

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：24601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K18303

研究課題名（和文）メンブレントラフィックに着目した新たな疼痛メカニズムの解明

研究課題名（英文）Investigation of new pain mechanisms focusing on membrane trafficking

研究代表者

寺田 雄紀 (Terada, Yuki)

奈良県立医科大学・医学部・研究員

研究者番号：90745431

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：偶然に発見した痛み刺激に対する反応が劇的に減弱した遺伝子改変マウスの詳細を解析した。そこで同定されたSNX25遺伝子に特に着目し、SNX25遺伝子を失ったマウスにおいて痛みの感覚が鈍いことを発見した。マクロファージ選択的にSNX25遺伝子を失ったマウスは皮膚に損傷を与えなくても痛みの感覚が鈍くなり、皮膚において異物排除に働くマクロファージが神経の感度調節にも働いていることを示すと考えられた。研究成果は、2023年1月「Nature Immunology」誌に掲載された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究結果は皮膚において異物排除に働くマクロファージが神経の感度調節にも働いていることを示しており、痛みを抑える新たな薬物の開発にもつながる新しい発見だと考えられる。

研究成果の概要（英文）：We analyzed in detail the genetically modified mice with dramatically attenuated responses to pain stimuli that we discovered by chance. We paid particular attention to the SNX25 gene, which we identified, and found that mice lacking the SNX25 gene had a blunted pain sensation. Mice with macrophage-selective loss of the SNX25 gene had a blunted pain sensation even without skin damage, indicating that macrophages, which work to eliminate foreign substances in the skin, also work to regulate nerve sensitivity. This research results were published in Nature Immunology in January 2023.

研究分野：疼痛学

キーワード：SNX25 マクロファージ 神経成長因子

### 1. 研究開始当初の背景

疼痛の発生メカニズム及び神経系における伝達機構は多様であり、その全貌は明らかではない。疼痛の実態を客観的に把握することは困難であること、また、疼痛の発生のメカニズムは多様であることが、疼痛への適切な対処を困難にしている。このような現状から、疼痛刺激の発生・伝達メカニズムの解明は、治療や新たな薬剤の開発にも極めて重要であると考えられる。これまで疼痛研究は、痛覚に特異的な受容体や中枢経路が存在することが明らかにされて以降、著しい進展を示してきたが、疼痛メカニズムは現在においても不明な点が多く、治療法も確立していない。申請者らは、別の研究テーマで使用している遺伝子改変マウスの痛み刺激（機械刺激、化学刺激）に対する反応が、著しく低下していることを偶然に見出した。痛み反応がある程度減弱している遺伝子改変マウスはこれまでに報告されているが、これほど劇的に痛み行動が減弱するマウスはこれまで報告例がない。そのため、このマウスを詳細に解析することで、未知なる疼痛機序を明らかにすることができる可能性が高い。このマウスは生得的に痛み行動の著明な減弱を認めるため詳細に解析することで、これまでになかった着眼点から、疼痛の中心的な機序解明に迫ることができる。つまり、本研究により得られる結果は、疼痛発生・伝達メカニズムに新たな視点を与えると共に、新規の治療または薬剤開発に繋げるための基盤となりうると考えられた。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、この遺伝子改変マウスの疼痛関連行動と原因遺伝子を詳細に解析することにより、疼痛の発生メカニズムを世界に先駆けて解明することである。このマウスはBACトランスジェニックマウスであるため、申請者らは当初、BAC内に含まれた遺伝子こそが疼痛機序に重要であると考えたが、当該遺伝子の発現は野生型マウスと比較しても変動せず、また疼痛の発生に寄与しないことを見出した。では、何がこの遺伝子改変マウスの疼痛行動を変えているのか？ 遺伝子改変マウスはBACトランスジーン挿入によって、その領域の内在性の遺伝子の発現を阻害または変動させる可能性があり、その結果生じる何らかの遺伝子の機能異常により、疼痛刺激に対する行動変化が起きたと考えられた。トランスジーンが8番染色体に挿入されていること、挿入部位近傍の遺伝子制御が破綻していることを明らかにし、cDNAマイクロアレイにより、野生型マウスと比較して遺伝子改変マウスで発現量が大きく変動する遺伝子を同定した。興味深いのは、その候補因子は全てがこれまで報告のある疼痛関連因子ではなかった。本研究では、これらの候補因子を中心に疼痛への関与について検討した。同定された候補因子の中でも、申請者が特に興味を持ち注目した因子が、sorting nexinファミリーメンバー（SNX）やカベオリン等の細胞膜の動態やトラフィッキングに関与する遺伝子である。メンブレントラフィック関連因子は細胞内における物質輸送や分解、シグナル伝達経路の調節等、生命現象の様々な局面において重要な役割を担っていることが報告され、疾患との関連も最近報告されてきているが、疼痛への関与についての報告はない。本研究では痛みを感じない遺伝子改変マウスの詳細な解析と疼痛発生におけるメンブレントラフィック関連因子の関与の可能性を探り、新たな疼痛メカニズムの解明に挑んだ。

### 3. 研究の方法

#### **TGマウスの疼痛刺激伝達経路における異常部位の特定**

申請者らはTGマウスの機械刺激や化学刺激に対する疼痛反応の著しい低下が認められることを見出し、一連の疼痛刺激伝達経路の中でどこに異常があるのかを詳細に検討した。

#### **標的遺伝子のノックアウト（KO）マウスの入手および疼痛行動評価試験**

遺伝子改変マウスの詳細な解析と並行して、申請者が着目するSNXやカベオリン等の細胞膜の動態やトラフィッキングに関与する遺伝子のKOマウスを入手し、これらのKOマウスにおいても遺伝子改変マウスと同様な疼痛関連行動が認められるか否か、つまり、機械刺激、化学刺激に対する疼痛関連行動が減弱するかを評価した。

#### **KOマウスにおける末梢レベルでの解析**

本研究では、SNX-KOマウスやカベオリン-KOマウスでサイトカインやケモカイン発現のみならず、マクロファージの貪食能、遊走能、炎症メディエーター分泌能が野生型マウスと差異が認められるかを解析した。マクロファージ、マクロファージ以外の免疫系細胞において、化学刺激後に浸潤するリンパ球、好中球、肥満細胞の数および形態学的特徴を免疫染色で検討した。

#### **KOマウスにおける脊髄後根神経節（DRG）、脊髄レベルでの解析**

当初はDRGおよび脊髄レベルを最も解析していたが、皮膚レベル、特にマクロファージでの興味深い結果が得られ、それを最大標的として研究内容を進行した。

#### **疼痛発生・伝達への標的遺伝子の関与のメカニズムの解明**

標的遺伝子を SNX とし皮膚レベルのマクロファージに着目して、どのようなメカニズムで疼痛関連行動を変化させるか検討した。そのためにマクロファージで SNX25 遺伝子を選択的に失ったマウスを作成し、さらに上記方法を繰り返して詳細解析した。

#### 4 . 研究成果

今回の研究で SNX25 遺伝子を失ったマウスは、痛み感覚が鈍くなっていることを発見した。皮膚に存在するマクロファージは、細菌などの異物を排除する働きを持つ細胞であるが、この細胞において SNX25 は神経成長因子 (NGF) の産生量を調節しており、さらに NGF は神経細胞における痛みの感度を調節していることが分かった。大変興味深いことに、マクロファージ選択的に SNX25 遺伝子を失ったマウスは皮膚に損傷を与えなくても痛みの感覚が鈍くなっていた。このことは皮膚において異物排除に働くマクロファージが、その働きだけではなく神経の感度調節にも働いていることを示しており、痛みを抑える新たな薬物の開発にもつながる新しい発見だと考えられた。本研究成果は、2023 年 1 月 26 日付で国際科学誌「Nature Immunology」のオンライン版に掲載された。

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 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Tatsuhide Tanaka, Hiroaki Okuda, Ayami Isonishi, Yuki Terada, Masahiro Kitabatake, Takeaki Shinjo, Kazuya Nishimura, Shoko Takemura, Hidemasa Furue, Toshihiro Ito, Kouko Tatsumi and Akio Wanaka	4. 巻 24
2. 論文標題 Dermal macrophages set pain sensitivity by modulating the amount of tissue NGF through an SNX25-Nrf2 pathway	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nature Immunology	6. 最初と最後の頁 439-451
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41590-022-01418-5	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 Shanshan Wang, Taiga Ichinomiya, Yuki Terada, Dongsheng Wang, Hemal H Patel, Brian P Head	4. 巻 10
2. 論文標題 Synapsin-Promoted Caveolin-1 Overexpression Maintains Mitochondrial Morphology and Function in PSAPP Alzheimer's Disease Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 2487
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cells10092487	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

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------