

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22500

研究課題名(和文) 痒みの情報伝達における新しい脊髄後角神経回路の特定

研究課題名(英文) New neuronal circuit for itch transmission in the spinal dorsal horn

研究代表者

津田 誠 (Tsuda, Makoto)

九州大学・薬学研究院・教授

研究者番号：40373394

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：従来、痒みは弱い痛み信号で伝達されると考えられていたため、痒みの神経化学的理
解は非常に遅れており、慢性的な痒みのメカニズムも解明には程遠い状態である。本研究では、脊髄後角での因
子Xを発現する神経サブセット(因子X陽性神経)の役割を検討し、同神経の活性化によって、ガストリン放出ペ
プチド受容体(GRPR)を介したシグナルに依存しない痒み関連行動が誘発されることを明らかにした。さらに、
因子X神経除去により、複数の急性および慢性掻痒モデルでの痒み行動が抑制された。したがって、脊髄後角で
の因子X陽性神経は痒み信号の伝達に重要な新しいサブセットであり、急性および慢性掻痒に広く関与すること
が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2000年代後半から脊髄後角での痒み選択的な神経伝達と処理機構に関する論文が相次いで報告されたが、いずれ
もGRP-GRPRシグナルに収束するモデルである。本研究では同シグナルを介さない、新しい痒み伝達神経回路の存
在を示唆した点に学術的意義がある。さらに、アトピー性皮膚炎などの慢性掻痒に著効する医薬品はないことか
ら、本研究の成果は画期的な創薬への扉を開く可能性があり、社会的意義もある。

研究成果の概要(英文)：Itch had long been considered to be caused and transmitted by a weak pain
signal, and thus the neurochemical mechanisms of itch remain to be elucidated. In addition, the
mechanism of chronic itch associated, for example, with atopic dermatitis is unknown. Therefore, the
aim of this study was to investigate the role of a neuronal subset that expresses Factor X (X+
neurons) in the dorsal horn of the spinal cord in acute and chronic itch. We have found that
activation of X+ neurons is sufficient to produce itch-related scratching behavior that is
independent on a signal via gastrin-releasing peptide receptors. Furthermore, ablation of X+ neurons
suppressed itch-related behavior in diverse models of acute and chronic itch. These results
indicate that X+ neurons are a new subset that is necessary for spinal itch transmission under
physiological and pathological conditions.

研究分野：神経薬理学

キーワード：慢性掻痒 脊髄後角神経 ケモジェネティクス マウス

1. 研究開始当初の背景

痒みは、掻きたいという欲望を起こさせる不快な感覚で、皮膚に付着した化学物質や侵入しようとする外敵などを除去する引っ掻き行動を誘発する生体防御としての役割を有する。一方、アトピー性皮膚炎などの皮膚疾患では、痒みは慢性化し、反復的な引っ掻きによる皮膚炎の悪化、その結果、更なる痒みを生むという悪循環に陥ってしまう。したがって、痒み伝達機構の解明は、生物の生体防御機構の理解と、慢性掻痒メカニズムの解明および創薬シーズの発見に繋がり、学術的に推進すべき重要な研究課題と言える。

皮膚からの感覚信号は一次求心性神経を介して脊髄後角に入り、神経回路を経て脳へと伝達される。従来、痒みは単なる弱い痛み信号で起こるとされ、痒みの神経化学的理解は非常に遅れていた。しかし、2000年代後半にガストリン放出ペプチド受容体 (GRPR) を発現する脊髄後角神経が痒み信号を選択的に伝達するという驚くべき発見がなされ、世界に大きな衝撃を与えた。その後、痒みシグナル伝達に関わる神経が複数特定され、その理解が徐々に進んでいる。現在想定されている痒みの脊髄後角神経経路では、最後に GRPR が位置するモデルが主流となっている。しかし、急性や慢性掻痒が GRPR 欠損により部分的にしか抑制されないという過去の報告や代表者の事前結果から、GRP GRPR シグナル以外に脊髄後角で新たな痒み伝達経路が存在すると考えた。

2. 研究の目的

代表者は慢性掻痒マウスの脊髄後角で発現増加する遺伝子を複数特定し、因子 X がそれに含まれていた (予備検討)。そこで本研究では、因子 X を発現する脊髄後角神経サブセット (因子 X 陽性神経) の痒み伝達における役割を GRP-GRPR シグナルとの関連性に注目し検討した。

3. 研究の方法

本研究では、因子 X 陽性神経サブセットの特異的活性化による痒み行動、同神経の急性および慢性掻痒における役割、因子 X 陽性神経が構成する回路について検討した。それらの検討において、因子 X 陽性神経可視化マウス (X-Cre;ROSA-tdTomato マウス)、因子 X 陽性神経除去マウス (因子 X 陽性神経選択的にジフテリア毒素受容体を発現したマウス (X-Cre;ROSA-DTR) ヘジフテリア毒素を投与) および因子 X 陽性神経活性化マウス (X-Cre マウスの脊髄後角へ AAV-hM3Dq (hM3Dq の発現を誘導する AAV) を投与したマウスに CNO を投与) などを利用し、行動薬理学、免疫組織染色、RNAscope in situ ハイブリダイゼーション、および神経トレーシング実験を実施した。

4. 研究成果

因子 X 陽性神経の活性化による痒み行動の変化を検討するため、X-Cre マウスの脊髄後角に AAV-hM3Dq を投与し、因子 X 陽性神経特異的に hM3Dq を発現させ、hM3Dq 作動薬 CNO の投与によって同神経のみを活性化させた。その結果、CNO 投与マウスにおいて著明な引っ掻き行動が誘発された。興味深いことに、その引っ掻き行動は GRPR 欠損でも同様に観察された。一方で、脊髄後角の GRPR 陽性神経そのものを薬理的に除去したマウスでは、因子 X 陽性神経の活性化による引っ掻き行動は顕著に抑制された。この結果から、因子 X 陽性神経には痒み誘発する作用があり、その痒みには、GRPR 陽性神経へ入力する GRPR 非介在性シグナルが関与することが示唆された。

因子 X 陽性神経の急性および慢性掻痒における役割を因子 X 陽性神経除去マウスにて検討した。因子 X 陽性神経除去は、X-Cre マウスと ROSA-DTR マウスの交配で作出したマウス (X-Cre;ROSA-DTR) へのジフテリア毒素の投与で行った。その後、起痒物質であるクロロキンや Compound 48/80 等を皮内投与し、誘発される引っ掻き行動を観察したところ、因子 X 陽性神経除去マウスで有意な抑制が認められた。また、接触皮膚炎モデル (DCP 塗布) と乾癬モデル (イミキモド塗布) による引っ掻き行動も因子 X 陽性神経除去で有意に抑制された。一方、イミキモド塗布モデルによる引っ掻き行動は GRPR 欠損マウスでは抑制されなかった。以上のことから、因子 X 陽性神経は急性および慢性掻痒モデルが呈する引っ掻き行動に関与することが示唆された。特に、GRPR シグナルが関与しない乾癬モデルの痒みへの役割は、因子 X 陽性神

経が GRPR 非介在性シグナルによって GRPR 陽性神経へ入力するという上述した結果を強く支持していると言える。

さらに、因子 X 陽性神経からの出力神経について検討するため、順行性神経トレーサー WGA (シナプスを越えて次の神経細胞に取り込まれる) 遺伝子を組み込んだ AAV を X-Cre マウスの脊髄後角へ投与し、同マウスの脊髄後角における WGA の発現分布を免疫組織染色にて解析した。その結果、WGA は GRPR 陽性神経で検出された。すなわち、因子 X 陽性神経と GRPR 陽性神経はシナプス結合している可能性が示唆された。GRPR 陽性神経へのシナプス入力が報告されている神経において、Grp と Npr1 遺伝子が発現することがこれまで知られているが、RNAscope 解析から、因子 X 陽性神経では両遺伝子の発現が認められなかった。したがって、因子 X 陽性神経は GRPR 陽性神経へ入力する新規の神経サブセットであることが示唆された。

以上の結果より、因子 X 陽性神経は GRPR 陽性神経に入力し、GRP-GRPR シグナル非依存的なメカニズムで急性および慢性掻痒に関与することが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Shiratori-Hayashi Miho, Yamaguchi Chiharu, Eguchi Kazushi, Shiraishi Yuto, Kohno Keita, Mikoshiba Katsuhiko, Inoue Kazuhide, Nishida Motohiro, Tsuda Makoto	4. 巻 147
2. 論文標題 Astrocytic STAT3 activation and chronic itch require IP3R1/TRPC-dependent Ca ²⁺ signals in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Allergy and Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 1341 ~ 1353
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jaci.2020.06.039	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 Shiraishi Yuto, Koga Keisuke, Yamagata Ryo, Hatada Izuhō, Shiratori-Hayashi Miho, Tsuda Makoto	4. 巻 14
2. 論文標題 1A-adrenaline receptors in dorsal horn inhibitory neurons have an inhibitory role in the regulation of chloroquine-induced itch in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Brain	6. 最初と最後の頁 55
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13041-021-00768-9	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 Koga Keisuke, Shiraishi Yuto, Yamagata Ryo, Tozaki-Saitoh Hidetoshi, Shiratori-Hayashi Miho, Tsuda Makoto	4. 巻 13
2. 論文標題 Intrinsic braking role of descending locus coeruleus noradrenergic neurons in acute and chronic itch in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Brain	6. 最初と最後の頁 144
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13041-020-00688-0	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 Shiratori-Hayashi Miho, Tsuda Makoto	4. 巻 144
2. 論文標題 Role of reactive astrocytes in the spinal dorsal horn under chronic itch conditions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	6. 最初と最後の頁 147 ~ 150
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2020.07.010	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 Koga Keisuke, Yamagata Ryo, Kohno Keita, Yamane Takuya, Shiratori-Hayashi Miho, Kohro Yuta, Tozaki-Saitoh Hidetoshi, Tsuda Makoto	4. 巻 145
2. 論文標題 Sensitization of spinal itch transmission neurons in a mouse model of chronic itch requires an astrocytic factor	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Allergy and Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 183 ~ 191.e10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jaci.2019.09.034	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 津田誠	4. 巻 56
2. 論文標題 グリア細胞による痒みの慢性化機構	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ファルマシア	6. 最初と最後の頁 830 ~ 834
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 津田誠	4. 巻 75
2. 論文標題 Chronic itchとアストロサイト	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 臨床免疫・アレルギー科	6. 最初と最後の頁 154 ~ 158
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 津田誠	4. 巻 39
2. 論文標題 かゆみにおけるグリア細胞の働き	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 374 ~ 379
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 津田誠	4. 巻 37
2. 論文標題 痛みと痒みの慢性化とグリア細胞	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 103-109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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1件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Makoto Tsuda
2. 発表標題 Pivotal role of spinal astrocytes in the chronicity of itch
3. 学会等名 International Brain Research Organization (IBRO) World Congress (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

九州大学大学院薬学研究院薬理学分野ホームページ http://life-innov.phar.kyushu-u.ac.jp/
--

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