

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：63801

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06475

研究課題名(和文) 痒み中枢細胞制御による目の痒み誘発および治療モデル動物の開発

研究課題名(英文) Development of animal models for the itchy eyes through the control of central nervous system

研究代表者

高浪 景子 (Takanami, Keiko)

国立遺伝学研究所・遺伝形質研究系・助教

研究者番号：70578830

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：環境汚染やライフスタイルの変化により、花粉症を含む多くの眼疾患の共通症状である結膜炎による眼の掻痒症が増加している。この眼の痒みにより、眼を掻き擦り続けると、さらなる症状の悪化や深刻な眼の二次疾患を導く。しかし、これまで眼の痒みに対する治療法は末梢の結膜における炎症抑制が主であった。これは結膜炎モデル動物の作出が難しく、痒み独自の中枢分子基盤が不明だったからだと考えられる。本研究では、モデル動物である齧歯類のラットとマウスを対象とし、ヒトの病態に近い結膜炎モデルと眼の痒みを伝達する神経回路を見出しつつある。ここから眼の痒みの病態解明に繋がることが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

結膜炎による眼の痒みを抑えるための中枢制御領域として、下部延髄がひとつの重要な拠点であることが分かり、この領域におけるガストリン放出ペプチド受容体発現細胞の活性を抑えることで、眼の痒みを制御できる可能性が示唆された。また、齧歯類モデル動物であるラットとマウスを用いた解析から、眼の痒みの感受性に対する大きな種差や系統差がみられたことから、モデル動物の比較解析が新たなヒトの結膜炎掻痒症を反映するモデル動物作製に繋がることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Environmental pollution and lifestyle changes increased the eye disease with itchy eyes including pollen hypersensitivity. Itchy eyes with continuous scratching leads to further exacerbation of eye symptoms and serious secondary eye disease. However, treatment for eye itch has been primarily based on suppression of inflammation in the peripheral conjunctiva, because the molecular basis for the transmission of itchy eyes was unknown. In this study, we found a model of conjunctivitis similar to the human condition and a neural circuit that transmits itchy eyes using rodent animal models. These study will lead to further elucidation of the pathogenesis of itchy eyes.

研究分野：実験動物学

キーワード：眼の痒み アウト法 結膜炎 モデル動物作製 種差 系統差 ガストリン放出ペプチド受容体 標的細胞ノックアウト法 行動解析

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

環境汚染やライフスタイルの変化により、花粉症を含む多くの眼疾患の共通症状である結膜炎による眼の掻痒症が増加している。この結膜炎による眼の痒み(かゆみ)により、眼を掻き擦り続けると、さらなる症状の悪化および難治性掻痒症となり、視力低下、白内障、網膜剥離等の深刻な眼の二次疾患を導く。しかし、これまで眼の痒みに対する治療法は末梢の結膜における炎症抑制が主であった。これは、結膜炎モデル動物の作出が難しく、痒み独自の中枢性分子基盤が不明だったからだと考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、モデル動物である齧歯類のラットとマウスを対象とし、ヒトの病態に近い結膜炎モデルを作製し、痒みの中枢制御機構の解析を行い、結膜炎掻痒症の理解と病態解明に繋げることを目的とする。

3. 研究の方法

・結膜炎モデル動物の作製

結膜炎掻痒症の評価法を確立するために、齧歯類を用いて結膜炎モデル動物を作製した。アレルギー性結膜炎では、ヒスタミン等の放出により、炎症および痒みが誘発されるため、まず Wistar 系統ラットにヒスタミンを点眼し、痒みにより誘発される行動を解析した。

・結膜炎モデル動物における種差と系統差解析

モデル動物である齧歯類において、ラットとマウスでは痒みの閾値が異なる可能性があるため、C57BL/6 系統マウスでも同様にヒスタミンの点眼を行い、行動解析を実施した。また、ラットとマウスの痒みの種差のみでなくマウス間の痒みの系統差を明らかにするために、多様な行動表出を示すことが報告されている野生由来マウス系統と一般的な実験系統である C57BL/6 系統との比較を行った。

・眼の痒みの伝達に關与する脳領域の解析

眼の痒みを伝達する三叉神経知覚系における神経回路網の解析のため、眼の痒み誘発時に活性化される脳領域における神経細胞種の同定を行った。

・標的神経細胞の破壊による眼の痒み伝達の機能解析

これまで、身体領域の知覚を伝達する脊髄知覚神経系において、脊髄後角のガストリン放出ペプチド(GRP)受容体を介して、身体の痒みが中枢に伝達されることが報告されてきた。そこで、顔面口腔領域の知覚を伝達する三叉神経知覚系においても、GRP 受容体発現ニューロンを介して眼の痒みが伝達されるかどうか行動レベルで明らかにするため、GRP 受容体遺伝子改変ラットを用い、標的細胞ノックアウト(toxin receptor-mediated cell knockout)法を用い、GRP 受容体発現ニューロンの選択的破壊を行い、痒みによる掻き行動が変化するかどうか調べた。

4. 研究成果

・結膜炎モデル動物における掻痒行動

ラットにおいて、ヒスタミン投与群ではコントロール群に比べ、後肢および前肢による眼の掻き行動、全身を震わせる whole body shakes の行動の増加がみられた。また、ヒスタミンの連続投与による慢性化した結膜炎では、結膜部の炎症・浮腫、強膜部の著しい充血が惹起され、ラットにおいて、ヒトと類似の結膜炎症状がみられた。また、ヒスタミンによる眼の痒みの誘発時に活性化される脳領域を調べた結果、頸髄後角および下部延髄表層において、ヒスタミン投与側で神経活性が上昇していることが明らかとなった。

・結膜炎モデル動物における掻痒行動の種差と系統差

モデル動物である齧歯類において、ラットとマウスでは痒みの閾値が異なる可能性があるため、C57BL/6 系統マウスでも同様にヒスタミンの点眼を行い、行動解析を実施した。その結果、ラットと同様の眼の掻き行動がみられたが、掻いた回数および掻いた持続時間やその行動発現パターンと時系列に違いがみられた。ここから、齧歯類における痒みの感受性に種差がみられることが示唆された。また、眼の痒みの感受性に対する系統差を明らかにするために、多様な行動表出を示すことが知られている野生由来マウス系統と一般的な実験系統である C57BL/6 系統における眼の痒みの感受性の比較を行った。その結果、ヒスタミンに対する痒みの感受性がマウス

系統間においても大きく異なることが示唆された。

- ・ 眼の痒みの伝達に關与する脳領域

眼の痒みを伝達する三叉神経知覚系における神経回路網の解析において、ヒスタミンによる眼の痒み誘発時に、下部延髄表層および上部頸髄後角において、ヒスタミン投与側で神経活性が上昇していることが明らかとなった。このとき、頸髄における神経活性化マーカーの発現パターンが、身体領域の痒みを中枢に伝達することが報告されたガストリン放出ペプチド (GRP) 受容体の発現分布と類似していた。そのため、GRP 受容体が眼の痒みを伝達する候補分子のひとつと考え、眼の痒み誘発時の GRP 受容体発現細胞の活性化割合を調べた。その結果、下部延髄および上部頸髄後角において、GRP 受容体発現ニューロンにおける神経活性の割合の増加がみられたことから、三叉神経知覚系において眼の痒み誘発時に GRP 受容体発現ニューロンの活性化が關与する可能性が示された。

- ・ 標的神経細胞の破壊による眼の痒み伝達の機能解析

標的細胞ノックアウト法による毒素投与を行った結果、GRP 受容体発現ニューロン数の減少がみられ、このときヒスタミン投与時の眼の掻き行動の低下がみられた。以上から、三叉神経知覚系において、眼の痒みの伝達に GRP 受容体発現ニューロンが關与していることが示唆された。

以上から、結膜炎による眼の痒みを抑えるための中枢制御領域として、下部延髄がひとつの重要な拠点であることが分かり、またこの領域における GRP 受容体発現細胞の活性を抑えることで、眼の痒みを制御できる可能性が示唆された。また、齧歯類モデル動物であるラットとマウスを用い、眼の痒みにおける種差と系統差解析を行った結果、痒みの種差や系統差解析を行うことが新たなヒトに近い結膜炎掻痒症モデル動物作製に繋がることを示唆された。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Takumi Oti, Keita Satoh, Daisuke Uta, Junta Nagafuchi, Sayaka Tateishi, Ryota Ueda, Keiko Takanami, Larry J. Young, Antony Galione, John F. Morris, Tatsuya Sakamoto, Hirotaka Sakamoto	4. 巻 31
2. 論文標題 Oxytocin Influences Male Sexual Activity via Non-synaptic Axonal Release in the Spinal Cord	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 103-114
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cub.2020.09.089	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 該当する

1. 著者名 Natsuko Kawakami, Akito Otubo, Sho Maejima, Ashraf H. Talukder, Keita Satoh, Takumi Oti, Keiko Takanami, Yasumasa Ueda, Keiichi Itoi, John F. Morris, Tatsuya Sakamoto, Hirotaka Sakamoto	4. 巻 529
2. 論文標題 Variation of pro vasopressin processing in parvocellular and magnocellular neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus: Evidence from the vasopressin related glycopeptide copeptin	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Comparative Neurology	6. 最初と最後の頁 1372-1390
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cne.25026	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 該当する

1. 著者名 Asuka Hirooka, Mayuko Hamada, Daiki Fujiyama, Keiko Takanami, Yasuhisa Kobayashi, Takumi Oti, Yukitoshi Katayama, Tatsuya Sakamoto, Hirotaka Sakamoto	4. 巻 11
2. 論文標題 The gastrin-releasing peptide/bombesin system revisited by a reverse-evolutionary study considering Xenopus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 13315
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-92528-x	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 Keiko Takanami, Daisuke Uta, Ken Ichi Matsuda, Mitsuhiro Kawata, Earl Carstens, Tatsuya Sakamoto, Hirotaka Sakamoto	4. 巻 118
2. 論文標題 Estrogens influence female itch sensitivity via the spinal gastrin-releasing peptide receptor neurons	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2103536118
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2103536118	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 該当する

1. 著者名 Shoko Sagoshi, Sho Maejima, Masahiro Morishita, Satoshi Takenawa, Akito Otubo, Keiko Takanami, Tatsuya Sakamoto, Hirota Sakamoto, Shinji Tsukahara, Sonoko Ogawa	4. 巻 438
2. 論文標題 Detection and Characterization of Estrogen Receptor Beta Expression in the Brain with Newly Developed Transgenic Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 182-197
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuroscience.2020.04.047.	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 -

〔学会発表〕 計21件 (うち招待講演 8件 / うち国際学会 7件)

1. 発表者名 高浪景子, 小出 剛, 坂本浩隆
2. 発表標題 痒みの神経伝達基盤 疾患モデル動物を用いた検討
3. 学会等名 第94回日本内分泌学会学術総会 シンポジウム「神経内分泌研究のアップデート」(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高浪景子, 小出剛
2. 発表標題 マウスの知覚閾値の系統差
3. 学会等名 第68回日本実験動物学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高浪景子, 小出剛
2. 発表標題 齧歯類における痒み閾値の種差と系統差
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会 Neuro 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Lalitha Devi, Akira Tanave, Yuji Imai, Keiko Takanami, Tsuyoshi Koide
2. 発表標題 Affect of Esr1 polymorphisms in maternal behavior in mouse
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会 Neuro 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Keiko Takanami
2. 発表標題 Histochemical challenges to the itch neurotransmission and evolution
3. 学会等名 International Federation of Societies for Histochemistry and Cytochemistry, IFSHC Workshop 2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 17 -エストロジオールによる痒み閾値調節
2. 発表標題 高浪景子, 歌大介, 松田賢一, 河田光博, Earl Carstens, 坂本竜哉, 坂本浩隆
3. 学会等名 第47回日本神経内分泌学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Lalitha Devi, Keiko Takanami, Akira Tanave, Yuji Imai, Tsuyoshi Koide
2. 発表標題 Affect of Esr1 polymorphisms in maternal behavior in mouse
3. 学会等名 第47回日本神経内分泌学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Lalitha Devi, Keiko Takanami, Akira Tanave, Yuji Imai, Tsuyoshi Koide
2. 発表標題 Affect of Esr1 polymorphisms in maternal behavior in mouse
3. 学会等名 Neuroscience 2021- 50th Annual Meeting- Society for Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高浪景子、小出剛
2. 発表標題 野生由来系統・実験系統・愛玩系統マウスにおける知覚閾値の系統差
3. 学会等名 国立遺伝学研究所 行動遺伝学研究会 「家畜化機構の解明」
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高浪景子
2. 発表標題 女性ホルモンが痒みの感受性を調節するメカニズム
3. 学会等名 奈良女子大学ライフサイエンスセミナー（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大石あかね、高浪景子、小出剛
2. 発表標題 所内共同研究に基づく透過型電子顕微鏡解析支援の取り組み
3. 学会等名 第33回生物学技術研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高浪景子、坂本浩隆
2. 発表標題 ガストリン放出ペプチド神経系による体性感覚調節機構
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会 シンポジウム「信号伝達分子として働く神経ペプチドの多彩な作用を理解する」(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高浪景子
2. 発表標題 かゆみの分子および機能進化 形態学からのアプローチ
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会・第98回日本生理学会大会合同大会・公募シンポジウム「皮膚感覚の処理機構とその応用」(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高浪景子
2. 発表標題 女性ホルモンによるかゆみ閾値調節
3. 学会等名 環境医学研究所・順天堂かゆみ研究センター 第6回学術シンポジウム ~難治性かゆみの克服を目指して~ (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 K Takanami, M Morishita, T Sakamoto, H Sakamoto
2. 発表標題 Chronic stress affects itch sensitivity and male sexual function in rats
3. 学会等名 10th World Congress on Itch (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 K Takanami, D Fujiyama, A Hirooka, H Sakamoto
2. 発表標題 Molecular and functional evolutionary analysis of itch focused on the gastrin-releasing peptide system in vertebrate
3. 学会等名 THE 48th NAITO CONFERENCE on Integrated Sensory Sciences Pain, Itch, Smell and Taste (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高浪景子
2. 発表標題 遺伝子改変動物を用いた難治性掻痒症におけるペプチドニューロンの機能解析
3. 学会等名 第46回日本神経内分泌学会学術集会、若手助成金成果報告(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高浪景子
2. 発表標題 組織学解析による痒み伝達機構の可視化
3. 学会等名 第60回日本組織細胞化学会総会・学術集会、シンポジウム 女性研究者セッション～組織細胞化学研究の魅力語る～(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高浪景子、Amanda Nguyen、小出 剛
2. 発表標題 脳が引き起こす痒み
3. 学会等名 第31回日本行動神経内分泌研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 K Takanami, O Yakimenko, H Nagayama, T Koide
2. 発表標題 Effects of sociality on the social contagious behavior
3. 学会等名 The 42th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高浪景子、小出剛
2. 発表標題 マウスの系統間における痒覚および痛覚閾値の比較解析
3. 学会等名 第66回日本実験動物学会総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
研究分担者	小出 剛 (Koide Tsuyoshi) (20221955)	国立遺伝学研究所・遺伝形質研究系・准教授 (63801)	
研究分担者	坂本 浩隆 (Sakamoto Hirotaka) (20363971)	岡山大学・自然科学研究科・准教授 (15301)	

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			
米国	University of California, Davis			
英国	University of Oxford			