

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：33101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2023

課題番号：18K06707

研究課題名(和文) 原発性胆汁性胆管炎に伴う掻痒症遷延の分子機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the molecular mechanisms underlying persistent pruritus in primary biliary cholangitis

研究代表者

前田 武彦 (Maeda, Takehiko)

新潟薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：50271010

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：マウスを用いて胆汁うっ滞性そう痒(Cholestatic pruritus; CP)のモデルを作成し、その遷延化分子機構の解明を検討した。皮膚や後根神経節において、GRPの発現量がモデルマウスで変化したことから、機能的関連のあるTRPチャンネルに着目し、CPにおける痒み行動への関与を検討した。その結果、モデルマウスの後根神経節ではTRPV4の発現増加が認められたものの、皮膚では低下していた。TRPV4ノックアウトマウスについてCPモデルを作製し検討したところ、皮膚水分保持機能の低下が認められた。以上の結果は、皮膚TRPV4は胆汁性うっ滞性そう痒の発現に関与する可能性を示唆する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性肝疾患では胆汁の流出が停滞する胆汁うっ滞の症状が認められ、全身性かつ慢性のかゆみを伴うことがある。かゆみは生活動作や睡眠の障害を招き、QOLを著しく阻害するが、アレルギー性疾患と比較して、薬物療法は限られている。本研究成果は、難治性遷延性のそう痒症の発現機序解明に向けた基礎的資料となり得るものであり、慢性そう痒を伴う疾患の治療標的検索にも貢献するものである。

研究成果の概要(英文)：We made a mouse model of cholestatic pruritus (CP) to investigate the underlying molecular mechanisms. Bile duct ligation (BDL) was performed to establish a mouse model of CP. BDL led to increased serum levels of total bile acid, liver damage and spontaneous hind paw scratching in mice. Given the altered expression of gastrin-releasing peptide (GRP) in the skin and dorsal root ganglia (DRG) of the model mice, the study focused on functionally relevant TRP channels. In the DRG, TRPV4 expression increased, while in the skin, it decreased. CP model and TRPV4 knockout mice both revealed impaired skin moisture retention. These results suggest that skin TRPV4 may play a role in physiological skin barrier function and cholestatic pruritus.

研究分野：神経薬理学

キーワード：そう痒

1. 研究開始当初の背景

原発性胆汁性胆管炎 (PBC) をはじめとする胆汁うっ滞性肝疾患 (CLD) は、激しい痒みを伴う慢性の搔痒性疾患である。その痒みは、発生機序が不明な抗ヒスタミン薬抵抗性難治性慢性搔痒に位置付けられている。一方、痛みを含む不快感覚の慢性化には、脊髄の痒み伝達経路の可塑的变化が関与していることが知られているが、痒みの慢性化の機序に関する報告はほとんどない。従って、痒みの慢性化の解明は、新規の鎮痒薬開発や治療戦略の確立のための重要な基礎的資料となる。しかし、CLD における痒みの病態生理学的研究は、他のそう痒症を伴う疾患に比べて進んでいないのが現状である。

2. 研究の目的

当該研究課題では、『PBC における痒みがなぜ発生し、長引くのか』という問いに答える研究を展開してきた。具体的には、「痒みと搔破の悪循環」の基盤である痒みの過敏化と慢性化が脊髄レベルで説明されうると考え、そして「PBC における痒みの慢性化には、脊髄後角の痒み伝達の可塑的变化が病態生理学的基盤にある」という仮説を提示した。当初、脊髄における痒み伝達物質とされているガストリン放出ペプチド (GRP) に焦点を当て、神経可塑的变化との関連を計画していたが、その予備的検討の過程で、CLD モデルの後根神経節 (DRG) で GRP mRNA の発現変化が認められ、さらに、痒み伝達の末梢に位置する皮膚においてもその発現変化が認められた。そこで、当初の計画を変更し、皮膚と DRG における慢性そう痒に関わる分子の検索を行った。

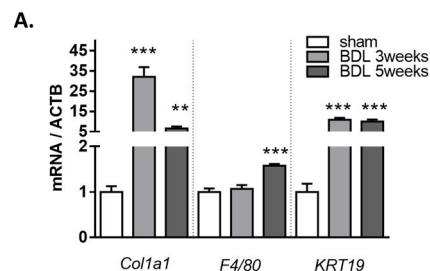
3. 研究の方法

マウスの尾状葉後葉の胆汁分泌のみを保持するように、胆管の尾状葉への分岐と右葉への分岐との間を縫合糸で結紮した (BDL)。対照群として、偽手術を行った (sham)。モデル動物の痒み伝導路において、TRP チャネルの mRNA 発現の増大を qRT-PCR 法に検討した。胆汁うっ滞性搔痒を生じる別の実験モデルにおいても、TRP チャネルの関与を明らかにするために、胆管炎様の病態を生じる *n*-naphthyl-isothiocyanate (ANIT) を投与し、TRP の発現変化と搔痒行動における TRP チャネルの機能的関与を調べた。皮膚の水分量 (%湿度) および経表皮水分蒸散量 (TEWL) を測定した。

4. 研究成果

1. BDL モデルにおける肝障害

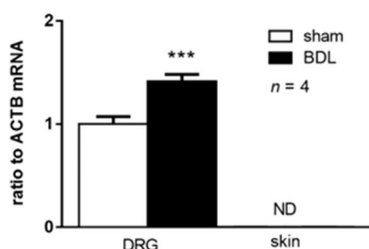
BDL を受けたマウスの肝組織で、胆管細胞マーカーである KRT19、線維形成性導管マーカーである Col1a1、およびマクロファージマーカーである F4/80 の mRNA を RT-PCR で測定した。3 週目以降で統計的に有意な発現増加が認められた (図 A)。



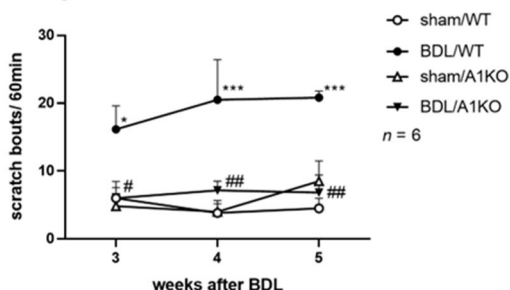
2. 皮膚及び DRG における TRP チャネル発現に及ぼす BDL の影響

DRG における TRPA1 mRNA 発現は BDL 処置により上昇したが、皮膚においては TRPA1 は検出されなかった (図 B)。TRPA1 ノックアウトマウス (A1KO) を用いて、BDL 誘発性搔痒行動への影響を検討した (図 C)。野生型 (WT) において誘発された引っ掻き動作の回数の増加は、A1KO では減弱していた。

B



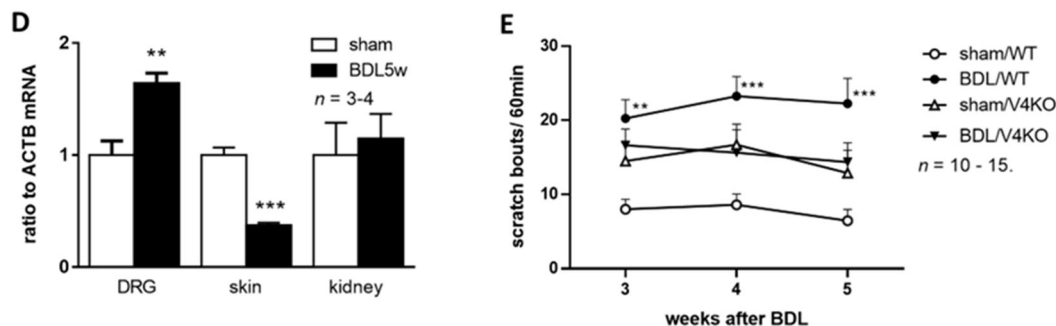
C



3. BDL 誘発性そう痒における TRPV4 の関与

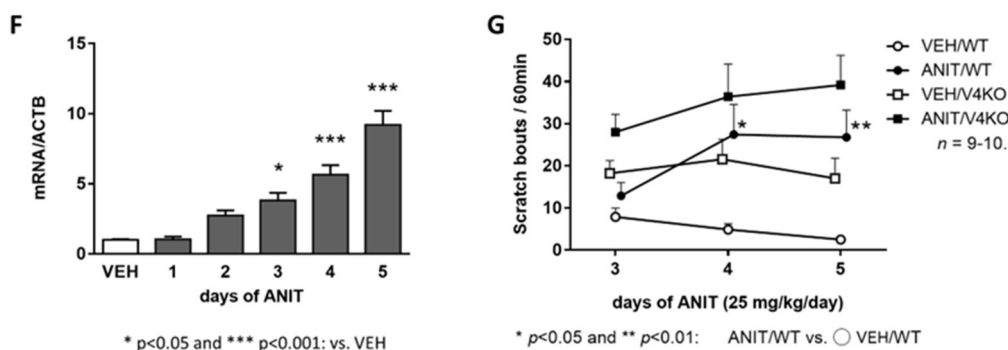
野生型マウスの BDL 処置により TRPV4 mRNA 発現は、DRG で増加、皮膚で減少した。一方、構

成的発現量が多いとされる腎臓では変化はみとめられなかった(図D)。TRPV4 ノックアウトマウス(V4KO)を用いて、BDL 誘発性搔痒行動への影響を検討した(図E)。sham 処置のWT に比べて、sham 処置の V4KO では引っ掻き動作の回数は高値を示した。BDL 処置 WT において誘発された引っ掻き動作の回数の増加は、V4KO では減弱していたものの、sham 処置 WT の回数よりも高値であった。



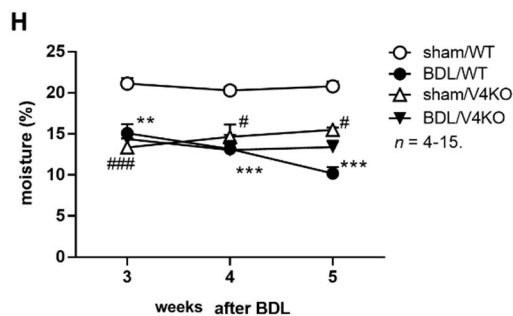
4. ANIT 誘発性そう痒における TRPV4 の関与

WT マウスの肝組織の KRT19 mRNA が投与後、漸増した(図F)。それに伴い、WT 群の引っ掻き動作の回数(ANIT/WT)は、溶媒投与後のWT 群(VEH/WT)に比べて増加した(図G)。一方、ANIT 投与した V4KO マウスの引っ掻き動作の回数は、ANIT/WT に比べて、減弱することはなかった。



5. 皮膚の湿度への影響

頸背部の皮膚の%湿度は、sham/WT に比べて、BDL/WT 群、 sham/V4KO 群、BDL/V4KO 群で低下していた(図H)。また、皮膚の経表皮水分蒸散量(TEWL)は sham/WT に比べて、BDL/WT 群および sham/V4KO 群は高値であった(data not shown)。BDL5 週後の皮膚の組織切片を作製し、表皮の厚さを測定したところ、sham/WT に比べて、BDL/WT 群および sham/V4KO 群で減少していた(data not shown)。



以上の結果は、TRPV4 が表皮のバリア構造や水分保持機能に関わる可能性を示すものであり、また、CLD に伴う痒み発現形成に関与する可能性を示唆するものである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kawahara Kohichi, Hasegawa Takuya, Hasegawa Noa, Izumi Taisei, Sato Koji, Sakamaki Toshiyuki, Ando Masayuki, Maeda Takehiko	4. 巻 -
2. 論文標題 Truncated <sc>GPNMB</sc>, a microglial transmembrane protein, serves as a scavenger receptor for oligomeric amyloid peptide₁₋₄₂ in primary type 1 microglia	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Neurochemistry	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） 10.1111/jnc.16078	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6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 川原 浩一、鈴木 琉菜、伴 颯太郎、門澤 涼、五十嵐 知奈、若林 舞、戸田 洸、長谷川 拓也、前田 武彦
2. 発表標題 アルツハイマー病モデルマウスの脳内アミロイド 蓄積量に対するGpnmb遺伝子の影響
3. 学会等名 日本薬学会第143年会（札幌）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 長谷川 拓也、斎須 拓哉、藤原 関斗、川原 浩一、前田 武彦
2. 発表標題 胆汁うっ滞性搔痒モデルの搔痒行動におけるTRPチャネルの機能的関与
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前田武彦
2. 発表標題 新規癌悪液質マウスモデルの確立と特性
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 前田武彦
2. 発表標題 9月齡5xFADマウスの記憶障害に及ぼすGpnmb遺伝子の影響
3. 学会等名 第94回日本薬理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 川原 浩一、熊倉 夏希、小嶋 雪菜、長谷川 拓也、前田 武彦
2. 発表標題 アルツハイマー病モデルマウスにおけるGpnmb遺伝子の機能解析
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 長谷川 拓也、山崎 知槻、羽田 裕介、川原 浩一、前田 武彦
2. 発表標題 肺がん骨移植による悪液質モデルの作製と解析
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

新潟薬科大学薬学部薬効薬理学研究室
<https://nupalspharmacology.wixsite.com/-lab>

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	長谷川 拓也 (Hasegawa Takuya) (80813287)	新潟薬科大学・薬学部・助手 (33101)	
研究 分 担 者	川原 浩一 (Kawahara Kohichi) (10347015)	新潟薬科大学・薬学部・教授 (33101)	

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