

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：15301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15202

研究課題名(和文)難治性掻痒症の神経機構解明に向けての新規アプローチ

研究課題名(英文)A new approach for the understand of neural mechanisms underlying the intractable pruritus

研究代表者

坂本 浩隆 (SAKAMOTO, Hirotaka)

岡山大学・自然科学研究科・准教授

研究者番号：20363971

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：我々が経験する強い『痒み』は非常に耐え難く、生活の質(QOL)を著しく低下させる。一方、最近、神経ペプチドホルモンのガストリン放出ペプチド(GRP)、およびその受容体(GRPR)が介在し、脳延髄および脊髄レベルで痛覚とは乖離した神経機構により、痒覚を特異的に伝達することが報告された。そこで本研究では、げっ歯類の掻痒症モデルを用いてGRP系に着目し、難治性掻痒症の神経機構とその病態生理の解明に迫る。さらに、『痒み』の鍵因子としてのGRP系を、ニホンザルの解析を通じて霊長類において普遍化し、臨床応用(痒み制圧)への『橋渡し』を目指す。

研究成果の概要(英文)：Itch or pruritus has been defined as an unpleasant sensation of the skin that provokes the urge to scratch in order to relieve the stress of itch. Itch followed by scratching worsens skin inflammation, inducing an itch-scratch cycle. Important findings have recently demonstrated that spinal itch transmission is independent of pain transmission and relies on gastrin-releasing peptide (GRP)/GRP receptor signalling in the dorsal horn of the spinal cord, as well as in the trigeminal sensory system in the medulla oblongata. We have recently generated a transgenic rat expressing the red fluorescent protein under control of the GRPR promoter. In this study, we used this transgenic rat model to examine the GRPR system in vivo in rodents. On the other hand, macaque monkeys appear to be an excellent model because they are close primate relatives to humans. Therefore, in this study, we also worked to identify this GRP system in primates using the Japanese macaque monkey (*Macaca fuscata*).

研究分野：神経内分泌学・神経解剖学

キーワード：ガストリン放出ペプチド (GRP) GRP受容体 痒み 難治性掻痒症 霊長類 遺伝子改変ラット 脊髄三叉神経系

## 1. 研究開始当初の背景

痒みとは『引っ掻きたいという衝動を誘発する不快な皮膚感覚』と定義され、非常に耐え難く、掻破行動によりヒスタミン、セロトニン等の内因性の起痒物質の遊離を促進し、痒みの悪循環「itch-scratch cycle」を導きかねない。皮膚炎等の症状がさらに悪化すれば、人前でも激しく掻くようになり、仕事や勉強に集中できなくなる。また非覚醒時の夜間でも掻き続け、寝つきが悪くなり、睡眠の質が低下する。さらに、痒みによる不快感やいらだちにより、精神面にも多大な影響を受ける。これらは個人の日常生活動作(ADL)や生活の質(QOL)の低下を招くのみでなく、社会全体の生産性を大きく低下させる原因となり得る。しかし、これら慢性掻痒に対する根本的な治療薬は存在しない。

一方、我々はこれまでに、神経ペプチドホルモンのガストリン放出ペプチド(GRP)が、げっ歯類において脊髄レベルで雄の性機能を制御することを報告してきた。ほぼ同時期に、同じGRPが脊髄レベルで痒覚を特異的に伝達することがげっ歯類で報告された。しかしながら、GRPを中心としたかゆみ神経回路の理解は未だ不十分であり、GRPを標的とした痒み抑圧に関する基礎研究は喫緊の研究課題であると言える。

## 2. 研究の目的

これらの背景から、本研究では、ラット・マウスのアトピー性皮膚炎(脊髄神経系)モデル、およびアレルギー性結膜炎モデル(三叉神経系)を用い、GRP系に着目することにより、難治性掻痒症の病態生理解明に迫ることを第一の目的としている。

さらに、脊髄レベルで「痒み」を制御する神経ホルモンとして、GRPが普遍的であるかどうかを霊長類のニホンザル(*Macaca fuscata*)を用いて解析し、我々ヒトを含む霊長類において普遍化し、臨床応用への『橋渡し』を目指す。

## 3. 研究の方法

(1) 本研究室で作出したGRP受容体遺伝子改変ラット[GRP受容体を発現する細胞に赤色蛍光タンパク質RFPとヒトジフテリア毒素受容体を同時に発現するトランスジェニック(Tg)ラット]のキャラクタリゼーションを進めた。GRP受容体Tgラットの脳と脊髄におけるGRP受容体発現ニューロンの局在についてRFPシグナルを指標に解析した。

(2) これまでヒトを含む霊長類の脊髄におけるGRP関連の報告は乏しい。そこで本研究では、臨床への『橋渡し』を目指して、霊長

類の脊髄や脳幹におけるGRP発現とその生理機能を明らかにする目的でニホンザル(*Macaca fuscata*)を用いた解析を行った。

## 4. 研究成果

(1) 本Tgラットを用いて、GRP受容体発現が報告されている脳・脊髄の各領域においてRFP陽性ニューロンを多数観察した。次いで、本Tgラット脳内ヘジフテリア毒素の微量投与を行った。投与後、GRP受容体Tgラットの脳と脊髄におけるGRP受容体発現ニューロンについてRFPシグナルを指標に解析した。その結果、ジフテリア毒素を投与した脳・脊髄領域においてRFP陽性ニューロンの著しい減少を認めた。今回、各種疾患モデルを用いた解析までは進めることができなかったものの、本研究の進展により、難治性掻痒症に関する基礎医学的知見を多く得ることができた。今後の研究発展が大きく見込まれる点で、本研究はおおむね順調に進展しているものと自己評価する。

(2) バイオインフォマティクス解析および遺伝子クローニングによりGRP/GRP受容体遺伝子の同定を試みた結果、マカクザルとヒトにおけるGRPの一次構造は完全一致しており、GRP/GRP受容体遺伝子は霊長類間で高い相同性を示した。さらに、ニホンザル脊髄や脳幹を用いてGRP免疫染色を行い、GRPの発現分布を解析した。その結果、解析したすべての脊髄レベル(頸髄、胸髄、腰髄、仙髄)で共通して、脊髄後角に強いGRP免疫陽性反応を示す線維が観察された。延髄領域でも痒み感覚受容に関係が深いと考えられる三叉神経核尾側亜核に強いGRP免疫陽性反応を認めた。さらに、それに対応して、比較的小型の後神経節ニューロン、および三叉神経節ニューロンの一部にGRP陽性反応を認めた。以上の結果、霊長類の脳幹・脊髄においてもGRP系が存在することが強く示唆された(投稿準備中)

## 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23件)

Tamura K, Kobayashi Y, Hirooka A, Takanami K, Oti T, Jogahara T, Oda SI, Sakamoto T, Sakamoto H. Identification of the sexually dimorphic gastrin-releasing peptide system in the lumbosacral spinal cord that controls male reproductive function in the mouse and Asian house musk shrew (*Suncus murinus*). *Journal of Comparative Neurology*, 2017, 525, 1586-1598. (査読あり)

DOI: 10.1002/cne.24138

Takayanagi Y, Yoshida M, Takashima A, Takanami K, Yoshida S, Nishimori K, Nishijima I, Sakamoto H, Yamagata T, Onaka T. Activation of supraoptic oxytocin neurons by secretin facilitates social recognition.

Biological Psychiatry, 2017, 81, 243-251.(査読あり)

DOI: 10.1016/j.biopsych.2015.11.021

Matsuo S, Matsuda KI, Takanami K, Mori T, Tanaka M, Kawata M, Kitawaki J. Decrease in neuronal spine density in the postpartum period in the amygdala and bed nucleus of the stria terminalis in rat. Neuroscience Letters, 2017, 641, 21-25.(査読あり)

DOI: 10.1016/j.neulet.2017.01.040

Takanami K, Inoue K, Mukai H, Tamura K, Jogahara T, Oda SI, Kawata M, Sakamoto T, Sakamoto H. Comparative anatomy of gastrin-releasing peptide pathways in the trigeminal sensory system of mouse and the Asian house musk shrew *Suncus murinus*. Acta Histochemica et Cytochemica, 2016, 49, 181-190.(査読あり)

DOI: 10.1267/ahc.16030

Sakamoto T, Yoshiki M, Takahashi H, Yoshida M, Ogino Y, Ikeuchi T, Nakamachi T, Konno N, Matsuda K, Sakamoto H. Principal function of mineralocorticoid signaling suggested by constitutive knockout of the mineralocorticoid receptor in medaka fish.

Scientific Reports, 2016, 6, 37991.(査読あり)

DOI: 10.1038/srep37991

Katayama N, Oti T, Takanami K, Sakamoto T, Sakamoto H. Postnatal development of the gastrin-releasing peptide system in the lumbosacral spinal cord controlling male reproductive function in rats. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci., 2016, 92: 69-75.(査読あり)

DOI: 10.2183/pjab.92.69

Oti T, Takanami K, Katayama N, Edey T, Satoh K, Sakamoto T, Sakamoto H. Perinatal testosterone exposure is critical for the development of the male specific sexually dimorphic gastrin-releasing peptide system in the lumbosacral spinal cord that mediates erection and ejaculation.

Biology of Sex Differences, 2016, 7(4):

1-10.(査読あり)

DOI: 10.1186/s13293-016-0058-x.

eCollection 2016

Mukudai S, Matsuda KI, Bando H, Takanami K, Nishio T, Sugiyama Y, Hisa Y, Kawata M. Expression of sex steroid hormone receptors in vagal motor neurons innervating the trachea and esophagus in mouse.

Acta Histochemica et Cytochemica, 2016, 49: 37-46.(査読あり)

DOI: 10.1267/ahc.15037

Sakamoto T, Ogawa S, Nishiyama Y, Akada C, Takahashi H, Watanabe T, Minakata H, Sakamoto H. Osmotic/ionic status of body fluids in the euryhaline cephalopod suggest parallel evolution of osmoregulation.

Scientific Reports, 2015, 5(14469):

1-11.(査読あり)

DOI: 10.1038/srep14469

Takahara Y, Inatani M, Eto K, Inoue T, Iwao K, Kreymerman A, Miyake S, Ueno S, Nagaya M, Nakanishi A, Iwao K, Takamura Y, Sakamoto H, Satoh K, Kondo M, Sakamoto T, Goldberg JF, Nabekura J, Tanihara H. *In vivo* imaging of mitochondrial axonal transport in the diseased and aged mammalian CNS.

Proc Natl Acad Sci U.S.A., 2015, 112: 10515-10520.(査読あり)

DOI: 10.1073/pnas.1509879112

Satoh K, Takanami K, Murata K, Kawata M, Sakamoto T, Sakamoto H. Three-dimensional visualization of multiple synapses in thick sections using high-voltage electron microscopy in the rat spinal cord.

Data in Brief, 2015, 4: 566-570.(査読あり)

DOI: 10.1016/j.dib.2015.07.005.

eCollection 2015 Sep

Sakamoto T, Nishiyama Y, Ikeda A, Takahashi H, Hyodo S, Kagawa N, Sakamoto H. Neurohypophysial hormones regulate the amphibious behavior in the mudskipper goby.

PLoS ONE, 2015, 10(e0134605): 1-16.(査読あり)

DOI: 10.1371/journal.pone.0134605.

eCollection 2015

Satoh K, Takanami K, Murata K, Kawata M, Sakamoto T, Sakamoto H. Effective *synaptome* analysis of itch-mediating

neurons in the spinal cord: a novel immunohistochemical methodology using high-voltage electron microscopy. *Neuroscience Letters*, 599: 86-91.(査読あり)  
DOI: 10.1016/j.neulet.2015.05.031015

Satoh K, Oti T, Katoh A, Ueta Y, Morris JF, Sakamoto T, Sakamoto H. *In vivo* processing and release into the circulation of GFP-fusion protein in arginine vasopressin-enhanced GFP transgenic rats: response to osmotic stimulation. *FEBS Journal*, 2015, 282: 2488-2499.(査読あり)  
DOI: 10.1111/febs.13291

Sakamoto H, Oti T. Oxytocin and the gastrin-releasing peptide system in the spinal cord: Implications for male sexual problems. *Interdisciplinary Information Sciences*, 2015, 21: 235-242.(査読あり)  
[https://www.jstage.jst.go.jp/article/iis/21/3/21\\_2015.B.08/article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/iis/21/3/21_2015.B.08/article)

Yamada S, Ooya M, Takanami K, Matsuda KI, Kawata M. Critical role of androgen receptor in the postnatal period in male sexual behavior in rats. *Neuroscience Letters*, 2015, 609: 189-193.(査読あり)  
DOI: 10.1016/j.neulet.2015.10.040

Takayama Y, Uta D, Furue H and Tominaga M. Pain-enhancing mechanism through interaction between TRPV1 and anoctamin 1 in sensory neurons. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.*, 2015, 112, 5213-8.(査読あり)  
DOI: 10.1073/pnas.1421507112

Kase D, Uta D, Ishihara H and Imoto K. Inhibitory synaptic transmission from the substantia nigra pars reticulata to the ventral medial thalamus in mice. *Neuroscience Research*, 2015, 97, 26-35.(査読あり)  
doi: 10.1016/j.neures.2015.03.007

Uta D, Yoshimura M, Imoto K and Furue H. Action of TRPA1 agonists on dorsal root-evoked synaptic transmission to substantia gelatinosa neurons in adult rat spinal cord. *The Journal of Functional Diagnosis of the Spinal Cord*, 2015, 36, 5-11.(査読あり)

Tonomura S, Ebara S, Bagdasarian K, Uta

D, Ahissar E, Meir I, Lampl I, Kuroda D, Furuta T, Furue H, Kumamoto K. Structure-function correlations of rat trigeminal primary neurons: Emphasis on club-like endings, a vibrissal mechanoreceptor. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.*, 2015, 91, 560-76.(査読あり)  
DOI: 10.2183/pjab.91.560

他 3 件(査読あり)

[学会発表](計 68 件)  
高浪景子 (招待講演)  
ホルモンによる知覚調節 - ライフサイクルやストレス応答に着目して -  
こころとからだの健康シンポジウム  
2017 年 2 月 22 日  
奈良女子大学、奈良

Takanami K (招待講演)  
Evolution and biological significance of itch  
2016 OM Award presentation  
Joint meeting of the 22<sup>nd</sup> International Congress of Zoology and the 87<sup>th</sup> meeting of Zoological Society of Japan.  
2016 年 11 月 15 日~2016 年 11 月 19 日  
Okinawa Convention Center, Ginowan, Okinawa, Japan.

高浪景子、佐藤慧太、河田光博、坂本竜哉、坂本浩隆  
免疫電子顕微鏡法による痒みの神経回路網解析  
日本解剖学会第71回中国・四国支部学術集会  
2016 年 10 月 22 日~2016 年 10 月 23 日  
岡山大学鹿田キャンパス、岡山

坂本浩隆 (招待講演)  
行動を司る時・空間的神経内分泌制御メカニズム  
企画シンポジウム「全身に作用する神経内分泌機構~時間・空間の調節と制御~」  
第 43 回日本神経内分泌学会学術集会  
2016 年 10 月 14 日~2016 年 10 月 15 日  
アクトシティ浜松、浜松

坂本浩隆 (招待講演)  
雄の性機能を司る神経内分泌系の解析  
川上賞受賞講演  
第 43 回日本神経内分泌学会・学術集会  
2016 年 10 月 14 日~2016 年 10 月 15 日  
アクトシティ浜松、浜松

Uta D, Magoshi Y, Kuraishi Y, Andoh T. Analysis of itch-related responses evoked by cutaneous interleukin-31 administration in mice.

The 26th International Symposium of Itch.  
2016.10.8 Tokyo, Japan. Oral (Eisai Co.,  
Ltd., Head office 5F HALL 2016.10.8)

Uta D, Yoshimura M, Kawatsu R, Imoto K,  
Furue H.

Electrophysiological analysis of local  
anesthetic actions on nociceptive  
synaptic transmission in the adult rat  
spinal cord.

IASP 16th World Congress on Pain.  
2016.9.26-30 Kanagawa, Japan, Poster  
(Pacifico Convention Center 2016.9.28)

高浪景子 (招待講演)

系統進化学的アプローチによる痒み感覚の獲得  
およびその生理機能の統合解明に関する研究

H28 年度 RPD 研究交流会

2016 年 9 月 26 日

明治記念館、東京

Uta D, Kato M, Toume K, Komatsu K, Andoh  
T.

Repetitive intraperitoneal injection of  
aucubin reduces mechanical allodynia  
caused by paclitaxel in mice: An *in vivo*  
electrophysiological analysis.

The First International Symposium on  
Toyama-Asia-Africa Pharmaceutical  
Network (1<sup>st</sup> TAA-Pham Symposium).

2016.9.12-13 Toyama, Japan, Poster  
(Toyama International Conference Center  
2016.9.12)

高浪景子 (招待講演)

形態学から迫る "かゆみ" の伝達と進化  
H28 年度第 1 回理工学研究部テニユアトラック  
セミナー

2016 年 9 月 7 日

富山大学五福キャンパス、富山

坂本浩隆、佐藤慧太、高浪景子 (招待講演)  
分子・神経内分泌動態の組織細胞化学的可視  
化

シンポジウム 3 「組織化学を用いた神経系研  
究の up-date」

第 57 回日本組織細胞化学会総会・学術集会  
2016 年 9 月 3 日～2016 年 9 月 4 日

杏林大学井の頭キャンパス、東京

坂本浩隆 (招待講演)

「基礎系」オキシトシンと性機能(特別講演).  
卒後・生涯教育プログラム

日本性機能学会第 27 回学術総会/The 11th  
Japan-ASEAN Conference on Men's Health &  
Aging 合同大会

2016 年 8 月 25～2016 年 8 月 28 日

あべのハルカス、大阪

高浪景子、松田賢一、河田光博、坂本竜哉、  
坂本浩隆 (招待講演)

公募シンポジウム「かたちの意味」, 形態学  
解析から考える痒みの伝達機構

第 121 回日本解剖学会総会・全国学術集会

2016 年 3 月 28 日～2016 年 3 月 30 日

ビックパレットふくしま、福島

高浪景子、坂本浩隆 (招待講演)

スンスにおける神経ペプチド・ホルモン分  
子の進化と機能

第 10 回スンス研究会

2016 年 3 月 27 日

ビックパレットふくしま、福島

坂本浩隆 (招待講演)

神経ペプチド・ホルモン分子の進化と機能  
行動制御モデルとしてのスンス

第 4 回実験動物科学シンポジウム

2015 年 12 月 11 日

岡山理科大学、岡山

Takanami K, Satoh K, Miyazaki N, Murata  
K, Kawata M, Sakamoto T, Sakamoto H.

Effective ultrastructure neuroimaging of  
itch.

The 8<sup>th</sup> World Congress on Itch.

2015 年 9 月 27 日～2015 年 9 月 29 日

Nara Kasugano International Forum IRAKA,  
Nara, Japan

Uta D. (招待講演)

Evaluation of itch by *in vivo* patch clamp  
method.

The 8<sup>th</sup> World Congress on Itch.

2015 年 9 月 27 日～2015 年 9 月 29 日

Nara Kasugano International Forum IRAKA,  
Nara, Japan

坂本浩隆、佐藤慧太、高浪景子、村田和義、  
河田光博、坂本竜哉

超高压電子顕微鏡・トモグラフィー法を用い  
た脊髄内痒み神経ネットワークの解析

第 42 回日本神経内分泌学会 第 23 回日本行  
動神経内分泌学会合同学術集会

2015 年 9 月 18 日～2015 年 9 月 20 日

仙台市戦災復興記念館、仙台

Sakamoto H. (招待講演)

'Volume transmission' role for oxytocin  
projections in the lumbar spinal cord  
controlling male sexual function.

*Parvo- and Magnocellular Symposium in  
Sendai 2015*

2015 年 9 月 17 日

Gonryo Kaikan, Sendai, Japan

Sakamoto H, Satoh K, Oti T, Takanami K,  
Hirakawa H, Sakamoto T

Expression and subcellular localization

of CD38 in the  
hypothalamo-neurohypophysial system in  
rats  
The 39th Annual Meeting of the Japan  
Neuroscience Society (第39回日本神経科  
学大会)  
2016年7月20日～2016年7月22日  
パシフィコ横浜、横浜

他 48 件

〔図書〕(計2件)

坂本 浩隆 (分担執筆)

培風館、第11章「動物における生体制御の  
仕組み」、第13章「脳と行動の仕組み」 in 基  
礎生物科学、高橋純夫編、2016年7月、pp  
110-116、pp. 135-145 (268 ページ)

Sakamoto, H. (分担執筆)

Gastrin-releasing peptide. In “Handbook  
of Hormones: Comparative and General  
Endocrinology”, ed. Takei Y, Ando H,  
Tsutsui K, pp. 191-192, Elsevier, Clare,  
2015. (645 ページ)

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ等

[http://www.science.okayama-u.ac.jp/~rin  
kai/ushi.htm](http://www.science.okayama-u.ac.jp/~rin<br/>kai/ushi.htm)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

坂本 浩隆 (SAKAMOTO, Hirotaka)  
岡山大学・大学院自然科学研究科・准教授  
研究者番号：20363971

### (2) 研究分担者

高浪 景子 (TAKANAMI, Keiko)  
岡山大学・大学院自然科学研究科・特別研究  
員 (RPD)  
研究者番号：70578830

### (3) 研究分担者

歌 大介 (UTA, Daisuke)  
富山大学・大学院医学薬学研究部 (薬学)・  
助教  
研究者番号：70598416