

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：17601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26860384

研究課題名(和文) 痒み伝達機構におけるGPR83の役割に関する研究

研究課題名(英文) New tachykinin receptor mediates pruriceptive processing in the spinal cord

研究代表者

中山 留美(直野留美)(Nakayama-Naono, Rumi)

宮崎大学・医学部・特別研究員

研究者番号：00609034

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：痒みは痛みに類似した体性感覚の一つであるが、その違いがどの分子に起因しているのか明らかにされていない。中枢神経系における遺伝子レベルでの痒みの研究は、数個の遺伝子が同定されているだけで、この研究は初期段階であると言える。そこで、これまで進めてきた痛みの伝達ペプチドの研究より、サブスタンスP(SP)とアミノ酸配列の類似するヘモキニン-1(HK-1)が、痒みの伝達に寄与するペプチドである可能性が高まってきた。さらに、HK-1に特異的な受容体が他の痒み受容体と同様に脊髄にて発現することが認められた。従って、HK-1に特異的な受容体が新たな痒み伝達に寄与する受容体であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Tachykinin peptides represented by substance P (SP) share common amino acid sequences at the C-terminal end, F-X-G-L-M, an essential amino acids motif for their wide physiological functions. Whereas the functions of hemokinin-1 (HK-1), a new tachykinin peptide may work as a neurotransmitter as well as SP, but the details of its functions are still unclear. We previously showed that HK-1 may play a critical role in itch transduction and the HK-1-preferred receptor may mediate itch signal in the spinal dorsal horn. Recently we found HK-1-preferred receptor based on amino acid homology to SP receptor, NK1R. Here we aim to clarify the involvement of HK-1-preferred receptor in itch processing mediated by HK-1.

研究分野：疼痛学

キーワード：痒み 痛み 脊髄 オーファン受容体 サブスタンスP

1. 研究開始当初の背景

1. サブスタンス P (SP)を代表とするタキキニンペプチドは、8種のペプチドが属するペプチドファミリーであり、3種の受容体が報告されている。その中でも SP 受容体である neurokinin 1 受容体(NK1R)に対して親和性を有するペプチドとして SP 以外に、マウス TAC4 遺伝子よりヘモキニン-1(HK-1) (Zhang et. al., *Nature immunol.*, 2000)そして、ヒト TAC4 遺伝子より推測された4種のエンドキニンペプチド(EKs)がある(Page et. al., *PNAS*, 2003)。

2. NK1R に類似した受容体が推測されたが (Tuluc et.al., *Trends in Immunol.*, 2009)その受容体は同定されず、受容体と TAC4 遺伝子由来ペプチドとの関係も知られていない。

SP および NK1R の生理学的機能として炎症・疼痛系が挙げられるが、最近では SP や CGRP (calcitonin-gene-related peptide)といった神経ペプチドが脊髄後角において痒みの伝達に関与すると考えられている (Davidson et. al., *Trends in Neurosci.*, 2010)。しかし現在まで、神経ペプチドの受容体が痒み伝達に関与するかどうか確たる報告はなく、痒みの研究は、端を発したばかりである。

2. 研究の目的

(1) これまで進めてきた疼痛系における神経ペプチドであるヘモキニン-1(HK-1)の解析から、HK-1 に特異的な受容体があり、その受容体を介して痒みの伝達を誘発していることを示唆する結果を得ている。しかし、詳細なメカニズムは未だ明らかとされていない。

(2) 脊髄後角における痒みの伝達に寄与する新たな分子として HK-1 に特異的な受容体を介した痒みの伝達機序を明らかとすることで、新たな創薬の開発へとつなげたい。

3. 研究の方法

行動学的、分子生物学的そして形態学的解析といった多角的な方法から、痒み伝達機構における HK-1 に特異的な受容体の役割を明らかにする。具体的には、以下の3点について解析する。

(1) HK-1 に特異的な受容体の KO mice および脊髄での Knock down による痒みおよび疼痛の行動学的解析により、痒み行動に対する脊髄に発現する HK-1 に特異的な受容体の役割を明らかにする。

(2) ヘモキニン-1(HK-1)が HK-1 に特異的な受容体のリガンドであることを明確にし、HK-1 に特異的な受容体を介した細胞内情報伝達系などを生化学的および分子生物学的に解析することで、痒み伝達の特徴を示す。

(3) 脊髄後角での HK-1 に特異的な受容体の発現様式を形態学的に解析し、HK-1 に特異的な受容体を介した痒みの伝達経路を明らかにする。

4. 研究成果

(1) HK-1 に特異的な受容体の KO mice および脊髄での Knock down による痒み行動学的解析により、痒み行動が野生型と比べて誘発されないことが明らかとなった。また痛み行動は、野生型と同様に痛み行動を示した。

(2) HK-1 あるいは SP をそれぞれ HK-1 特異的な受容体を一過性に発現させた細胞へ添加し、細胞への神経ペプチドの添加により生じる細胞内カルシウムイオン濃度の変動を指標として解析した。また、細胞内カルシウムイオンの変動が認められると、添加したペプチドが受容体のリガンドであることを示すことができる。その結果、HK-1 特異的な受容体への SP 添加に伴う細胞内カルシウムイオンの変動と比べて HK-1 の方が顕著な細胞

内カルシウムイオンの変動となった。

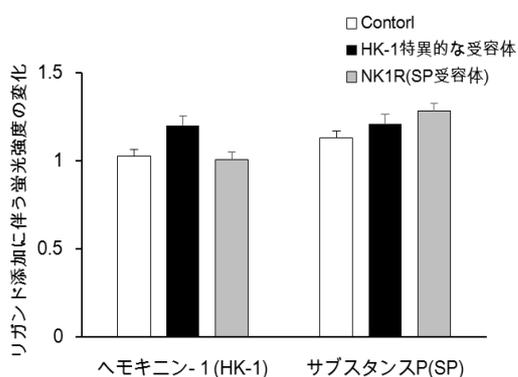


図 1. 受容体発現細胞への神経ペプチド添加による細胞内カルシウムイオンの変動

(3) HK-1 特異的な受容体は脊髄後角にて発現することが認められ、その発現様式は既知の痛み受容体との発現の違いが認められた。このことから、HK-1 特異的な受容体は痛みではなく、痒みの伝達機構へ寄与する受容体であることを示唆された。

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 3 件)

K. Igawa, H. Funahashi, Y. Miyahara, R. Naono-Nakayama, H. Matsuo, S. Sakoda, T. Nishimori, Y. Ishida, Distribution of hemokinin-1 in the rat trigeminal ganglion and trigeminal sensory nuclear complex、Archives of Oral Biology、査読有、Vol. 79、2017、pp. 62-69、DOI:http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.03.004

H. Funahashi, R. Nakayama-Naono, G. Koganemaru, Y. Miyahara, T. Nishimori, K. Takamiya, Y. Ishida、Hemokinin-1 derived peptides have antipruritic effect in rats., Therapeutic Targets for Neurological Diseases、査

読有、Vol. 2、2015、e704

DOI: http://dx.doi.org/10.14800/ttnd.704

H. Funahashi, R. Nakayama-Naono, K. Ebihara, G. Koganemaru, A. Kuramashi, T. Ikeda, T. Nishimori, Y. Ishida, Neuroscience、査読有、Vol. 277、2014、pp. 206-216
DOI: 10.1016/j.neuroscience.2014.07.001

〔学会発表〕(計 6 件)

R. Nakayama-Naono, H. Funahashi, Y. Miyahara, T. Nishimori, K. Takamiya, New tachykinin receptor mediates pruriceptive processing in the spinal cord, 第 16 回 国際疼痛学会、パシフィコ横浜(神奈川県、横浜)、2016 年 9 月 26 日 ~ 2016 年 9 月 30 日

R. Nakayama-Naono, H. Funahashi, T. Nishimori, K. Takamiya, New tachykinin receptor mediates pruriceptive processing in the spinal cord. The 3rd International Symposium on Glyco-Neuroscience, ウェスティンホテル淡路(兵庫県、淡路島) 2016 年 1 月 14 日 ~ 2016 年 1 月 16 日

R. Nakayama-Naono, H. Funahashi, K. Takamiya, T. Nishimori, Orphan receptor GPR84 mediates pruriceptive processing in the spinal cord. 8th World Congress on itch(国際痒み学会)、奈良春日野国際フォーラム 薨~I・RA・KA~(奈良県、奈良)、2015 年 9 月 25 日 ~ 2015 年 9 月 27 日

中山直野 留美、船橋英樹、高宮考悟、西森利数、ヘモキニン-1 フラグメントペプチド HK-1(1-5)が痒み伝達を抑制する、第 37 回日本疼痛学会、熊本市市民会館(熊本県、熊本) 2015 年 7 月 4 日 ~ 2015 年 7 月 5 日

R. Nakayama-Naono, H. Funahashi, K. Takamiya, T. Nishimori, An amino-terminal fragment of Hemokinin-1 has an inhibitory effect on pruritic processing in rats, 第 37 回 日本神経科学会、パシフィコ横浜(神奈川県、横浜)2014 年 9 月 11 日～2014 年 9 月 13 日

R. Nakayama-Naono, H. Funahashi, K. Takamiya, T. Nishimori, Hemokinin-1(1-5) elicits the inhibitory effect on pruritic processing, Society for Neuroscience 2014, ワシントンコンベンションセンター- (ワシントン D.C., 米国),2014 年 11 月 15～2014 年 11 月 19 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 1 件)

名称：GPR83 の受容体機能を阻害する方法

発明者：中山留美、高宮考悟、西森利数

権利者：宮崎大学、中山留美、高宮考悟、西森利数

種類：知的財産

番号：特願 2016-112686

出願年月日：2016 年 6 月

国内外の別：国内

○取得状況(計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等
特になし

6. 研究組織

(1)研究代表者

中山 留美 (直野 留美)
(Nakayama, Rumi (Naono, Rumi))
宮崎大学 医学部・特別研究員

研究者番号：00609034

(2)研究分担者

特になし

(3)連携研究者

特になし

(4)研究協力者

特になし