

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 2 月 10 日現在

機関番号：82609

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09052

研究課題名(和文)痛みと神経免疫の関連機構

研究課題名(英文)Relationship between pain and neural immunity

研究代表者

大岡 静衣 (OHKA, Sei)

公益財団法人東京都医学総合研究所・精神行動医学研究分野・主席研究員

研究者番号：80313097

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)：インターロイキン-17A(IL-17A)遺伝子の一塩基多型(SNP)rs2275913と顎矯正手術前後の痛み関連表現型との関連を解析した。当該SNPのAA遺伝子型では炎症系が活性化されることにより、顎矯正手術後のオピオイド要求性に影響を及ぼす可能性を明らかにした。また、帯状疱疹・帯状疱疹後神経痛と関連の強いheparan sulfate glucosamine 3-O-sulfotransferase 4(HS3ST4)遺伝子の多型を見出した。HS3ST4発現により水痘帯状疱疹ウイルス感染時の細胞融合能が惹起された。細胞融合による神経病原性上昇が疼痛発現に寄与する可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

疼痛の実験をヒトでは行うことができないため、ヒトでの疼痛に関する機構は未解明な部分が多いが、ヒトでの炎症性痛み刺激に関与する分子を、ヒトサンプルを用いたヒトゲノム解析により示した点で、学術的意義がある。疼痛を制御することは、Quality of life(QOL)の向上に直結する課題であり、本課題の結果を疼痛制御へ応用する可能性も考えられ、社会的意義も大きいと考える。

研究成果の概要(英文)：To clarify whether interleukin-17A (IL-17A) contributes to pain-related phenotypes in humans, we investigated the association between pain-related phenotypes and single-nucleotide polymorphisms (SNPs) of the IL-17A gene. Our results suggest that opioid requirements during and after surgery are enhanced in carriers of the AA genotype of the rs2275913 SNP, possibly through an enhancement of IL-17A function that induces inflammation related to the inflammatory pain stimulus.

Post-herpetic neuralgia (PHN) is neuropathic pain caused by reactivation of latent varicella-zoster virus (VZV), i.e. herpes zoster (HZ). By statistical analysis of PHN or HZ affected patients and healthy subjects, SNPs of heparan sulfate glucosamine 3-O-sulfotransferase 4 (HS3ST4) were significantly related to PHN or HZ. We also clarified that HS3ST4 enhances cell fusion. Together with a former report, HS3ST4 might relate to higher neurovirulence of VZV in vivo, leading to long-lasting pain.

研究分野：ウイルス学

キーワード：インターロイキン17A 痛み オピオイド要求性 一塩基多型 水痘帯状疱疹ウイルス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、痛みと免疫系の関連が明らかになってきた。痛みを緩和すると報酬系が活性化される上 [1]、報酬系の活性化と免疫が関連することが報告された [2]。したがって、痛みと免疫系は関連すると思われる。しかし、その詳細な機構は明らかにされていない。

疼痛の一般的な概念には、侵害受容性疼痛、神経障害性疼痛とともに、心因性疼痛が含まれる。代表者は、慢性疼痛に關与する心因性疼痛と、心理的痛みを伴う慢性ストレスは、痛みの表現型が異なるけれども心理的共通項が多いと考えた。そこで代表者は、痛みを物理的な痛みと心理的な痛みに分類し、仮説概念を考えた。物理的痛み・心理的痛みそれぞれに急性痛と慢性痛がある。慢性痛に關し、物理的痛み(心因性疼痛)と心理的痛み(慢性ストレス)の両方で、共通した免疫系分子が關与する可能性を考えた。

ヒトにおいて、物理的痛みが激しい疾患では、炎症性サイトカインであるインターロイキン(IL)-6、IL-17A等の発現が上昇する [3,4]。また、物理的慢性痛を伴う自己免疫疾患や脊髄損傷痛は、IL-6、IL-17A に対する中和抗体により、痛み等の症状が緩和される(医薬品承認済み)。一方、心理的な慢性ストレスによっても IL-6、IL-17 が発現上昇する [5,6]。また、マウスでも IL-6、IL-17A は物理的・心理的慢性痛に關連する [7-12]。このように、ヒト・マウスで共通して物理的・心理的な慢性痛に IL-6、IL-17A 等が關与する可能性が考えられる。IL-6、IL-17A はともに IL-17A 炎症経路に關わることから、脳内で IL-17A 炎症経路が活性化された場合、物理的・心理的慢性痛を引き起こす可能性が考えられる。

脳内での免疫担当細胞には、ミクログリア、アストロサイト、オリゴデンドログリアがある。ミクログリアはストレスにより変化することが知られている。また、Lipopolysaccharide 投与後、ミクログリアを介して IL-17A の発現が上昇し痛み感受性が上がることから [13,14]、IL-17A と痛み感受性には、ミクログリアが關与する可能性が十分に考えられる。活性化ミクログリアには、神経生存を促す保護性ミクログリアと、炎症性物質を放出し神経細胞の損傷を引き起こす傷害性ミクログリアがある。痛みの慢性化には、ミクログリアの活性化が關わることを報告された [15]。ミクログリアは IL-17A 処理により IL-6 等を発現することから、痛みの慢性化に傷害性ミクログリアを介して IL-17A が關与する可能性も十分に考えられる。

上述のとおり、ヒトゲノム解析、ヒト・マウスでの報告等から、IL-17A 炎症経路と痛みが機能的に關連することはほぼ間違いない。物理的・心理的痛みの元となる刺激が神経の異常発火を起こし、ミクログリアの活性化等が起こり、IL-17A 炎症経路が活性化されることにより脳内の炎症が引き起こされ、痛み感受性が上がり、痛みの慢性化につながる可能性が考えられる。

2. 研究の目的

近年、報酬系を介して痛みと免疫系が間接的に關連することが報告された。しかし、その機構は解明されていない。代表者は、慢性疼痛に關与する心因性疼痛と、心理的慢性ストレスは、物理的な痛みの有無以外は、心理的共通要素が多いと考えた。両者に共通する免疫系分子が存在する可能性を考え、過去の報告を調べたところ、IL-17A 炎症経路に關与する炎症性サイトカイン IL-17A 等が見つかった。IL-17A とヒトでの痛み感受性の關連解析を代表者が行ったところ、有意な關連が見られた。そこで、本課題では、慢性的な痛みの発症やストレス応答に IL-17A 炎症経路等がどのように關連するのかを明らかにし、痛み発症の分子機構を解明する。また、IL-17A 以外にも痛みに關与する新規分子を見出すことができれば、その分子機構を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) IL-17A 遺伝子 SNP と痛み表現型との關連解析

東京歯科大学水道橋病院で顎矯正手術を受けた 354 名の日本人のサンプルを用いた。關連表現型として、術前寒冷昇圧試験による痛み感受性と術中術後鎮痛薬使用量を検討した。ヒト IL-17A 遺伝子の rs2275913 一塩基多型(SNP)について統計解析を行った後、ヒト IL-17A 遺伝子および隣接する IL-17F 遺伝子コーディング領域周辺の 80 SNPs について既報の全ゲノム解析データから IL-17A/F 遺伝子領域の遺伝子型データを抽出し、痛み表現型との關連が認められた rs1937146 SNP と rs9357726 SNP について統計解析を行った。IL-17A/F 遺伝子領域にある 80 SNPs の遺伝子型データは、既報のゲノムワイド關連解析データから抽出した。SPSS ソフトウェア (IBM) を用いて統計解析を行った。

(2) 帯状疱疹・帯状疱疹後神経痛と heparan sulfate glucosamine 3-O-sulfotransferase 4 (HS3ST4) SNP の關連解析および HS3ST4 の機能解析

JR 東京総合病院、順天堂大学病院、日本大学板橋病院に慢性痛の治療に訪れた 191 名と、健康人コントロールとして 282 名の日本人サンプルを用い、統計解析を行った。水痘・帯状疱疹ウイルス (VZV) 感染実験では、VZV 野生株とヒトメラノーマ細胞を用いた。VZV 感染細胞内の VZV コピー数測定は、TaqMan リアルタイム PCR (Thermo Fisher Scientific) で行った。細胞融合の定量は、CytoTox 96 nonradioactive cytotoxicity assay kit (プロメガ) で行った。プラークアッセイでは、HS3ST4 発現・非発現細胞に VZV を感染させ、感染 7 日後に固定し観察比較した。

4. 研究成果

(1) IL-17A 遺伝子 SNP と痛み表現型との關連解析

IL-17A は、炎症性サイトカインやケモカインなどを誘導することで炎症を引き起し、自己免疫疾患や炎症性疾患、アレルギー反応、病原体感染防御において重要な役割を果たす。これまでの報告から、ヒトにおいて、免疫が報償系を介して痛みと関連することが明らかになっている。また、げっ歯類において、IL-17A が神経炎症や神経痛に関与することも報告されていることから、ヒトでも IL-17A が痛みに関連する可能性が高い。IL-17A 遺伝子の一塩基多型 (SNP) である rs2275913 は、これまでに喘息、リウマチ性関節炎、潰瘍性大腸炎などの炎症性疾患、およびがんとの関連が報告されている。そこで、rs2275913 SNP について、顎矯正手術前後の痛み関連表現型との関連を解析したところ、遺伝子型 AA の患者で術中術後のオピオイド要求性が有意に上昇していたことから ($p = 0.009$)、AA の患者では、IL-17A の機能が亢進し炎症が激化することにより、オピオイド要求性が上昇したと考えられる。このように IL-17A と痛み関連表現型との関連が認められたことから、IL-17A 遺伝子および隣接する IL-17F 遺伝子周辺の SNP について、網羅的に痛み表現型との関連解析を行った。その結果、IL-17A 遺伝子の rs1937146 SNP の CC 遺伝子型および rs9357726 SNP の GG 遺伝子型が術前痛み感受性の上昇と有意に関連することが明らかとなった (rs1937146: $p = 9.2 \times 10^{-6}$, rs9357726: $p = 7.9 \times 10^{-5}$)。これまで、ヒトにおいて、IL-17A の rs2275913 SNP の AA 遺伝子型は炎症を亢進させることも報告されている。したがって、ヒトにおいて IL-17A は炎症系を活性化することにより、痛み感受性や顎矯正手術後のオピオイド要求性に影響を及ぼす可能性が高い。

(2) 帯状疱疹・帯状疱疹後神経痛と heparan sulfate glucosamine 3-O-sulfotransferase 4 (HS3ST4) SNP の関連解析および HS3ST4 の機能解析

HS3ST4 関連物質は炎症や免疫反応に関連することから、炎症や免疫反応を介した痛みにも HS3ST4 関連物質が関与する可能性が考えられる。我々は、VZV 感染により引き起こされる帯状疱疹・帯状疱疹後神経痛発症者のヒト遺伝子多型解析から、VZV 感染への関与が強く推定される、HS3ST4 遺伝子の多型を見出した。この HS3ST4 は VZV との関連について報告がない。VZV は、ヒトに初回感染で水痘を引き起こし、三叉神経節等に生涯にわたり潜伏感染する。その後、免疫力低下等により VZV の再活性化が起こり、帯状疱疹および帯状疱疹後神経痛を引き起こす。我々は、VZV 感染により HS3ST4 発現細胞で細胞融合能が惹起されることを見出した。麻疹ウイルスでは、ウイルス感染による細胞融合能の上昇が神経病原性上昇に直結することから [16]、VZV でも細胞融合能の上昇が神経病原性上昇に繋がることが予想される。また、VZV 再活性化時に細胞融合が惹起され、神経障害が増悪する可能性も高い。また、HS3ST4 発現により VZV 増殖効率が低下することを明らかにした。これは、細胞融合により効率的な VZV 複製が妨げられるためである可能性が考えられる。VZV 感染 HS3ST4 発現培養細胞では亢進した細胞融合能により感染細胞周辺細胞まで融合してまとめて剥離することも明らかにした。この性質が神経細胞の異常興奮に繋がり痛みが生じる可能性が考えられる。あるいは、HS3ST4 発現による細胞融合能の上昇で VZV 複製量が低下することにより、VZV 感染伝播能力や潜伏感染量が低下し、VZV 再活性化・帯状疱疹罹患リスク低下につながる可能性も考えられる。

参考文献

1. Navratilova *et al.*, 2014, *Nat Neurosci*, 17(10):1304-1312.
2. Ben-Shaan *et al.*, 2016, *Nat Med*, 22(8):940-944.
3. Mendieta *et al.*, 2016, *J Neuroimmunol*, 290:22-25.
4. Pernambuco *et al.*, 2013, *Clin Exp Rheumatol*, 31(6 Suppl 79):S60-63.
5. Maes *et al.*, 1999, *Biol Psychiatry*, 45(7):833-839.
6. Carlsson *et al.*, 2014, *J Immunol*, 192(5):2071-2081.
7. Xu *et al.*, 1997, *Cytokine*, 9:1028-1033.
8. Kim *et al.*, 2011, *J Pain*, 12:370-383.
9. Day *et al.*, 2014, *Pain*, 155(7):1293-1302.
10. Voorhees *et al.*, 2013, *PLoS One*, 8(3):e58488.
11. Beurel *et al.*, 2013, *Biol Psychiatry*, 73:622-630.
12. Cheng *et al.*, 2015, *BMC Neurosci*, 16:31
13. Sun *et al.*, 2015, *J Neuroinflammation*, 12:165.
14. Kanaan *et al.*, 1997, *Pharmacology*, 54(6):285-97.
15. Tsuda *et al.*, 2016, *J Diabetes Investig*, 7(1):17-26.
16. Watanabe *et al.*, 2015, *J Virol* 89:2710-2717.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 *Ohka S, Nishizawa D, Hasegawa J, Takahashi K, Nakayama N, Ebata Y, Fukuda K and *Ikeda K.	4. 巻 e12010
2. 論文標題 Association between rs2275913 Single-Nucleotide Polymorphism of the Interleukin-17A Gene and Perioperative Analgesic Use in Cosmetic Orthognathic Surgery.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neuropsychopharmacology Reports	6. 最初と最後の頁 e12010
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/npr.12010	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 Kaneda S, Kurihara K, Suzuki K, Takanobu H and Ohka S	4. 巻 15
2. 論文標題 Microfluidic devices for the generation of centimeter-long motor nerve organoids derived from iPSCs	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Micro & Nano Letters	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1049/mnl.2019.0541	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 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件/うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Seii OHKA, Daisuke NISHIZAWA, Junko HASEGAWA, Naomi SATO, Hidetaka YAMADA, Fumihiko TANIOKA, Haruhiko SUGIMURA, Kazutaka IKEDA.
2. 発表標題 Rs6738544 SNP of STAT4 and rs2298170 SNP of STAT6 are associated with nicotine dependence.
3. 学会等名 6th Congress of Asian College of Neuropsychopharmacology（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Moe SOEDA, Seii OHKA, Daisuke NISHIZAWA, Manabu SUNO, Ken-ichi FUKUDA, Tatsuya ICHINOHE, Kazutaka IKEDA.
2. 発表標題 Association between a protease-activated receptor 2 gene polymorphism and cold water immersion-induced pain sensitivity.
3. 学会等名 6th Congress of Asian College of Neuropsychopharmacology（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 添田 萌, 大岡 静衣, 西澤 大輔, 須野 学, 福田 謙一, 一戸 達也, 池田 和隆
2. 発表標題 プロテアーゼ活性化受容体PAR2 の遺伝子多型と冷水刺激誘発性疼痛感受性の関連
3. 学会等名 第13回日本緩和医療薬学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Seii Ohka, Daisuke Nishizawa, Ken-ichi Fukuda, Kazutaka Ikeda.
2. 発表標題 Associations between polymorphisms of the inflammation-related genes and pain or sensitivity to analgesics.
3. 学会等名 Asian College of Neuropsychopharmacology Presents: ASEAN International Congress of Neuropsychopharmacology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 1. 大岡静衣、西澤大輔、長谷川準子、佐藤直美、山田英孝、谷岡書彦、梶村春彦、池田和隆
2. 発表標題 STAT4 遺伝子の一塩基多型rs6738544 および STAT6 遺伝子の一塩基多型rs2298170はニコチン依存と統計的に有意に関連する
3. 学会等名 第48回日本神経精神薬理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 2. Seii Ohka, Daisuke Nishizawa, Junko Hasegawa, Naomi Sato, Hidetaka Yamada, Fumihiko Tanioka, Haruhiko Sugimura and Kazutaka Ikeda.
2. 発表標題 rs6738544 SNP of STAT4 and rs2298170 SNP of STAT6 associate with nicotine dependence.
3. 学会等名 CINP 2018 Vienna World Congress (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Seii Ohka, Daisuke Nishizawa, Junko Hasegawa, Kaori Takahashi, Kyoko Nakayama, Yuko Ebata, Ken-ichi Fukuda, Kazutaka Ikeda
2. 発表標題 Single Nucleotide Polymorphisms in the 5' Flanking Region of Interleukin-17A Gene Significantly Associate with Pain Sensitivity
3. 学会等名 5th Asian College of Neuropsychopharmacology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大岡静衣、西澤大輔、長谷川準子、高橋香央里、中山京子、江畑裕子、福田謙一、池田和隆
2. 発表標題 インターロイキン-17Aの一塩基多型と痛み関連表現型との関連解析
3. 学会等名 第47回日本神経精神薬理学会年会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

公益財団法人東京都医学総合研究所依存性薬物プロジェクトHP http://www.igakuken.or.jp/abuse/
--

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
研究分担者	西澤 大輔 (Nishizawa Daisuke) (80450584)	公益財団法人東京都医学総合研究所・精神行動医学研究分野・主席研究員 (82609)	

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