

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 28 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24390416

研究課題名(和文)炎症の慢性化誘導因子としてのクロモグラニンA-カテプシンBと制御基盤技術の創出

研究課題名(英文)Critical roles of the chromogranin A-cathepsin B system in a transition of acute pain to a chronic pain state

研究代表者

中西 博(Hiroshi, Nakanishi)

九州大学・歯学研究科(研究院)・教授

研究者番号：20155774

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,100,000円

研究成果の概要(和文)：炎症性疼痛では一次侵害神経からのクロモグラニンA分泌により脊髄後角のミクログリアにおいてカテプシンB依存的にIL-1 β 産生分泌を誘導し、炎症性疼痛を引き起こすことが示唆された。一方、神経障害性疼痛では脾臓の樹状細胞においてカテプシンSは抗原提示によるCD4陽性T細胞の活性化に重要な役割を担うことが明らかとなった。活性化したCD4陽性T細胞は脊髄後角へ浸潤し、IFN- γ の産生分泌により脊髄ミクログリアの活性化状態を維持することで疼痛の慢性化を引き起こすことが認められた。これらの結果より、カテプシンBあるいはカテプシンSに対する特異的阻害剤が難治性慢性疼痛の治療薬となる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we found that cathepsin B is an essential enzyme for the induction of chronic inflammatory pain through its activation of pro-caspase-1, which subsequently induces the maturation and secretion of IL-1 β and IL-18 by spinal microglia. On the other hand, we found a peripheral pivotal role of cathepsin S in the development of neuropathic pain through the antigen-specific activation of CD4 $^{+}$ T-cells. After activation, CD4 $^{+}$ T-cells infiltrate into the dorsal spinal cord and secrete IFN- γ to reactivate microglia, which contribute to the transition of acute pain to a chronic pain state. Therefore, specific inhibitors for cathepsin B and cathepsin S may represent a useful new strategy for treating chronic pain.

研究分野：神経薬理学

キーワード：ミクログリア カテプシンB カテプシンS クロモグラニンA 炎症性疼痛 神経障害性疼痛

1. 研究開始当初の背景

最近、クロモグラニン A がミクログリアにおいてリソソーム酵素であるカテプシン B 依存的にプロ型カスパーゼ-1の活性化を誘導することを明らかにした。また、老化に伴いカテプシン B を含むリソソーム酵素が増大し、細胞内局在も変化することを報告した。これらの研究成果を踏まえ「クロモグラニン A ならびにカテプシン B が老化やストレスによりマクロファージ/ミクログリア内で増大することで口腔顎顔面領域における慢性炎症を原因とする難治性疼痛を引き起こす」という着想に至った。

2. 研究の目的

炎症の慢性化ならびにそれに伴う慢性疼痛に抑制効果を示すカテプシン B ならびにその他のカテプシン群の役割を確立することで慢性炎症が原因となる疾患に対する新たな先制医療を確立するための物質的基盤の提供を目的とした。

3. 研究の方法

培養ミクログリアを用い、クロモグラニン A 刺激に伴うカテプシン B 依存的な IL-1 β 産生経路を解析し、カテプシン B 欠損マウスの慢性炎症に対する抵抗性ととの因果関係について解析した。カテプシン B 欠損マウスにおける慢性炎症を原因とする口腔顎顔面領域における疾患(特に歯周炎、口内炎ならびに顎関節炎)の発症や進行を野生型マウスと比較検討し、炎症の慢性化ならびに難治性疼痛発症におけるクロモグラニン A ならびにカテプシン B の役割ならびに老化による変容を検討した。また、カテプシン B 以外の主なリソソーム性システインプロテアーゼのカテプシン L、H ならびに S についても同様の解析を行いカテプシン B との比較検討を行った。

4. 研究成果

末梢炎症に伴う炎症性疼痛では一次侵害神経からのクロモグラニン A の分泌により脊髄後角に局在するミクログリアにおいて IL-1 β 産生分泌に必要な 2 つの経路、

NF- κ B 活性化経路ならびにプロカスパーゼ-1 産生経路、が活性化することが明らかとなった。即ち、クロモグラニン A はミクログリアにおいて TLR4 ならびに CD14 を介して NF- κ B 経路を活性化し、プロ IL-1 β 産生を誘導した。さらに、クロモグラニン A はミクログリアにおいてオートリソソーム内において直接的にカテプシン B によるプロカスパーゼ-1 の活性化を誘導した(図 1)。

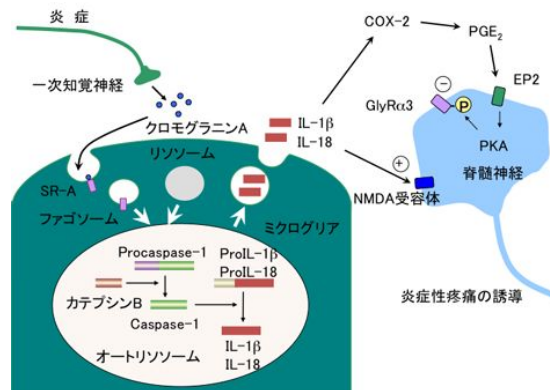


図1 クロモグラニン A-カテプシン B と炎症性疼痛の発症

一方、カテプシン S は神経障害性疼痛の慢性化において重要な役割を果たすことが示唆された。即ち、末梢神経障害に伴って脾臓の樹状細胞においてカテプシン S のプロテアーゼ反応によりインバリアント鎖の最終的な切断が生じ、抗原提示による CD4 陽性 T 細胞の活性化が生じる。さらに、活性化した CD14 陽性 T 細胞は脊髄後角に浸潤し、IFN- γ の産生分泌により脊髄ミクログリアの活性化状態を維持することで疼痛の慢性化が生じる可能性が示唆された(図2)。

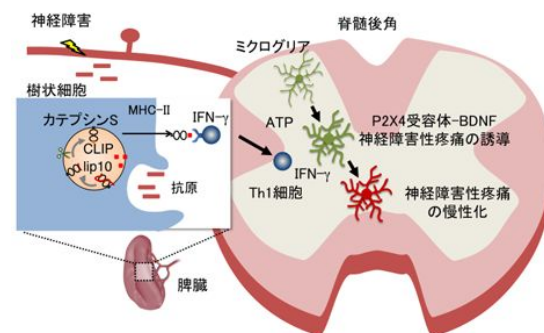


図2 カテプシン S と神経障害性疼痛の慢性化

これらの結果より、カテプシン B あるいはカテプシン S に対する特異的阻害剤が各々炎症性ならびに神経障害性疼痛の治療薬となる可能性が示唆された。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 13 件)

Li Sun, Zhou Wu, Yoshinori Hayashi, Christoph Peters, Makoto Tsuda, Kazuhide Inoue, Hiroshi Nakanishi “ Microglial cathepsin B contributes to the initiation of peripheral inflammation-induced chronic pain”, *Journal of Neuroscience*, Vol 32, No. 33, pp. 11330-11342, 2012 (DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0677-12.2012)

Xia Liu, Zhou Wu, Yoshinori Hayashi, Hiroshi Nakanishi, “ Age-dependent neuroinflammatory responses and deficits in long-term potentiation in the hippocampus during systemic inflammation, ” *Neuroscience*, Vol. 216, pp. 133-142, 2012 (DOI: 10.1016/j.neuroscience.2012.04.050)

Zhou Wu, Li Sun, Sadayuki Hashioka, Yu S, Schwab C, Ryo Okada, Yoshinori Hayashi, Patrick L McGeer PL, Hiroshi Nakanishi, “Differential pathways for interleukin-1 β production activated by chromogranin A and amyloid β in microglia” , *Neurobiology of Aging* , Vol. 34, No. 12, pp. 2715-2725, 2013(10.1016/j.neurobiolaging.2013.05.018. Epub 2013 Jul 4)

Fumiko Takayama, Zhou Wu, Hong Ma HM, Okada R, Yoshinori Hayashi, Hiroshi Nakanishi H, “Possible involvement of aiPLA₂ in the phosphatidylserine-containing liposomes induced production of PGE₂ and PGD₂ in microglia”, *Journal of Neuroimmunology*, Vol. 262, No 1-2, pp. 121-124, 2013 (DOI: 10.1016/j.jneuroim.2013.06.011. Epub 2013 Jul 11)

Yoshinori Hayashi, Satoru Koyanagi, Nooki Kusunose, Fumiko Takayama , Ryo Okada, Zhou Wu, Ryo Okada, Shigehiro Ohdo , Hiroshi Nakanishi, “Diurnal spatial rearrangement of microglial processes through the rhythmic expression of P2Y₁₂ receptors”, *Journal of Neurological Disorders*, 1:2, 2013 (DOI: 10.4172/jnd.1000120)

Zhou Wu, Aiqin Zhu, Fumiko Takayama, Ryo Okada, Yicong Liu, Yuka Harada, Shizheng Wu, Hiroshi Nakanishi, “Brazilian green propolis suppresses the hypoxia-induced neuroinflammatory responses by inhibiting NF- κ B activation in microglia”, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013: 906726 (DOI: 10.1155/2013/906726. Epub 2013 Aug 1)

Yoshinori Hayashi, Satoru Koyanagi , Naoki Kusunose, Ryo Okada, Zhou Wu, Hidetoshi Tozaki-Saitoh, Kiyoharu Ukai, Shinichi Kohsaka, Kazuhide Inoue, Shigehiro Ohdo, Hiroshi Nakanishi, “The intrinsic microglial molecular clock controls synaptic strength via the circadian expression of cathepsin S”, *Scientific Reports*, 3, 2744, 2013 (DOI: 10.1038/srep02744)

Yicong Liu, Zhou Wu, Xinwen Zhang, Junjun Ni, Weixian Yu, Yanmin Zhou, Hiroshi Nakanishi, “ Leptomeningeal cells transduce peripheral macrophages inflammatory signal to microglia in response to Porphyromonas gingivalis LPS”, *Mediators of Inflammation*, 2013: 407562 (DOI: 10.1155/2013/407562. Epub 2013 Dec 2)

Xinwen Zhang, Zhou Wu, Yoshinori Hayashi, Ryo Okada R, Hiroshi Nakanishi, “ Peripheral role of cathepsin S in Th1 cell-dependent transition of nerve injury-induced acute pain to a chronic pain state.” *Journal of Neuroscience*, Vol 34, No. 8, pp. 3013-3022, 2014 (DOI: 0.1523/JNEUROSCI.3681-13.2014)

Yoshinori Hayashi, Yuka Koga, Xinwen Zhang, Christoph Peters, Yanagawa Y, Zhou Wu, Takeshi Yokoyama, Hiroshi Nakanishi, “Autophagy in superficial spinal dorsal horn accelerates the cathepsin B-dependent morphine antinociceptive tolerance”, *Neuroscience*, Vol. 275, pp. 384-394, 2014 (DOI: 10.1016/j.neuroscience.2014.06.037)

Ryo Okada, Zhou Wu, Aiquin Zhu, Junjun Ni, Zhang J, Yoshito Yoshimine, Christoph Peters, Paul Saftig, Hiroshi Nakanishi, “Cathepsin D deficiency induces oxidative damage in brain pericytes and impairs the blood-brain barrier”, *Molecular and Cellular Neuroscience*, Vol. 64, pp. 51-60, 2015 (DOI: 10.1016/j.mcn.2014.12.002.)

Hiroshi Nakanishi, Novel roles of

microglia, Clinical and Experimental Neuroimmunology, Vol. 5 (Suppl. 1), pp. 35-40, 2014. (DOI: 10.1111/cen3.12161)

Zhou Wu, Hiroshi Nakanishi, Connection between periodontitis and Alzheimer's disease: possible roles of microglia and leptomeningeal cells. Journal of Pharmacological Sciences, Vol. 126, No.1, pp. 8-13, 2014 (DOI: 10.1254/jphs.14 R11CP)

〔学会発表〕(計 11 件)

中西 博, ミクログリアの電気生理学的解析, 包括型脳科学研究推進支援ネットワーク・夏のワークショップ, 「グリア機能解析」チュートリアル, 仙台, 7 月 27 日, 2012 年

中西 博, 林 良憲, NMDA レセプターとミクログリア, CINP・NP2012 合同年会, シンポジウム: NMDA レセプター神経疾患の分子病態を探る, 宇都宮, 10 月 20 日, 2012 年

中西 博, Microglia-Synapse Interaction によるシナプス強度の調節, 愛媛大学医学研究院からの基礎研究医育成コース, 基礎 GP・先端研究者と学部生/大学院生の双方向型セミナー, 脳ミクログリア/マクログリア --その基礎と臨床--, 特別講演, 松山, 12 月 5 日, 2012 年

中西 博, ミクログリアの産生するカテプシン群の慢性疼痛における役割, 平成年度生理研研究会「痛み研究の新たな展開」, 教育講演, 岡崎, 12 月 13 日, 2012 年

林 良憲, 中西 博, Regulation of microglia-synapse interactions and synaptic strength by microglial circadian clock, in Symposium of “Roles of microglia and astrocytes in synaptic reorganization: New trends in glial research”, シンポジウム, 第 86 回日本薬理学会年会, 3 月 21 日, 2013 年

中西 博, Microglial circadian clock controls microglia-synapse interactions in the healthy brain, in Symposium of “Why do microglia exist in the brain: As a target for treatment of neurological disorders”, シンポジウム, 第 90 回日本生理学会大会, 3 月 28 日, 2013

年

中西 博, “Microglial circadian clock controls diurnal changes in synaptic strength through microglia-synaptic interactions”, シンポジウム, Neuro2013, 国立京都国際会館, 平成 25 年 6 月 21 日

中西 博, Novel roles of microglia, 第 1 回 MS Summer College, 電気ビル みらいホール&カンファレンス(福岡), 2014 年 8 月 3 日

武 洲, 中西 博, 歯周病菌による脳髄膜を介したミクログリアの活性化: サテライトシンポジウム「歯周病・糖尿病・アルツハイマー病の負のスパイラルを断ち切る: 口腔からの健康寿命延伸戦略」, 第 56 回歯科基礎医学会学術大会, 福岡国際会議場(福岡), 2014 年 9 月 26 日

武 洲, 中西 博, 歯周病菌によるアルツハイマー様脳病態の促進メカニズム: シンポジウム「歯周病・糖尿病・アルツハイマー病の負のスパイラルから見えてきた新たなアルツハイマー病の治療戦略」, 第 88 回日本薬理学会年会, 名古屋国際会議場(名古屋), 2015 年 3 月 20 日

林 良憲, 中西 博, A big channel in small glia as a promising molecular target for the treatment of opioid-induced hyperalgesia: シンポジウム「生理学・解剖学の視点から探る脳内環境」, 第 120 回日本解剖学会総会・第 92 回日本生理学会大会, 神戸国際会議場(神戸), 2015 年 3 月 23 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:

権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
http://www.dent.kyushu-u.ac.jp/koza/koku_jotai_seigyō/koku_kinou_bunshi/kenkyugaiyo.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中西 博 (NAKANISHI, Hiroshi)
九州大学・歯学研究院・教授
研究者番号：20155774

(2) 研究分担者

武 洲 (TAKE, Hiro)
九州大学・歯学研究院・准教授
研究者番号：10420598

林 良憲 (HAYASHI, Yoshinori)
九州大学・歯学研究院・助教
研究者番号：80582717

(3) 連携研究者

()

研究者番号：