iba1 および PSD95 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 陽性細胞と共局在する PSD95 陽性粒子数をカウントした。

4. 研究成果

(1)腫瘍切除マウスの海馬ミクログリアの機能変化と社会性の低下との関係

腫瘍切除マウスの海馬において Iba1 陽性細胞の形態が変化することから、海馬ミクログリアの機能変化が起きている可能性を考え、ミクログリアの機能調節薬である minocycline を 14 日間投与したところ、腫瘍切除マウスで認められる社会性の低下が改善することが明らかとなった。行動表現型の変化と並行して、minocycline は、腫瘍切除マウスの海馬における Iba1 陽性細胞の突起長を延長させることを見出した。以上の結果から、minocycline による腫瘍切除マウスの海馬ミクログリアの機能改善が社会性の低下の改善につながる可能性が示唆される。

(2)腫瘍切除マウスの海馬におけるシナプス構造の変化

ミクログリアの主要な役割の 1 つとして、神経細胞のシナプス機能の調節が挙げられる。ミクログリアは、貪食や液性因子の放出により、シナプスの数や機能を調節することが知られている。そこで、腫瘍切除マウスの海馬においても神経細胞のシナプス構造に変化が認められるかどうかを明らかにする目的で、ゴルジ染色を行った。その結果、腫瘍切除マウスの海馬 CA 領域において、錐体細胞の spine 数が減少することを明らかにした。本減少は、minocycline により改善することから、ミクログリアの機能変化が、腫瘍切除マウスの海馬神経細胞の機能を変化させる可能性が示された。

(3)腫瘍切除マウスの海馬における後シナプスとミクログリアの関係

上記の結果から、腫瘍切除マウスの海馬において、ミクログリアの機能変化がシナプス構造の変化に寄与する可能性が明らかとなったため、ミクログリアとシナプス構造との相互作用に変化が認められる可能性が考えられる。そこで、Iba1 と後シナプスの足場タンパク質である PSD-95 の共免疫染色を行ったところ、腫瘍切除マウスの海馬において、Iba1 陽性細胞領域における PSD-95 陽性粒子数が増加することを明らかにした。また、本増加は、minocycline により抑制された。このことから、腫瘍切除マウスの海馬において、ミクログリアとシナプス構造との相互作用が変化する可能性が示された。

以上の結果は、腫瘍切除マウスの海馬におけるミクログリアの機能異常が社会性の低下につながる可能性を示唆するものである。さらに、ミクログリアの機能異常は、神経機能の低下を引き起こす可能性も示唆された。今後、神経機能低下とうつ様行動の関連性を明らかにすることにより、腫瘍切除マウスの脳機能異常の詳細を明らかにできると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 尾中勇祐、山口太郎、新谷紀人、橋本均、米山雅紀
2. 発表標題 ミノサイクリンは腫瘍切除マウスで認められるうつ様行動および海馬ミクログリアの形態変化を改善する。
3. 学会等名 第141回日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 尾中勇祐、中島由紀典、米山雅紀、山口太郎
2. 発表標題 腫瘍切除後に持続する社会性の低下における海馬ミクログリアの関与の可能性
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山崎拓夢、尾中勇祐、山口太郎、米山雅紀
2. 発表標題 腫瘍切除マウスの物体探索意欲の低下における海馬ミクログリアの関与
3. 学会等名 第72回日本薬学会関西支部総会・大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山崎拓夢、尾中勇祐、山口太郎、米山雅紀
2. 発表標題 Fluoxetineは腫瘍切除後に持続する社会性の低下および海馬microgliaの形態変化を抑制する
3. 学会等名 日本薬学会第144年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山崎拓夢、尾中勇祐、山口太郎、米山雅紀
2. 発表標題 腫瘍切除マウスの行動異常はフルオキセチン感受性の抑うつ症状を反映する
3. 学会等名 第53回 日本神経精神薬理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山崎拓夢、尾中勇祐、山口太郎、米山雅紀
2. 発表標題 腫瘍切除マウスにおけるうつ様行動および海馬神経細胞の構造変化に対するmicrogliaの関与
3. 学会等名 次世代を担う若手のための創薬・医療薬理シンポジウム2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山崎拓夢、米山雅紀、山口太郎、尾中勇祐
2. 発表標題 腫瘍切除マウスのうつ様行動における海馬ミクログリアの形態変化の関与
3. 学会等名 第143回日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

摂南大学薬学部薬理学研究室ホームページ
<http://www.setsunan.ac.jp/~p-yakuri/>

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
研究協力者	米山 雅紀 (Yoneyama Masanori)		
研究協力者	山口 太郎 (Yamaguchi Taro)		

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