

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K07828

研究課題名(和文) 痒み治療薬の開発に向けたGPR83と痒み伝達分子の役割

研究課題名(英文) Role of GPR83 and related molecules for antipruritus drugs

研究代表者

中山 留美(直野留美)(Nakayama-Naono, Rumi)

東北医科薬科大学・医学部・助教

研究者番号：00609034

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)：痒み伝達において、皮膚をはじめとする末梢組織で生じた痒み刺激は末梢神経を介して脊髄に伝達し、脊髄から脳に痒み情報が伝達することで、痒み感覚の認知となる。痒みは痛みと類似する体性感覚と考えられているが、近年の研究により、これらの感覚は異なる神経経路およびそれに寄与する分子の違いによることが明らかとされてきている。神経系における痛みの基礎的研究により多くの分子の報告がされているが、痒みでの報告は少ない。そこで、本研究により脊髄における痒み伝達に寄与する分子を検討し、その分子と痒み伝達経路における役割の解明を目指している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経系での痒みの基礎研究により、いろいろな分子の役割が明らかとされている。特に脊髄後角は感覚神経が入力する領域であり、脊髄後角に発現する分子のうち、痛み寄与する分子以外の分子に着目して研究を進めた。具体的には、脊髄における痒み受容体として最も知られている受容体であるGRPR(ガストリン分泌ペプチド受容体)と、本研究で標的とするオーファンGPCRの一つであるGPR83である。これらの分子の関連性の検討により、多様な疾患により誘発する慢性掻痒症の解明につながる可能性が予想される。神経系における痒み伝達における分子の役割を明らかとすることが、新たな痒み改善薬の開発につながることを期待できる。

研究成果の概要(英文)：In itch transmission, itch stimuli generated in peripheral tissues, such as skin, are transmitted to the spinal cord via peripheral nerves, and itch information is transmitted from the spinal cord to the brain, where the itch sensation is perceived. Although itch is considered a somatosensory sensation similar to pain, recent studies have revealed that different neural pathways and contributing molecules cause these sensations. Although many molecules have been reported in basic research on pain in the nervous system, there are few reports on molecules related to itch. Therefore, this study aims to investigate the molecules that contribute to itch transmission in the spinal cord and clarify their role in the itch transmission pathway.

研究分野：疼痛学

キーワード：痒み 脊髄 皮膚 受容体

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

神経系の痒み基礎研究は、皮膚などの末梢組織の分子を標的とする研究を基に進められている。痒みの神経伝達は、皮膚で生じた痒み感覚が感覚神経を介して脊髄に伝達し、脊髄より上位の中樞神経系に痒み情報が伝達することで痒みの認知に至る。そのため全身の末梢組織からの感覚情報を受け取る中樞神経としての役割を持つのが脊髄であり、脊髄での痒み伝達に寄与する分子の機能を明らかとすることが、痒み伝達の理解につながると考えられる。これまで複数の脊髄における痒み伝達に寄与する分子が同定されており、2007年に GRPR(ガストリン分泌ペプチド受容体)が最初に同定されて以降(Sun et. al., Nature 2007)、脊髄にある神経細胞やその周囲のグリア細胞などでの発現も痒み伝達に寄与することが知られている。しかしながら、痒みの感覚の認知は脳部位で起こるため、皮膚から脊髄に伝達した痒み感覚が脳にどのように伝達するか、また脊髄のどの細胞がその役割を果たすのかなど、不明な点が多い。さらに慢性的で全身性の痒みは代謝や循環器等のいろいろな疾患より生じるため、痒みの病態の解明が患者の QOL 改善に貢献できると期待できる。

### 2. 研究の目的

痒み伝達に寄与する分子として、申請者が持つ知的財産のオーファン受容体 GPR83 とそのリガンドの検討を踏まえ、脊髄での痒み伝達において GPR83 が、どのように痒み伝達に寄与するか、他の痒み伝達に寄与する分子との機能的な違いがあるか、脊髄に発現する多様な分子のうち、痛みと痒みに特異的に機能する分子の有無に着目し、検討した。これらの検討を培養細胞や実験動物を使って実施した。

### 3. 研究の方法

#### (1)行動学的な解析

GPR83 の siRNA を脊髄に投与し、GPR83 ノックダウン動物を作製した。この動物に対し、急性掻痒症を誘発する物質を皮下投与により誘発するひっかき行動の回数を siRNA の処置なしと比較した。またひっかき行動の回数を痛み受容体である SP 受容体の siRNA 投与による個体でも同様に比較した。

#### (2)形態学的な解析

GPR83 の形態学的な解析を進めるため、GPR83 の抗体を用いた免疫組織化学染色を行った。マウス脊髄より作製した標本を用いて、GPR83 および痛み受容体であるサブスタンス P 受容体の免疫組織化学染色を行った。また GPR83 がどの細胞に発現するかを確認するため、神経細胞のマーカー、アストロサイトのマーカー、ミクログリアのマーカーとの共発現の有無を評価した。

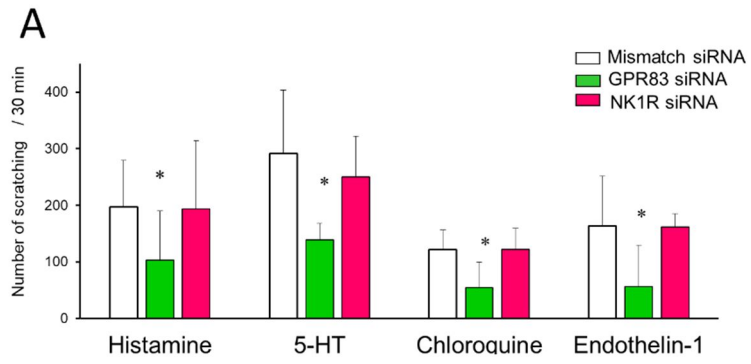
#### (3)分子生物学的な解析

GPR83 のリガンドとしてタキキニンペプチドを用いた。タキキニンペプチドには数種類のペプチドが含まれており、そのうち、サブスタンス P(SP)とヘモキニン-1(HK-1)の2種類のペプチドを用いてリガンドとしてこれらペプチドの役割を検討した。方法として、GPR83 発現する培養細胞に対し、細胞内 Ca<sup>++</sup>の変動を検出するプレートリーダーを用いて、検討した。また、GPR83 ノックアウトマウスの胎児から採材した脊髄より初代神経培養細胞を作製し、細胞への SP や HK-1 添加による細胞内 Ca<sup>++</sup>の変動を受容体発現細胞での評価と同じ方法にて評価した。

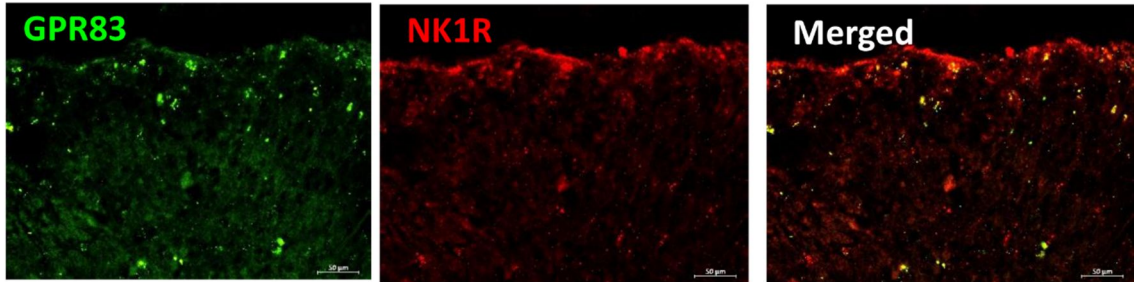
### 4. 研究成果

脊髄の GPR83 に対する siRNA で GPR83 を発現抑制する GPR83 ノックダウン動物では、急性痒み誘発物質による痒み伝達に寄与することが示唆された。siRNA 処置なしの個体と比べてひっかき行動の回数が有意に減少した。他方、サブスタンス P 受容体(neurokinin-1 受容体; NK1R)の siRNA 投与による NK1R ノックダウン動物では、siRNA 処置なしとのひっかき行動の回数に変化が生じなかった。これらの結果より、急性掻痒に対し GPR83 が役割を果たすことが示唆された(図 A)。

形態学的では評価で、脊髄において GPR83 が発現し、痛み受容体の SP 受容体との発現様式に違いが生じ、GPR83 の発現部位が既存の痒み受容体 GRPR と類似する脊髄領域で発現する可能性が示唆された(図 B)。細胞を用いた GPR83 リガンド評価において、SP と HK-1 が GPR83 のリガンドとして機能する可能性が示唆されるが、どちらが GPR83 とより高い親和性を持つか、さらなる検討が必要である。



**B**



研究結果 (A) GPR83, NK1R の siRNA 投与による脊髄でのノックダウン動物における急性搔痒行動の違い。(B) 脊髄における GPR83、NK1R の発現様式の形態学的検討

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4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 0件）

1. 著者名 Rina Otsuka, Fumito Naganuma, Tadaho Nakamura, Hideki Miwa, Rumi Nakayama-Naono, Takuro Matsuzawa, Yurika Komatsu, Yuki Sato, Yuna Takahashi, Haruna Tatsuoka-Kitano, Kazuhiko Yanai, Takeo Yoshikawa	4. 巻 212
2. 論文標題 Contribution of astrocytic histamine N-methyltransferase to histamine clearance and brain function in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuropharmacology	6. 最初と最後の頁 109065
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuropharm.2022.109065	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 Yu Miyahara, Hideki Funahashi, Rumi Naono-Nakayama, Ayaka Haruta-Tsukamoto, Chiyo Muroi, Yoichiro Kogoh, Toshikazu Nishimori, Yasushi Ishida	4. 巻 883 (15)
2. 論文標題 Serotonin and noradrenaline modulate chronic itch processing in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal of Pharmacology	6. 最初と最後の頁 173319-173328
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejphar.2020.173319	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 Y. Ishida, Y. Sugiura, T. Magome, T. Kamakura, Y. Takimoto, Y. Hanada, K. Kitayama, Y. Nakamura, S. Shimada, N. Ohta, R. Naono-Nakayama, K. Kamiyo	4. 巻 411
2. 論文標題 Expression Analysis of Serotonin Receptors, Serotonin Transporter and l-Amino Acid Decarboxylase in the Mouse Sphenopalatine Ganglion by RT-PCR, Northern Blot Analysis and In Situ Hybridization.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 23 - 36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuroscience.2019.05.028	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 H. Funahashi, Y. Miyahara, A. Haruta-Tsukamoto, T. Matsuo, R. Naono-Nakayama, K. Ebihara, T. Nishimori, Y. Ishida.	4. 巻 124
2. 論文標題 Pharmacological characteristics of hemokinin-1-derived peptides in rat pruriceptive processing.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Peptides	6. 最初と最後の頁 170232 - 170239
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.peptides.2019.170232	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4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中村正帆、長沼史登、田中聖人、井上まり絵、直野留美、吉川雄朗、岡村信行
2. 発表標題 扁桃体中心核ニューロテンシン神経細胞の睡眠覚醒サイクルにおける役割の検討
3. 学会等名 第23回 応用薬理シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Rumi Nakayama-Naono, Akihiro Ambo, Fumito Naganuma, Tadaho Nakamura, Toshikazu Nishimori, Hideki Funahashi
2. 発表標題 Role of tachykinin peptides in pruriceptive processing in mice
3. 学会等名 第100回 日本生理学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中山-直野 留美、船橋 英樹、宮原 裕、石田 雄介、西森 利數、上条 桂樹
2. 発表標題 ヒト遺伝子由来ペプチド エンドキニンC/Dは、痛みと炎症の抑制効果を有する
3. 学会等名 第42回 日本神経科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中山-直野 留美、船橋 英樹、宮原 裕、石田 雄介、西森 利數、上条 桂樹
2. 発表標題 炎症性疼痛におけるヒト遺伝子由来ペプチドの抑制効果
3. 学会等名 第97回 日本生理学会
4. 発表年 2020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
--	---------------------------	-----------------------	----

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