

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：33501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06426

研究課題名(和文)第0脳神経・終神経による侵害受容メカニズムの解明

研究課題名(英文)Elucidation of Nociceptive mechanisms by terminal nerves

研究代表者

小出 哲也 (Koide, Tetsuya)

帝京科学大学・総合教育センター・教授

研究者番号：30247837

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：脊椎動物の鼻に位置する終神経は、神経ペプチドGnRHを発現するが、その機能は長らく不明であった。応募者らは、ゼブラフィッシュをモデルにして、第0脳神経・終神経が「二酸化炭素からの回避行動に必須な感覚ニューロンである」ことを見出した。本研究は、侵害受容ニューロンとしての終神経GnRHニューロンの機能の解明を目的とし、神経ペプチドとその受容体のmRNA発現解析、神経ペプチド摂動(機能亢進/機能障害)のためのトランスジェニックシステムを作成、侵害性防御行動と神経活動変化の観察を行った。その結果、終神経GnRHニューロンが、他の神経ペプチドと協調して働き、侵害受容ニューロンとして機能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

侵害受容システムは、動物の生体警告系として働き、個体の生存に重要である。外環境に接した鼻に位置する侵害受容ニューロンとしての終神経は、脊髄神経、三叉神経ともに、重要な生体警告系を構成する要素と考えられる。したがって、本研究の成果は、感覚ニューロンかつ内分泌ニューロンという二重の機能を持つ侵害受容ニューロンの生理的意義とその分子基盤に迫るだけでなく、生体の恒常性や病態メカニズムの解明へつながることも期待される。

研究成果の概要(英文)：The terminal nerve located in the vertebrate nose expresses the neuropeptide GnRH, but its function has long been unknown. Using zebrafish as a model system, we found that the terminal nerves are “essential sensory neurons for avoidance behavior from carbon dioxide. To elucidate the function of the terminal nerve GnRH neurons as nociceptive neurons, we analyzed the mRNA expression of neuropeptides and their receptors and created transgenic lines for neuropeptide perturbation. We observed nociceptive defense behavior and neural activity changes. The results suggest that the terminal GnRH neurons work together with other neuropeptides and function as nociceptive neurons.

研究分野：神経科学

キーワード：感覚神経 嗅覚神経系 侵害受容 ゼブラフィッシュ GnRH

1. 研究開始当初の背景

終神経はほぼ全ての脊椎動物の鼻に位置し、性腺刺激ホルモン放出ホルモン (Gonadotropin releasing hormone: GnRH) を発現することは知られていたが、その機能はほとんど分かっていなかった。この GnRH ニューロンは、名称が示すとおり性ホルモンをコントロールする視床下部内分泌ニューロンとして発見されたが、視床下部外にも三叉神経節、中脳覆蓋、そして終神経にも存在することが分かってきた経緯がある。それ故これまで生殖という文脈で GnRH ニューロンの解析が行われてきたが、これら視床下部外 GnRH ニューロンの生殖への寄与は不明のままであった。近年、応募者らは「終神経 GnRH ニューロンは侵害受容ニューロンである」という、これまで機能が不明であった第 0 脳神経・終神経の新たな生理機能を示す最初の報告をした。しかしながら、侵害受容ニューロンとしての終神経の機能は、依然としてほとんど分かっていない。

2. 研究の目的

痛みを伝える侵害受容ニューロンは、個体の生存を脅かす侵害性の脅威刺激に応答して忌避行動等を引き起こす。応募者らは、ゼブラフィッシュをモデルにして、第 0 脳神経・終神経が「二酸化炭素からの忌避行動に必須な侵害受容ニューロンである」ことを見出した。終神経は、ほぼ全ての脊椎動物の鼻に存在し、神経ペプチド GnRH を発現する。古典的な解釈による GnRH ニューロンは視床下部に位置し生殖関連機能を担う。しかしながら、視床下部外の GnRH ニューロンである終神経が生殖機能をもつことを示唆するデータはほとんどなく、その機能の全貌は依然不明な点が多い。そこで本研究課題では、侵害受容ニューロンとしての終神経の機能を単一細胞レベルで詳細に解析し、その生理的意義を確立することにある。侵害刺激を受容する感覚ニューロンかつ神経ペプチドニューロンとしての終神経の機能を解明し、痛み研究における新たな侵害受容ニューロンモデルとしての終神経研究分野を開拓する。

3. 研究の方法

以下の 4 項目を中心に研究を行い、終神経における神経ペプチドの機能を解明し、侵害受容ニューロンとしての機能の詳細を明らかにする。

神経ペプチドとその受容体の mRNA 発現解析

神経ペプチド摂動 (機能亢進/機能障害) のためのトランスジェニック系統の作成

神経ペプチド摂動による CO₂ からの侵害性防御行動と神経活動変化の観察

神経ペプチド摂動による single cell RNA シークエンス解析

神経ペプチドとその受容体の発現解析

終神経における神経ペプチド (GnRH, CGRP, NPFF, PRL) の mRNA 発現パターンを詳細に比較する。これら神経ペプチドの受容体についても同様に mRNA 発現パターンを調べる。このとき、作成済のトランスジェニック系統 (終神経の軸索に GFP を発現) を用いて解析することで、ペプチド/受容体の脳内分布範囲と終神経投射領域との関係を明らかにする。

神経ペプチド摂動 (機能亢進/機能障害) のためのトランスジェニック系統の作成

機能亢進については、Gal4/UAS システムによる過剰発現系を用いる。すでに作成済の GnRH3:Gal4 システムと UAS:神経ペプチド (GnRH, CGRP, NPFF, PRL) システムを掛け合わせて、終神経特異的に神経ペプチドを過剰発現可能な系統を得る。機能障害については、各種神経ペプチド (GnRH, CGRP, NPFF, PRL) に対するアンチセンスオリゴを用いたノックダウン (KD) とノックアウト (KO) フィッシュの作成を行う。

神経ペプチド摂動による CO₂ からの侵害性防御行動と神経活動変化の観察

各種神経ペプチド摂動個体 (機能亢進・機能障害) を用いて、ゼブラフィッシュ 5 日目稚魚の CO₂ 侵害性防御行動と神経活動イメージングによる応答の変化を計測する。どちらのアクセス系においても CO₂ の濃度依存性も確立しているので、CO₂ の濃度を变化させた条件で神経ペプチド摂動個体と対照群を比較することによって、行動と神経活動の変化を明らかにすることが期待できる。

神経ペプチド摂動個体による single cell RNA-seq 解析

神経ペプチド摂動個体 (機能亢進・機能障害) における終神経の single cell RNA-seq (Chromium Single Cell Gene Expression システム) を行う予定であったが、神経ペプチド KO フィッシュの作成に遅れが出たため、整次 RNA-seq 解析を実施する。

4 . 研究成果

神経ペプチドとその受容体の発現解析

終神経において、GnRH-GFP トランスジェニック系統（終神経の軸索に GFP を発現）を用いて解析を実施し、これら神経ペプチド（CGRP、NPFF、PRL）の mRNA 発現パターンに強弱はあるものの共発現が認められた。

神経ペプチド摂動（機能亢進/機能阻害）のためのトランスジェニック系統の作成

すでに作成済の GnRH3:Gal4 系統と UAS:神経ペプチド（GnRH、CGRP、NPFF、PRL）系統を掛け合わせて、終神経特異的に神経ペプチドを過剰発現可能な系統を作成した。機能阻害については、各種神経ペプチドのノックアウト(KO)フィッシュの作成を行った。

神経ペプチド摂動による CO2 からの侵害性防御行動と神経活動変化の観察

現在、各種神経ペプチド摂動個体（機能亢進・機能阻害）を用いて、ゼブラフィッシュ 5 日目稚魚の CO2 侵害性防御行動と神経活動イメージングによる応答の変化を解析中である。

現在、これらの結果を総合的に解析しており、感覚ニューロンかつ内分泌ニューロンという二重の機能を持つ侵害受容ニューロンの生理的意義とその分子基盤に迫ることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0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 小出 哲也	4. 巻 39(5)
2. 論文標題 第0脳神経 終神経 terminal nerve	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 CLINICAL NEUROSCIENCE vol.39 no.5:538-539 (2021)	6. 最初と最後の頁 538-539
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
---------	---------