

平成 30 年 4 月 9 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08589

研究課題名(和文) 抗がん剤投与による精神機能変化の病態解明と発症予測バイオマーカーの探索

研究課題名(英文) The elucidation of the predictive factor of psychological changes by chemotherapy

研究代表者

北村 佳久 (KITAMURA, YOSHIHISA)

岡山大学・大学病院・准教授

研究者番号：40423339

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では抗がん剤投与による精神機能および認知機能に与える影響を明らかにすることである。その結果、ラットに乳がんの標準的化学療法であるドキソルビシンおよびシクロホスファミド投与により認知機能の低下および不安症状の発現を明らかにした。さらに、化学療法により神経新生の抑制作用を明らかにした。つまり、化学療法による認知機能低下および不安症状の発現には脳内神経新生の抑制が関与している可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：This study investigated behavioral and biochemical changes upon treatment with doxorubicin and cyclophosphamide, focusing on mental and cognitive systems, as well as neurogenesis in male rats. The co-administration of doxorubicin and cyclophosphamide produced anxiety-like, and spatial cognitive impairments in rats. It also reduced both the number of proliferating cells in the subgranular zone of the hippocampal dentate gyrus and their survival. Serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels were decreased along with chemotherapy-induced decreases in platelet levels. However, hippocampal BDNF levels and Bdnf mRNA levels were not decreased by this treatment. These results suggest that the co-administration of doxorubicin and cyclophosphamide induces psychological and cognitive impairment, in addition to negatively affecting hippocampal neurogenesis.

研究分野：神経精神薬理学、精神腫瘍学、臨床薬学

キーワード：ドキソルビシン シクロホスファミド 化学療法 不安症状 認知機能 神経新生 脳由来神経栄養因子 ラット

1. 研究開始当初の背景

がんは、わが国において昭和 56 年 (1981 年)より死因の第 1 位であり、現在も毎年 74 万人が新たにがんと診断されている。厚生労働省研究班の調査によれば、生涯のうちがんに罹る可能性は男性の 2 人に 1 人、女性の 3 人に 1 人とされている。今後の高齢化の進行も鑑み、がんは国民病と言える。このがん患者は検診でのがんの疑いに始まり診断、再発、抗がん剤治療等、様々な場面で心理的ストレスにさらされることになる。そのため、抑うつを主徴とするうつ病および不安症状はがん患者で最も高頻度 (2~3 割) で合併する精神症状である。がん患者のうつ病および適応障害は、それ自体が強い苦痛を伴うが、患者の自殺、全般的な QOL の低下、抗がん治療のコンプライアンス低下、入院期間の長期化、家族の心理的苦痛などと関連することも明らかとされており、がん患者の精神的ケアはがん治療を行っていく上で極めて重要な臨床上的問題である。

一方、近年の研究により、脳の特定の領域では、生涯にわたって神経新生が生じることが明らかにされてきた。さらに、ラットやマウスにストレスを与えると中枢におけるこの神経新生は低下することに加えて、抗うつ薬を投与すると神経新生が促進されることより、神経新生の低下は「うつ状態」と関連する可能性が多く報告されるようになってきた。申請者も平成 23-25 年度科学研究費補助金の支援を受けて、内在する神経幹細胞を如何に活性化させ神経新生を向上させるかが、抗うつ効果に極めて重要であることを提唱してきた (Miyake A. et al., *Pharmacol. Biochem. Behav.* 122:240-245, 2014; Onoue et al., *Biol. Pharm. Bull.* 37:1234-40, 2014; Kuwatsuka et al., *J. Pharmacol. Sci.* 122:34-41, 2013)。

近年「がん」における薬物治療は新しい抗がん剤の開発により、急速な進歩を遂げている。これら抗がん剤は基本的薬理作用としては、細胞膜および細胞内に入り細胞増殖を抑制することにある。つまり、「抗がん剤」投与により中枢神経系も同様に神経新生が抑制されることにより、「うつ病」への進展につながると考えられる。つまり、がんと診断を受けてからの精神的苦痛に加えて、「抗がん剤」は細胞増殖抑制作用により、正常な神経新生を抑制するため、うつ病をはじめとする適応障害のリスク因子として考えることができるとの発想に至った。

2. 研究の目的

このような学術背景より本研究では、抗がん剤投与患者における精神機能 (認知機能含む) 変化を科学的根拠に基づいて病態解明を行い、その理論より、予防法の構築および予測バイオマーカーの開発の基礎的データを取得することにより、がん患者の抗がん剤治療に対する貢献を目的とした。

3. 研究の方法

1. ドキソルビシンおよびシクロホスファミド投与ラットを用いたうつ様、不安様行動ならびに認知機能に与える影響

本研究では、乳がん標準治療薬として汎用されているドキソルビシンおよびシクロホスファミドを用いた。行動薬理学的実験を用いた網羅的検索を実施するために、無感状態評価のためスクロース飲水試験、不安症状評価のため、明暗探索試験、高架式十字路迷路試験および認知機能測定のため場所位置認定試験、Y 迷路試験を行った。

2. ドキソルビシンおよびシクロホスファミド投与ラットを用いた神経新生および細胞分化に与える影響

ドキソルビシンおよびシクロホスファミド投与後の海馬における細胞増殖機能に与える影響、さらに細胞分化に与える影響について抗 bromodeoxyuridine (BrdU) 抗体を用いた免疫組織化学的に検討した。

3. ドキソルビシンおよびシクロホスファミド投与ラットを用いた血中および中枢における脳由来神経栄養因子 (BDNF) に対する影響

A) 血中 BDNF 動態

うつ病の病態および抗うつ効果には血中および脳内に豊富に存在する BDNF の関与が注目されている。そこで、ドキソルビシンおよびシクロホスファミド投与による BDNF 量の関連を明らかにする。

B) 海馬 BDNF 動態

BDNF 発現は cAMP response binding protein (CREB) によって調整されている。そこで、この CREB-BDNF 経路に着目し、抗がん剤の影響について検討を行う。これまで BDNF は前駆型 BDNF (pro-BDNF) と成熟型 BDNF (mature-BDNF) に分類されており、それぞれ異なった役割を担っている。まず、pro- および mature-BDNF 量に対する経時的な変化を検討した。さらに、pro- および mature-BDNF のそれぞれの受容体である p75NTR 受容体および TrkB 受容体発現について検討を行う。一方、CREB は Ser133 残基のリン酸化によって活性化する。この CREB は B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) といった抗アポトーシス因子の発現を調整していることも知られており、抗がん剤投与による神経細胞死の観点から検討した。さらに、BDNF は末梢より中枢への移行が知られていることから、中枢のみで産出される BDNF に着目し、海馬における BDNF mRNA についても検討を行った。

4. 研究成果

Wistar 系雄性ラットにドキソルビシンおよびシクロホスファミドを 1 週間に 1 回、4 週間投与を行い、最終投与の 1 週間後に行動薬理学的検討および免疫組織化学的検討を行った。行動薬理学的検討として、認知機能変化に対しては場所認知試験および Y 迷路試

験、不安症状に対しては明暗探索試験および高架式十字路迷路試験を行った。免疫組織化学的検討としては、bromodeoxyuridine (BrdU) 投与による細胞増殖へ与える影響について検討した。その結果、ドキシソルピシンおよびシクロホスファミド投与により認知機能の低下および不安症状の発現を明らかにした。さらに、ドキシソルピシンおよびシクロホスファミド投与により神経新生の抑制作用を明らかにした。

本研究により化学療法による認知機能低下および不安症状の発現には脳内神経新生の抑制が関与している可能性を明らかにした。

つぎに、認知機能低下および神経新生抑制の病態機序を明らかにする目的で、これらの機能に重要な役割を担っている脳由来神経栄養因子 (BDNF) の血中および中枢における動態について解析をおこなった。その結果、ドキシソルピシンおよびシクロホスファミド投与によって血中 BDNF 含量は有意に低下した。これは血小板減少と相関していた。一方、海馬における BDNF 含量および BDNF mRNA 量は変化がなかった。さらに、cAMP response binding protein (CREB) の発現量も変化しなかった。つまり、化学療法における神経新生抑制には BDNF-CREB 経路の関与は低いことが明らかとなった。

今後は、不安症状および神経新生に深く関与しているセロトニン神経系に対する化学療法の影響を検討することにより、化学療法における精神機能障害の病態像の解明のみならず治療薬の開発にも寄与できると考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 2 件)

1. Kitamura Y., Kanemoto E., Sugimoto M., Machida A., Nakamura Y., Naito N., Kanzaki H., Miyazaki I., Asanuma M., Sendo T. Influence of nicotine on doxorubicin and cyclophosphamide combination treatment-induced spatial cognitive impairment and anxiety-like behavior in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 390: 369-378, 2017 (Corresponding author)
2. Kitamura Y., Hattori S., Yoneda S., Watanabe S., Kanemoto E., Sugimoto M., Kawai T., Machida A., Kanzaki H., Miyazaki I., Asanuma M., Sendo T. Doxorubicin and cyclophosphamide treatment produces anxiety-like behavior and spatial cognition impairment in rats: Possible involvement of hippocampal

neurogenesis via brain-derived neurotrophic factor and cyclin D1 regulation. *Behav. Brain Res.* 292: 184-193, 2015 (Corresponding author)

〔学会発表〕(計 4 件)

1. Nakamura Y., Kitamura Y., Naito N., Sumiyoshi Y., Miyazaki I., Asanuma M., Sendo T. Effects of mirtazapine on doxorubicin and cyclophosphamide-induced spatial cognitive impairment and anxiety-like behavior in rats. *Neuroscience 2017* (Washington DC: USA) 2017.11.11
2. Kitamura Y., Sugimoto M., Kanemoto E., Machida A., Nakamura Y., Naito N., Miyazaki I., Asanuma M., Sendo T. Influence of nicotine on doxorubicin and cyclophosphamide-induced spatial cognitive impairment and anxiety-like behavior in rats. *Neuroscience 2017* (Washington DC: USA) 2017.11.11
3. Kitamura Y., Watanabe S., Yoneda S., Sugimoto M., Kanemoto E., Kanzaki H., Machida A., Miyazaki I., Asanuma M., Sendo T. Doxorubicin and cyclophosphamide treatment causes anxiety-like behavior and spatial cognition impairment in rats. *Neuroscience 2015* (Chicago: USA) 2015.10.18
4. Sugimoto M., Kanemoto E., Watanabe S., Miyazaki I., Asanuma M., Kitamura Y., Sendo T. Effects of nicotine on doxorubicin and cyclophosphamide-induced spatial cognition and anxiety in rats. *Neuroscience 2015* (Chicago: USA) 2015.10.18

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：

番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北村佳久 (KITAMURA YOSHIHISA)
岡山大学病院・准教授
研究者番号：40423339

(2) 研究分担者

浅沼幹人 (ASANUMA MASATO)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：00273970

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()