

令和 2 年 7 月 3 日現在

機関番号： 82111

研究種目： 若手研究

研究期間： 2018～2019

課題番号： 18K15037

研究課題名(和文) がん悪液質における中枢性プリン代謝変化を標的とした新規治療法開発の基盤構築

研究課題名(英文) Development of a novel therapy for cancer cachexia targeting the purine metabolism in the central nervous system

研究代表者

宇津 美秋 (Uzu, Miaki)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・生物機能利用研究部門・研究員

研究者番号： 20802896

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)：<1年目の研究成果> ヒト胃がん細胞株85As2をBALB/cAJcl-nu/nu nudeマウスの皮下に移植することでがん悪液質モデルを作製し、体重や摂餌量の減少といった悪液質症状を呈し始める85As2移植2週間後の中枢性変化を解析した。モデルマウスの前脳ではプリンヌクレオチド代謝およびアストロサイトマーカーの発現が亢進していた。

<2年目の研究成果> コラーゲンビトリゲル膜を培養担体とし、アストロサイトと脳微小血管内皮細胞から成る血液脳関門モデルを作製した。本モデルは炎症誘発物質に対し優れた反応性を示したことから、がん悪液質におけるアストロサイトの役割を解明する上で有用であると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、未だに有効な治療法の確立されていないがん悪液質において、中枢神経系のプリンヌクレオチド代謝やアストロサイトの活性制御が新規治療法となり得ることを明らかにした。また、本研究において新たに構築した血液脳関門モデルはがん悪液質の迅速なスクリーニングを可能とすることが期待される。以上より、本研究はがん緩和医療の発展に貢献し得ると考えられる。

研究成果の概要(英文)：<Research Achievement during the 1st year> Cancer cachexia model was prepared by subcutaneous injection of 85As2 cells (a gastric cancer cell line) into BALB/cAJcl-nu/nu nude mice. The model mice started to present cachexic symptoms such as a decrease of body weight and food intake 2 weeks after 85As2 inoculation. Therefore, the alteration in the central nervous system was investigated at that time point. It was revealed that the purine nucleotide metabolism and the expression of astrocytic marker was increased in the forebrain of the model mice.

<Research Achievement during the 2nd year> A blood-brain barrier model composed of astrocytes and brain microvascular endothelial cells was fabricated utilizing a collagen vitrigel membrane. The model showed high responsiveness to inflammatory stimuli, suggesting that this model is useful for the investigation of the role of astrocytes in the pathogenesis of cancer cachexia.

研究分野： 薬理系薬学

キーワード： がん悪液質 プリンヌクレオチド代謝 アストロサイト 炎症 コラーゲンビトリゲル膜

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

悪液質は、食欲不振、体重減少、脂肪・筋肉組織の消耗、全身衰弱、倦怠感を特徴とし、がん、慢性心不全、慢性障害肺疾患、慢性腎疾患で認められる進行性消耗状態である。特に進行がん患者では約 80% に認められ、がん死因の約 20% を占めるとの報告もある (*Eur J Cancer*. 42: 31-41, 2006.)。悪液質は患者の QOL 低下を招き、生命予後にも影響するため、その対策は喫緊の課題であるが、未だに確立された治療法はない。その要因のひとつに、ヒトの悪液質診断基準を満たす動物モデルが少なく、悪液質の発症・進展メカニズムの解明が不十分であることが挙げられる。これまでに、申請者の所属する研究分野では、ラットまたはマウスに胃がん細胞株 85As2 を皮下移植することで摂餌量低下、体重減少、筋肉量減少を伴う除脂肪量低下、更に血漿中の炎症性サイトカインの増加 (特にインターロイキン 6 ファミリーの leukemia inhibitory factor: LIF) 等、ヒト悪液質診断基準を満たすがん悪液質モデル動物を確立した (*Am J Physiol Endocrinol Metab*. 306: E373-387, 2014.)。

一方、食欲は脳視床下部の摂食促進・抑制ニューロンの活動により調節されているが、炎症性サイトカインの中枢作用により食欲が低下することが報告されている (*Peptides*. 30: 210-218, 2009.)。また、当研究分野で確立した 85As2 移植悪液質モデルマウスの視床下部において、炎症惹起の際に活性化される p38 の活性化を認めている。以上の知見より、がん悪液質では LIF 等の炎症性サイトカインが中枢神経系、特に視床下部における炎症反応を惹起し、その結果食欲低下を引き起こしていると予想される。

2. 研究の目的

がん悪液質における中枢神経系の変化を網羅的に解析し、新規の治療ターゲットを探索する。

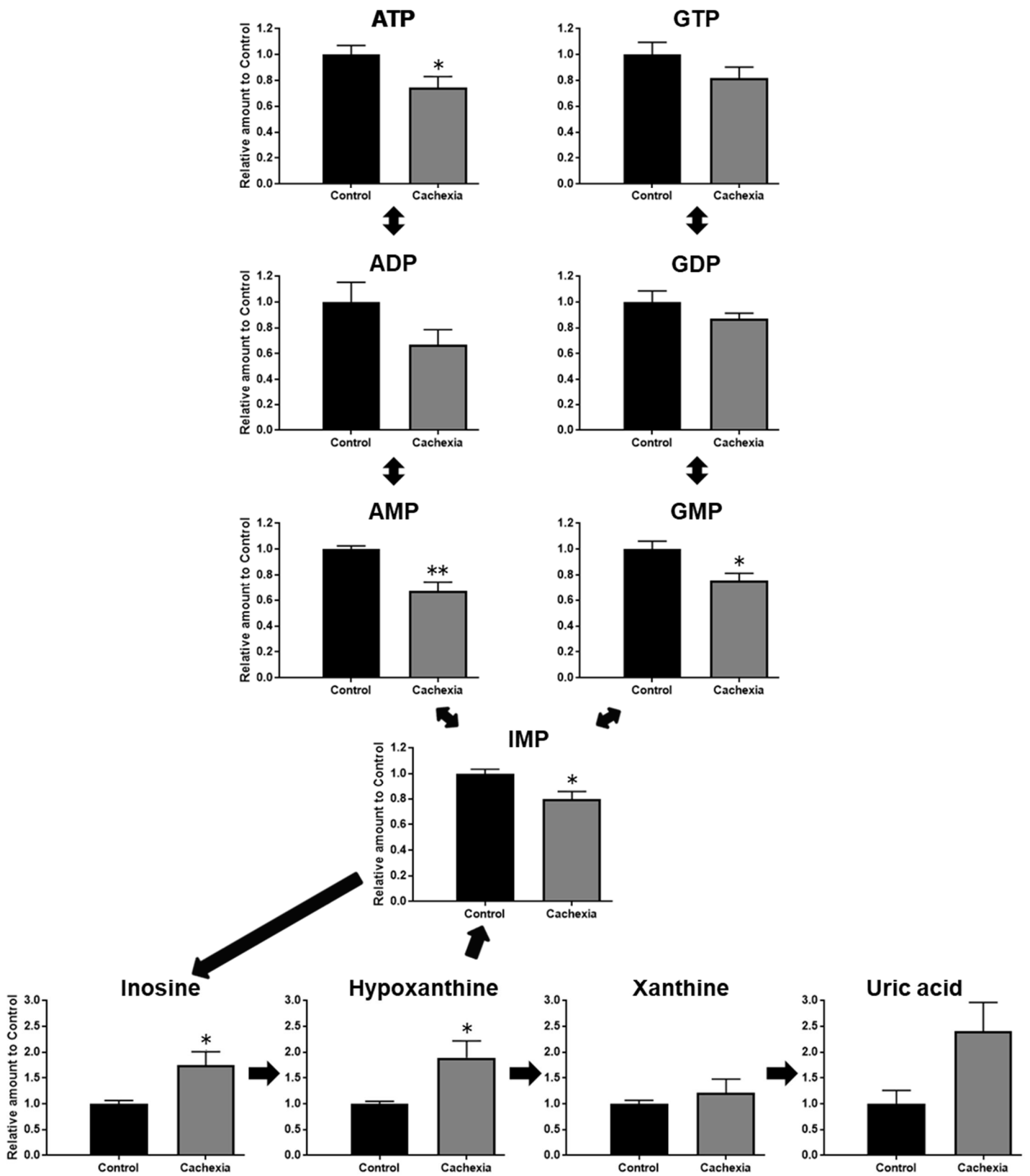
3. 研究の方法

- (1) イソフルラン吸入麻酔下にて、BALB/cAJcl-nu/nu nude マウスの皮下にヒト胃がん細胞株 85As2 を移植し、85As2 誘発がん悪液質モデル動物を作製する。ヒトにおける診断基準では、食欲低下および 5% 以内の体重減少を呈する状態を悪液質初期と定義されることから、体重および摂餌量を経時的に測定することで、85As2 誘発がん悪液質モデル動物の悪液質初期の時期を見出す。
- (2) 作製した悪液質初期のモデルマウスの脳を採取し、キャピラリー電気泳動-飛行時間型質量分析計 (CE-TOFMS) を用いて約 100 種類の水溶性代謝物の定量を行い、変化の大きい代謝経路を見出す。
- (3) (2) で見出した代謝経路と関連の深い因子のタンパク質発現や活性を評価する。
- (4) (3) で変化を見出した因子ががん悪液質の病態にどのように寄与するか明らかにするため、中枢神経系細胞の培養モデルを用いて検討する。

4. 研究成果

- (1) BALB/cAJcl-nu/nu nude マウスに 85As2 細胞を移植したところ、移植 2 週間後より顕著な摂餌量および体重の減少を認めたことから、85As2 細胞移植 2 週間後を悪液質初期と定義した。
- (2) 悪液質初期のモデルマウスの脳内では、プリン塩基の代謝物量変化が大きいことを見出した (図 1 参照)。
- (3) プリン塩基の分解に関わるキサンチンオキシダーゼの活性を測定したところ、悪液質初期モデルの脳内では、コントロールと比較してプリン塩基の分解に関わるキサンチンオキシダーゼの活性およびアストロサイトマーカーの発現が増加していることを見出した。
- (4) コラーゲントリゲル膜を培養単体として使用し、アストロサイトと脳微小血管内皮細胞株より成る血液脳関門モデルを作製した。本モデルは炎症応答性に優れていたことから、今後がん悪液質におけるアストロサイトの役割を解明する上で有用であると期待される。

以上より、本研究はがん悪液質の新規治療方法の開発に貢献すると期待される。



【図1: 悪液質初期モデルの脳内プリン塩基代謝の変化】

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Uzu Miaki, Sin Wun, Shimizu Ayaka, Sato Hiromi	4. 巻 19
2. 論文標題 Conflicting Roles of Connexin43 in Tumor Invasion and Growth in the Central Nervous System	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 1159 ~ 1159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms19041159	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 -
1. 著者名 Yokoyama Toru, Terawaki Kiyoshi, Minami Kouichiro, Miyano Kanako, Nonaka Miki, Uzu Miaki, Kashiwase Yohei, Yanagihara Kazuyoshi, Ueta Yoichi, Uezono Yasuhito	4. 巻 30
2. 論文標題 Modulation of synaptic inputs in magnocellular neurones in a rat model of cancer cachexia	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Neuroendocrinology	6. 最初と最後の頁 e12630 ~ e12630
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jne.12630	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Miyano Kanako, Nonaka Miki, Uzu Miaki, Ohshima Kaori, Uezono Yasuhito	4. 巻 5
2. 論文標題 Multifunctional Actions of Ninjinyoeito, a Japanese Kampo Medicine: Accumulated Scientific Evidence Based on Experiments With Cells and Animal Models, and Clinical Studies	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Nutrition	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnut.2018.00093	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 -
1. 著者名 Terawaki Kiyoshi, Kashiwase Yohei, Uzu Miaki, Nonaka Miki, Sawada Yumi, Miyano Kanako, Higami Yoshikazu, Yanagihara Kazuyoshi, Yamamoto Masahiro, Uezono Yasuhito	4. 巻 9
2. 論文標題 Leukemia inhibitory factor via the Toll-like receptor 5 signaling pathway involves aggravation of cachexia induced by human gastric cancer-derived 85As2 cells in rats	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.26190	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 -

1. 著者名 Sato Hiromi, Uzu Miaki, Kashiba Tatsuro, Fujiwara Takuya, Hatakeyama Hiroto, Ueno Koichi, Hisaka Akihiro	4. 巻 847
2. 論文標題 Trichostatin A modulates cellular metabolism in renal cell carcinoma to enhance sunitinib sensitivity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Journal of Pharmacology	6. 最初と最後の頁 143 ~ 157
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejphar.2019.01.040	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 大島佳織, 宮野加奈子, 石橋尚人, 大道容子, 藤井百合子, 真鍋星, 宇津美秋, 野中美希, 宮野加奈子, 藤井秀明, 吉澤一巳, 上園保仁.
2. 発表標題 各種医療麻薬の鎮痛効果におけるオピオイド二量体受容体の役割 ~ μ 、および新規作製 μ / 二量体受容体安定発現細胞を用いた比較解析 ~
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 永淵かおり, 平野絢音, 江藤萌子, 宮野加奈子, 大宮雄司, 宇津美秋, 野中美希, 樋上賀一, 藤井秀明, 上園保仁.
2. 発表標題 漢方薬半夏瀉心湯が抗がん剤のがん細胞増殖抑制作用に及ぼす影響の解析
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 Nonaka M, Kurebayashi N, Murayama T, Sugihara M, Hosoda H, Kishida S, Uzu M, Kangawa K, Sakurai T, Uezono Y.
2. 発表標題 Therapeutic effects of ghrelin and des-acyl ghrelin on anthracycline doxorubicin-induced cardiac toxicity
3. 学会等名 WCP2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Uzu M, Nonaka M, Miyano K, Sato H, Kurebayashi N, Murayama T, Sakurai T, Hisaka A, Uezono Y.
2. 発表標題 Novel strategy for treatment of cancer cachexia based on metabolic alteration in central nervous system in a mouse model
3. 学会等名 WCP2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Manabe S, Miyano K, Ogino T, Oshima K, Uzu M, Nonaka M, Matsuoka Y, Sato T, Morimatsu H, Uezono Y.
2. 発表標題 Characterization of the properties of four opioid analgesics approved in Japan with cells stably expressing μ ORs using the CellKey and GloSensor cAMP assay systems
3. 学会等名 WCP2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sato H, Shimizu A, Uzu M, Ueno K, Hisaka A.
2. 発表標題 Communication between astrocyte and metastasized cancer cell focused on changes of cellular metabolism
3. 学会等名 WCP2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宇津美秋, 野中美希, 宮野加奈子, 佐藤洋美, 呉林なごみ, 村山尚, 櫻井隆, 樋坂章博, 上園保仁.
2. 発表標題 中枢性プリン代謝変化を標的とした新規がん悪液質治療薬開発
3. 学会等名 第4回 次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Uzu M, Nonaka M, Miyano K, Sato H, Uezono Y.
2. 発表標題 A novel strategy for treatment of cancer cachexia targeting for alteration of the purine metabolism in the brain
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nonaka M, Uzu M, Terawaki K, Miyano K, Uezono Y.
2. 発表標題 Human stomach cancer cell line 85As2 induced cancer cachexia associated with cardiac dysfunction
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ueno S, Nonaka M, Kakigi R, Uzu M, Kurebayashi N, Murayama T, Terawaki K, Sakurai T, Uezono Y.
2. 発表標題 Voluntary wheel running may improve cardiac dysfunction in experimental mouse model of cancer-induced cachexia
3. 学会等名 第92回日本薬理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Uzu M, Nonaka M, Miyano K, Sato H, Kurebayashi N, Murayama T, Sakurai T, Hisaka A, Uezono Y.
2. 発表標題 A novel strategy for treatment of cancer cachexia targeting the altered purine metabolism in the brain
3. 学会等名 第92回日本薬理学会年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 血液組織閉門インビトロモデル、及び薬物の血液組織閉門移行性評価方法	発明者 竹澤俊明、宇津美秋	権利者 農業・食品産業 技術総合研究機 構
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-190832	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

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