

令和 元年 6 月 12 日現在

機関番号：63801

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化）

研究期間：2016～2018

課題番号：15KK0343

研究課題名（和文）痒みを特異的に伝達する脳 - 脊髄神経ネットワークの同定（国際共同研究強化）

研究課題名（英文）Neuronal network of itch transmission connecting the brain and the spinal cord  
(Fostering Joint International Research)

研究代表者

高浪 景子 (Takanami, Keiko)

国立遺伝学研究所・遺伝形質研究系・助教

研究者番号：70578830

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 11,200,000円

渡航期間： 8ヶ月

研究成果の概要（和文）：耐え難い痒みの伝達メカニズムを明らかにするために、脊髄と脳を結ぶ痒みを伝達する神経ネットワークの解明を目的とした。本研究では痒み過敏モデル動物を用い、知覚神経系の中継地として重要な脊髄および脳幹に着目して機能解析を実施した。その結果、痒み感受性の変化が脊髄知覚神経ガストリン放出ペプチド神経系の痒み伝達様式に変化を与えること、求心性のみでなく遠心性に痒みが調節されることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性化した痒みは日常生活に支障を与えるのみでなく精神面にも大きな影響を与えるが、これまでの痒み研究は皮膚を中心に解明が進んでおり、皮膚から知覚神経系を介した脳へ痒みを伝達する神経ネットワークには不明な点が多い。痒み高感受性モデル動物における知覚神経系の痒み伝達様式の変化と脊髄と脳の痒み伝達クロストーク解析から、今後の痒み伝達機構の解明および治療につながることを期待される。

研究成果の概要（英文）：To clarify the transmission mechanism of acute itch and chronic itch, we analyzed the neural network that transmits itch connecting the spinal cord and the brain focusing on the spinal cord and brainstem, which are important relay points of the sensory nervous system in itch hypersensitive model animals. Our study revealed that the change of the itch sensitivity alters the patterns of itch transmission in the gastrin-releasing peptide system of the spinal sensory system and itch transmission was regulated by not only afferent pathway but also efferent pathway.

研究分野：神経解剖学

キーワード：痒み 神経回路 脊髄 脳幹 ガストリン放出ペプチド受容体 遺伝子改変ラット 慢性掻痒モデル 搔破行動

## 1. 研究開始当初の背景

痒みは掻きたいという衝動を誘発する耐え難く不快な皮膚感覚であり、掻く行動により内因性の起痒物質の遊離を促進し、痒みの悪循環を導く。皮膚炎等の症状が悪化すると、日常生活に支障をきたすのみでなく、痒みによる不快感やいらだちにより、精神面も多大な影響を受ける。この痒みの悪循環が起こる原因が不明であるため、根本的治療が難しい。これまでの痒み研究は皮膚を中心に解明が進んできたが、皮膚から知覚神経系を介して、脳へ痒みを伝達する神経ネットワークには不明な点が多い。

## 2. 研究の目的

そこで本研究では知覚神経系のうち脊髄から脳へ、または脳から脊髄への痒みを伝達する神経ネットワークを明らかにし、痒み伝達機構の解明から、慢性掻痒の治療への理解に繋げることを目的とした。我々はこれまで皮膚から脊髄へ投射する痒み伝達分子ガストリン放出ペプチド (GRP) の解析を実施してきた背景から、痒み過敏モデル動物における脊髄に発現する GRP 受容体の機能を解析した。また、脳から脊髄に対する痒み伝達調節機構を明らかにするために、脊髄への投射が報告されている脳幹の延髄腹側部に着目し、この領域が痒み伝達に関わるか調べた。

## 3. 研究の方法

[3-1] 皮膚への痒み刺激に対して、痒みの指標となる掻き行動が高い痒み高感受性モデルラットを作出し、脊髄 GRP 神経系に機能変化がみられるか解析を行った。神経活性を測るために、免疫組織化学解析により、神経活性マーカー c-Fos の発現解析および GRP 受容体との共存解析を実施した。また *in vivo* 細胞外記録法により、末梢の痒み刺激に応答する脊髄における GRP 応答性細胞の機能解析を実施した。

[3-2] 研究代表者が本研究期間の前半に所属していた岡山大学臨海実験所で作出された GRP 受容体遺伝子改変ラットを用いて、末梢の痒み刺激に応答する脊髄における GRP 受容体発現細胞の機能解析を実施した。ジフテリア毒素による標的細胞ノックアウト法および GRP 受容体阻害剤投与による GRP 受容体発現細胞抑制時における痒みの伝達の変化を調べた。

[3-3] カリフォルニア大学デービス校において、脳から脊髄に対する痒み伝達調節機構を明らかにするために脳幹の延髄腹側部に着目し、化学遺伝学法と掻き行動解析を組み合わせ解析した。

[3-4] カリフォルニア大学デービス校において、健常時と慢性掻痒時における脳-脊髄における痒み伝達機構の変化を調べるために、各種慢性掻痒病態モデルマウスの作製を実施し、中枢神経系における神経活性解析を実施した。

## 4. 研究成果

[4-1] 痒みを誘発する起痒物質を皮膚に投与すると、痒み高感受性ラットではコントロール群に比べ有意な掻き行動の上昇と掻き行動の持続がみられた。このとき、脊髄後角の神経活性を調べた結果、神経活性マーカー c-Fos 発現の上昇および脊髄 GRP 受容体発現細胞における c-Fos 発現の上昇がみられた。コントロール群においても、GRP 受容体発現細胞に c-Fos 発現がみられたことから、末梢の痒み刺激により、脊髄 GRP 受容体発現細胞が痒みの伝達に関わること、また痒み感受性が上昇しているときは、さらに脊髄 GRP 受容体発現の活性が上昇することが示唆された。さらに、*in vivo* 細胞外記録法により、脊髄における GRP 受容体発現細胞の機能解析を行った。皮膚への起痒物質投与に対し、コントロール群と痒み高感受性ラットにおいて、脊髄後角の GRP 応答ニューロンの発火がみられたが、痒み高感受性ラットでは、コントロール群と比べ発火頻度の上昇が長期持続することが明らかとなった。ここから痒み高感受性ラットでは、神経細胞の活動と個体の行動レベルで、痒みに対する応答性の上昇が一致していることが示唆され、GRP 神経系の機能変化が確認された。

[4-2] GRP 受容体遺伝子改変ラットは蛍光シグナルを指標に GRP 受容体ニューロンの局在を解析可能である。まず、GRP 受容体発現が報告されている脳・脊髄の各領域において、蛍光シグナルを確認した。次に、標的細胞ノックアウト (toxin receptor-mediated cell knockout) 法を用い、ジフテリア毒素を局所投与することにより、GRP 受容体発現ニューロンの時・空間特異的な選択的破壊を試みた。ジフテリア毒素を投与し、投与濃度の検討を行い、脊髄後角における GRP 受容体発現細胞数の計測を行い破壊の評価を行った。その結果、ジフテリア毒素投与ではコントロールに比べ GRP 受容体発現細胞の減少傾向がみられた。しかし、当初の予想よりも消失割合が少なかったため、平行して、GRP 受容体阻害剤を用いた解析を実施した。痒み高感受性ラットの脊髄くも膜下腔に GRP 受容体阻害剤を投与したのち、皮膚に起痒物質を投与し掻き行動解析を実施した。その結果、GRP 受容体阻害剤投与ではコントロールに比べ、濃度依存的な掻き行動の減少が示された。ここから痒み高感受性ラットにおいても、脊髄から脳への痒

みの伝達に GRP 受容体が関与していることが行動薬理的に示された。

[4-3] 脳から脊髄に対する痒み伝達調節機構を明らかにするために、脊髄への投射が報告されている脳幹吻側延髄腹側部に着目し、この領域が痒み伝達に関わるか調べた。ターゲットペプチドを本領域に脳内投与すると、コントロールと比べ、皮膚への起痒物質投与に対する搔き行動が低下した。また、ターゲットペプチド受容体発現ニューロンを興奮性 DREADD により活性化させると、末梢の起痒物質投与に対する搔破行動の低下が示された。

[4-4] 慢性搔痒時における脳-脊髄における痒み伝達機構の変化を調べる目的として、まず慢性搔痒病態モデルとして、ドライスキンモデル、乾癬モデル、アトピー性皮膚炎モデルマウスの作製を実施した。これらのモデルにおいて、皮膚炎の発症程度や重症度は異なったが、コントロール群に対し、痒みに対する高い感受性を示した。慢性搔痒モデルマウスとコントロール群における脳の神経活性領域の比較を現在も継続して実施している。

以上から、痒み感受性の変化が脊髄における GRP 神経系の痒み伝達様式に変化を与えること、また、脳からの脊髄への痒み調節機構が存在することが明らかとなった。

## 5 . 主な発表論文等 (研究代表者は下線)

### [雑誌論文](計 6 件)

1. Yukitoshi Katayama, Tatsuya Sakamoto, Keiko Takanami, Yoshio Takei, The Amphibious Mudskipper: A Unique Model Bridging the Gap of Central Actions of Osmoregulatory Hormones Between Terrestrial and Aquatic Vertebrates, *Frontiers in Physiology* 2018: 9; 1112. doi: 10.3389/fphys.2018.01112. 査読有
2. Takumi Oti, Keiko Takanami, Saya Ito, Takashi Ueda, Ken Ichi Matsuda, Mitsuhiro Kawata, Jintetsu Soh, Osamu Ukimura, Tatsuya Sakamoto, Hirotaka Sakamoto, Effects of Sex Steroids on the Spinal Gastrin-Releasing Peptide System Controlling Male Sexual Function in Rats, *Endocrinology* 2018: 159; 1886-1896. doi: 10.1210/en.2018-00043. 査読有
3. Takashi Ito, Takumi Oti, Keiko Takanami, Keita Satoh, Yasumasa Ueda, Tatsuya Sakamoto, Hirotaka Sakamoto, A sexually dimorphic peptidergic system in the lower spinal cord controlling penile function in non-human primates, *Spinal Cord* 2018: 56; 57-62. doi: 10.1038/sc.2017.105. 査読有
4. Seiki Matsuo, Ken Ichi Matsuda, Keiko Takanami, Taisuke Mori, Masaki Tanaka, Mitsuhiro Kawata, Jo Kitawaki, Decrease in neuronal spine density in the postpartum period in the amygdala and bed nucleus of the stria terminalis in rat, *Neuroscience Letters* 2017: 641; 21-25. doi: 10.1016/j.neulet.2017.01.040. 査読有
5. Kei Tamura, Yasunao Kobayashi, Asuka Hirooka, Keiko Takanami, Takumi Oti, Takamichi Jogahara, Senichi Oda, Tatsuya Sakamoto, Hirotaka Sakamoto, Identification of the sexually dimorphic gastrin-releasing peptide system in the lumbosacral spinal cord that controls male reproductive function in the mouse and Asian house musk shrew (*Suncus murinus*), *Journal of Comparative Neurology* 2017: 525; 1586-1598. doi: 10.1002/cne.24138. 査読有
6. Yuki Takayanagi, Masahide Yoshida, Akihide Takashima, Keiko Takanami, Shoma Yoshida, Katsuhiko Nishimori, Ichiko Nishijima, Hirotaka Sakamoto, Takanori Yamagata, Tatsushi Onaka, Activation of supraoptic oxytocin neurons by secretin facilitates social Recognition, *Biological Psychiatry* 2017: 81; 243-251. doi: 10.1016/j.biopsych.2015.11.021. 査読有

### [学会発表](計 19 件)

1. Keiko Takanami, Olga Yakimenko, Hiromichi Nagayama, Tsuyoshi Koide, SOCIALITY AFFECT THE SOCIAL CONTAGIOUS BEHAVIOR?, The 3rd Sino-Japan Symposium on the Frontier of Behavioral Neuroendocrinology (国際学会), 2019 年
2. 高浪景子, 痒みの神経回路の解析、第 41 回関西実験動物研究会 (招待講演)、2019 年
3. 高浪景子, 坂本浩隆、小出剛、マウスとラットを用いた痒み伝達機構の比較解析、第 41 回

日本分子生物学会（招待講演）、2018年

4. 大坪 秋人、綿部崇久、佐藤慧太、高浪景子、坂本竜哉、坂本浩隆、マウス脳におけるエストロゲン受容体 免疫組織化学の再検討、第45回日本神経内分泌学会学術集会、2018年
5. 野村 黎、高浪景子、坂本竜哉、坂本浩隆、ラット内側視索前野において雄の性行動を司る神経回路系の解析、第45回日本神経内分泌学会学術集会、2018年
6. 藤山大輝、廣岡あすか、高浪景子、坂本竜哉、坂本浩隆、魚類メダカから探るガストリン放出ペプチド系の機能進化 痒みに着目して、日本動物学会 第89回大会2018札幌、2018年
7. 野村 黎、高浪景子、坂本竜哉、坂本浩隆、ラット内側視索前野における雄の性行動を制御する神経回路系の解明、第29回日本行動神経内分泌研究会、2018年
8. Keiko Takanami, Kazuyoshi Murata, Tatsuya Sakamoto, Hirotaka Sakamoto, Ultrastructural analysis of the peptidergic neurons mediating itch sensation, 9th International Congress of Neuroendocrinology (国際学会), 2018年
9. Makoto Morishita, Keiko Takanami, Tatsuya Sakamoto, Hirotaka Sakamoto, Effects of chronic corticosterone administration on male sexual function and itch sensation in rats, 9th International Congress of Neuroendocrinology (国際学会), 2018年
10. 藤山大輝、廣岡あすか、高浪景子、坂本竜哉、坂本浩隆、メダカを用いて魚類の体性感覚の存在を探る、中国四国地区生物系三学会（日本動物学会・日本植物学会・日本生態学会）合同大会、2018年
11. 高浪景子、伊藤隆志、越智拓海、小林靖尚、佐藤慧太、上田康雅、坂本竜哉、坂本浩隆、霊長類ニホンザルにおける Gastrin-releasing peptide 神経系の機能局在、第123回日本解剖学会総会・全国学術集会、2018年
12. 高浪景子、坂本浩隆、ラットとマウスにおける痒み感受性の相違、2017年度 遺伝研 研究会「マウスとラットで拓く新しい比較実験動物学」、2017年
13. Keiko Takanami, Gastrin-releasing peptide system as itch neural circuits in rodents, Biological Symposium, National Institute of Genetics (招待講演), 2017年
14. Keiko Takanami, Keita Satoh, Kazuyoshi Murata, Tatsuya Sakamoto, Hirotaka Sakamoto, Morphological and molecular evolutionary analyses of itch focused on the gastrin-releasing peptide system in mammals, The 9th World Congress of Itch (国際学会), 2017年
15. 高浪景子、若手研究者学術奨励賞受賞講演「組織化学的解析による痒みの伝達機構」、第58回日本組織細胞化学学会総会・学術集会（招待講演）、2017年
16. 坂本竜哉、高浪景子、岡山大学理学部附属牛窓臨海実験所・文部科学省認定共同利用拠点、Brainstorming 2017 (招待講演)、2017年
17. 森下 誠、高浪景子、越智拓海、坂本竜哉、坂本浩隆、ブレインストーミング2017 受賞者講演「慢性ストレスは男性性機能障害と痒覚過敏を誘発する」、Brainstorming 2017 (招待講演)
18. 森下 誠、高浪景子、越智拓海、坂本竜哉、坂本浩隆、慢性ストレスは男性性機能障害とかゆみ感覚の過敏を引き起こす、日本動物学会・日本植物学会・日本生態学会 中国四国地区生物系三学会合同大会、2017年
19. 高浪景子、歌 大介、松田賢一、河田光博、坂本竜哉、坂本浩隆、ホルモンによる知覚調節への影響、第27回日本行動神経内分泌研究会、2017年

〔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：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等  
岡山大学理学部附属牛窓臨海実験所  
<http://www.science.okayama-u.ac.jp/~rinkai/index.html>

国立遺伝学研究所マウス開発研究室・小出研究室  
<http://www.mgrl-lab.jp/>

## 6. 研究組織

研究協力者

〔主たる渡航先の主たる海外共同研究者〕

研究協力者氏名：Earl E. Carstens  
ローマ字氏名：Earl E. Carstens  
所属研究機関名：University of California, Davis  
部局名：Neurobiology, Physiology and Behavior  
職名：Professor

〔その他の研究協力者〕

研究協力者氏名：Mirela Carstens  
ローマ字氏名：Mirela Carstens  
所属研究機関名：University of California, Davis

研究協力者氏名：Taylor Follansbee  
ローマ字氏名：Taylor Follansbee  
所属研究機関名：University of California, Davis

研究協力者氏名：森下 誠  
ローマ字氏名：Makoto Morishita  
所属研究機関：岡山大学 自然科学研究科・理学部附属臨海実験所

研究協力者氏名：坂本浩隆  
ローマ字氏名：Hirotaka Sakamoto  
所属研究機関：岡山大学 自然科学研究科・理学部附属臨海実験所

研究協力者氏名：歌 大介  
ローマ字氏名：Daisuke Uta  
所属研究機関：富山大学 大学院医学薬学研究部(薬学)