

令和元年5月7日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09249

研究課題名(和文) 新たな骨髄-脳相関・骨髄由来細胞を標的とした癌性悪液質・サルコペニアの治療法開発

研究課題名(英文) Treatment methods for cancer cachexia and sarcopenia that target a novel brain - bone marrow axis and bone-marrow-derived cells

研究代表者

浅川 明弘 (Asakawa, Akihiro)

鹿児島大学・医歯学域医学系・教授

研究者番号：10452947

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：ミクログリアへのdexamethasoneの投与は、CX3CR1の発現を低下、IGF-1の投与は、CX3CR1の発現を上昇、fractalkineの投与は、LPSによるTNF- α 、COX-2およびIL-1 β の発現を増加させ、p38 MAPKのリン酸化亢進、を抑制した。高脂肪食飼育下のマウスの海馬および視床下部でのTNF- α の発現は増加し、fractalkineおよびCX3CR1の発現は減少した。Atractylenolideのミクログリアへの投与は、TLR4の発現を低下させ、LPSによるTNF- α 、IL-1 β の発現の増加、p38 MAPKおよびJNKのリン酸化の亢進、を抑制した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究実施者は、骨髄由来細胞を介した新たな骨髄-脳相関の存在を、絶食、身体的ストレス、心理的ストレスを用いて、先行研究において報告している。本研究による知見から、ストレスや食、罹癌により、ミクログリアの遊走・接着・機能が変化し、ミクログリアが標的とする臓器の機能が、ミクログリアによって制御されている可能性が示され、悪液質やサルコペニアの発症、進展のメカニズムの解明に寄与することが予想される。今後、ミクログリアを含む骨髄系が、精神疾患を含む多くの疾患の治療・予防のための重要なターゲットになることが考えられた。

研究成果の概要(英文)：When administered to the microglia, dexamethasone reduced expression of CX3C chemokine-receptor type-1 (CX3CR1); insulin-like growth factor-1 increased CX3CR1 expression; and fractalkine increased lipopolysaccharides (LPS)-induced tumor necrosis factor (TNF)- α , cyclooxygenase-2, and interleukin (IL)-1 β expression, and suppressed promotion of phosphorylation by p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK). In mice fed high-fat diets, hippocampal and hypothalamic TNF- α expression was increased, and fractalkine and CX3CR1 expression were decreased. Microglia administration of plant-derived atractylenolide- reduced toll-like receptor-4 expression, increased LPS-induced expression of TNF- α and IL-1 β , and suppressed promotion of phosphorylation by MAPK and c-Jun N-terminal kinase.

研究分野：心身内科学

キーワード：ミクログリア 骨髄 脳 癌性悪液質 サルコペニア

1. 研究開始当初の背景

本研究実施者は、食欲、食行動によるエネルギーの獲得が、個体の生命維持にとって非常に重要な役割を担い、多くの疾患の発症・進展の原因となる病態の上流に位置していると考え、視床下部におけるcorticotropin releasing hormoneなどの神経ペプチドやghrelin、peptide YYなどの末梢ペプチド、interleukin(IL)-1、tumor necrosis factor(TNF)-などのサイトカインに焦点を当てて、食欲、食行動の研究を進めてきた(Gastroenterology 2001, Cell Metab 2006, Nat Commun 2013)¹⁻³。一方、本研究実施者は、2004年のHoughtonらによるScience誌の論文⁴などから、骨髄由来細胞を介した新たな骨髄-脳相関の存在を予想し、身体的ストレス(痛み刺激)負荷によって骨髄由来細胞が海馬に集積する、学術的に重要な新規知見を見出し、骨髄由来細胞を介した新たな骨髄-脳相関の存在を提唱した(J Neurosci Res 2010)⁵。また、絶食状態において骨髄由来細胞が視床下部の室傍核に集積し、神経ペプチドの発現を介して摂食・エネルギー代謝・体重の調整に関与していることを報告した(Nat Commun 2013)⁶。さらに、慢性心理的ストレスにより、脳から骨髄のニッチ環境にアドレナリン作動性神経-3受容体を介してシグナルが伝達され、ケモカイン濃度が低下することで、ケモカイン受容体を発現した骨髄由来細胞が血液循環に放出されるとともに、視床下部室傍核の神経細胞においてケモカインの発現が上昇し、骨髄由来細胞(ミクログリア)が集積し、サイトカインの発現を介して不安の発現を調節していることを見出し(PLoS One 2013)⁷、食欲、不安、痛みなどの情動・感覚が、細胞性情報を介した心身相関によって制御されている可能性を示した。一方、他の研究者からは、骨髄由来細胞が糖尿病・虚血性心疾患・外傷など様々な疾患の発症・進展に関与していることが示されている。これらのことから、本研究実施者は、骨髄由来細胞が骨髄-脳相関を介して、様々な疾患の発症と進展に関与するとともに、新規治療法の開発ターゲットになるとの考えに至った。

戦後の高度経済成長を背景に、日本の平均寿命は急速に延長し、高齢化率は世界1位となっている。また、死因における悪性新生物の割合も増加し続け、3割を超えている。罹癌に伴う悪液質、加齢によるサルコペニア(sarcopenia: 筋肉減少症)は、心身の両面において罹患者の生活の質、死期の質を著しく低下させ、終末期医療において重要な社会問題となっている。しかし、その発症、進展のメカニズムの多くが不詳であり、有効な治療法の開発は遅れ、学術的に極めて重要な研究課題になっている。

2. 研究の目的

本研究では、罹癌、加齢の終末期における骨髄由来細胞の役割を解明することを目的とし、炎症とミクログリアの遊走・接着との関係に焦点を当てて、罹癌、加齢の状態において認められる外因性の刺激に対するミクログリアの変化を、CX3CL1(fractalkine)に結合するCX3C chemokine receptor type 1(CX3CR1)の発現を中心にして解析した。また、罹癌、加齢の状態を改善する植物由来物質の探索を行った。

3. 研究の方法

(1) ミクログリアの外因性の刺激に対する変化の解析

罹癌に伴う悪液質、加齢によるサルコペニアの状態におけるミクログリアの役割を検討するために、C57BL/6マウス由来の初代ミクログリア細胞およびmouse microglia cell(MG6)を用いて、以下を投与し、

Dexamethasone

Insulin-like growth factor-1(IGF-1)

Insulin

Ghrelin

Fractalkine

Lipopolysaccharide(LPS)

p38 mitogen-activated protein kinase(MAPK) activator(anisomycin)

CX3CR1、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10、cyclooxygenase (COX)-2、inducible nitric oxide synthase (iNOS)、cyclooxygenase-2 (COX-2)、arginase-1の遺伝子発現、およびp38 MAPK、c-Jun N-terminal kinase (JNK)、nuclear factor-kappa B (NF- κ B)のリン酸化を測定した。

(2) マウスにおけるCX3CR1の外因性の刺激に対する変化の解析

C57BL/6マウスを用いて、以下を実施し、

Dexamethasoneの投与

高脂肪食負荷

海馬および視床下部におけるCX3CR1、fractalkine、TNF- α の発現を解析した。

(3) 植物由来物質のミクログリアへの作用

罹癌に伴う悪液質、加齢によるサルコペニアの状態を改善させる植物由来物質を探索するため、漢方薬の構成生薬である白朮の成分であるatractylenolideによるミクログリアへの作用を検討した。

(4) 骨髄細胞の大腿骨髄内移植法を確立

放射線を照射しないで、骨髄細胞の骨髄内への追加投与を実施するため、骨髄細胞を尾静脈内に投与するのではなく、大腿骨髄内に投与した。

(5) 老化促進モデルマウスを用いた解析

-Klotho欠損マウスならびに正常マウスを用いて、血液、臓器を採取した。

4. 研究成果

ミクログリアの外因性の刺激に対する変化の解析において、dexamethasoneの投与は、CX3CR1のmRNAの発現を低下させた。IGF-1の投与は、CX3CR1のmRNAの発現を上昇させた。一方、insulinならびにghrelinの投与は24時間後のCX3CR1のmRNAの発現を変化させなかった。Fractalkineの投与は、TNF- α 、IL-1 β 、COX-2およびiNOSのmRNAの発現を変化させなかったが、LPSによるTNF- α 、COX-2およびIL-1 β のmRNAの発現の増加、p38 MAPKのリン酸化亢進、を抑制した。一方、JNKおよびNF- κ Bのリン酸化亢進には影響を及ぼさなかった。p38 MAPK activator (anisomycin)によるTNF- α 、COX-2およびIL-1 β のmRNAの発現増加には、fractalkineは影響を及ぼさなかった。

C57BL/6マウスにおいて、dexamethasoneの7日間の末梢投与は、海馬におけるCX3CR1のmRNAの発現を低下させた。高脂肪食飼育下のマウスの海馬および視床下部でのTNF- α のmRNAの発現は増加し、fractalkineおよびCX3CR1のmRNAの発現は減少した。

サイトカインが高値となる罹癌状態における、植物由来のatractylenolideのミクログリアへの作用を検討した結果、atractylenolideの投与は、toll-like receptor 4のmRNAの発現および蛋白レベルを低下させ、LPSによるTNF- α 、IL-1 β のmRNAの発現および蛋白レベルの増加、p38 MAPKおよびJNKのリン酸化の亢進、を抑制した。また、骨髄細胞の大腿骨髄内移植法を確立するとともに、骨髄細胞 - 老化の関係を解明するため、老化促進モデルマウスおよび正常マウスの血液、臓器を採取し、ghrelinに対する自己抗体を中心にして解析を実施した。

外因性の刺激に対するミクログリアの反応を中心にした本研究による知見から、ストレスや食、罹癌により、ミクログリアの遊走・接着・機能が変化し、ミクログリアが標的とする臓器の機能が、ミクログリアによって制御されている可能性が示され、罹癌に伴う悪液質や老化に伴うサルコペニアの発症、進展のメカニズムの解明に寄与することが予想される。今後、ミクログリアを含む骨髄系が、器質的疾患のみならず、精神疾患を含む多くの疾患の治療・予防のための重要なターゲットになることが示唆された。

<引用文献>

Asakawa A, Inui A, Kaga T, Yuzuriha H, Nagata T, Ueno N, Makino S, Fujimiya M, Nijima A, Fujino MA, Kasuga M: Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from

stomach with structural resemblance to motilin. Gastroenterology 120:337-345,2001

Inoue H, Ogawa W, Asakawa A, Okamoto Y, Nishizawa A, Matsumoto M, Teshigawara K, Matsuki Y, Watanabe E, Hiramatsu R, Notohara K, Katayose K, Okamura H, Kahn CR, Noda T, Takeda K, Akira S, Inui A, Kasuga M: Role of hepatic STAT3 in brain-insulin action on hepatic glucose production. Cell Metab 3:267-275,2006

Takagi K, Legrand R, Asakawa A, Amitani H, François M, Tennoune N, Coëffier M, Claeysens S, do Rego JC, Déchelotte P, Inui A, Fetissov SO: Anti-ghrelin immunoglobulins modulate ghrelin stability and its orexigenic effect in obese mice and humans. Nat Commun 4:2685,2013

Houghton J, Stoicov C, Nomura S, Rogers AB, Carlson J, Li H, Cai X, Fox JG, Goldenring JR, Wang TC: Gastric cancer originating from bone marrow-derived cells. Science 306:1568-1571,2004

Brevet M, Kojima H, Asakawa A, Atsuchi K, Ushikai M, Ataka K, Inui A, Kimura H, Sevestre H, Fujimiya M: Chronic foot-shock stress potentiates the influx of bone marrow-derived microglia into hippocampus. J Neurosci Res 88:1890-1897,2010

Urabe H, Kojima H, Chan L, Terashima T, Ogawa N, Katagi M, Fujino K, Kumagai A, Kawai H, Asakawa A, Inui A, Yasuda H, Eguchi Y, Oka K, Maegawa H, Kashiwagi A, Kimura H: Haematopoietic cells produce BDNF and regulate appetite upon migration to the hypothalamus. Nat Commun 4:1526,2013

Ataka K, Asakawa A, Nagaishi K, Kaimoto K, Sawada A, Hayakawa Y, Tatezawa R, Inui A, Fujimiya M: Bone marrow-derived microglia infiltrate into the paraventricular nucleus of chronic psychological stress-loaded mice. PLoS One 8:e81744,2013

5 . 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〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：八木 孝和

ローマ字氏名：YAGI, Takakazu

所属研究機関名：鹿児島大学

部局名：医歯学域歯学系

職名：講師

研究者番号(8桁)：1 0 3 4 6 1 6 6

研究分担者氏名：安宅 弘司

ローマ字氏名：ATAKA, Koji

所属研究機関名：鹿児島大学

部局名：医歯学総合研究科

職名：特任講師

研究者番号(8桁): 3 0 5 6 3 3 5 8

研究分担者氏名: 加藤 郁夫

ローマ字氏名: KATO, Ikuo

所属研究機関名: 神戸薬科大学

部局名: 薬学部

職名: 教授

研究者番号(8桁): 7 0 5 0 9 8 4 3

研究分担者氏名: 網谷 東方

ローマ字氏名: AMITANI, Haruka

所属研究機関名: 鹿児島大学

部局名: 医歯学域附属病院

職名: 講師

研究者番号(8桁): 7 0 5 3 5 6 7 4