

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590726

研究課題名(和文) 神経栄養因子による皮膚感覚増感作用は温もると痒いメカニズムを説明できるか？

研究課題名(英文) Is Artemin involved in the mechanism of warmth provoked itch?

研究代表者

室田 浩之 (Murota, Hiroyuki)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：90363499

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：痒みは時に生活の質を大きく損なわせる皮膚症状の一つです。特に多くの方が経験する「温もると痒い」という症状の多くが治療に抵抗性を示します。温熱が痒みを誘発するメカニズムはまだ十分に理解されていないため、本研究では皮膚の温感に影響を与える神経栄養因子アーテミンが温もると痒い現象に関わるかを検討しました。本研究よりアーテミンの皮膚への蓄積は脳を興奮させ、全身の温熱過敏を誘発する結果、全身に温もると痒い現象を生じさせる、いわゆる「痒がる脳」のメカニズムの一旦が解明されました。この成果は「温もると痒い」症状に対する新しい治療の開発につながると期待されます。

研究成果の概要(英文)：Itch is the one of the major symptom of dermatoses, and is caused by environmental factors. Warm circumstance frequently develop itch, and such type of itch is intractable. The aim of this study was to reveal the mechanism of "warmth provoked itch" and to contribute to formulate novel therapeutic strategies for itch. Previously, we found that accumulation of artemin, a glial cell derived neurotrophic factor, cause thermal hypersensitivity of skin, and causes systemic itch in warm circumstance. In this study, we found that accumulation of artemin in skin sensitize the central nerve system and systemic itch. Neutralization of artemin desensitized abnormal excitation of brain. This result indicated that artemin might be a therapeutic target for warmth-provoked itch.

研究分野：医歯薬学

キーワード：痒みの発生・増強機序

1. 研究開始当初の背景

痒みは皮膚疾患および全身疾患に伴う皮膚症状の主要な症状として認められる。私たちは痒みを伴う患者の quality of life および勉強/労働能率が著しく損なわれている事を確認してきた。既存の痒み治療に抵抗性を示す症例は多く、難治化メカニズムの解明と対策方法の立案が患者しいては社会に貢献できるものと期待される。

痒みの誘起因子からの視点は日常診療に直結し、メカニズム解明に向けた有用なヒントを提供していると考えられる。アトピー性皮膚炎の痒み誘起因子には引用可能な報告があり、アトピー性皮膚炎患者の96%は「温熱、発汗」が誘起因子と考えており最大の誘因とされている。本研究は温熱が痒みを誘発するメカニズムに着目した。

2. 研究の目的

アトピー性皮膚炎において痒みは主要な症状の1つとして知られる。既存の痒み治療に抵抗性を示す症例は多く、難治化メカニズムの解明と対策方法の立案が患者しいては社会に貢献できるものと期待される。アトピー性皮膚炎の痒み誘起因子には引用可能な報告があり、「温熱、発汗」が最大の悪化因子とされている。本研究では皮膚の温感に影響を与える神経栄養因子アーテミンの皮膚での作用に着目し、痒みを選択的に抑制するアトピー性皮膚炎の新しい治療戦略確立を目的とする。

3. 研究の方法

1) 神経栄養因子とアロネシスの関係: アーテミン、あるいはその誘導因子であるサブスタンス P が熱痛覚過敏に与える影響を Hargreaves test にて確認する。アーテミン 0.2ug/回/個体あるいはサブスタンス P 20ul (1×10^4 M) を足底に皮下注射した12時間後に測定した。アーテミンの中和実験にはサブスタンス P と同時に中和抗体 0.2ug を投与した。

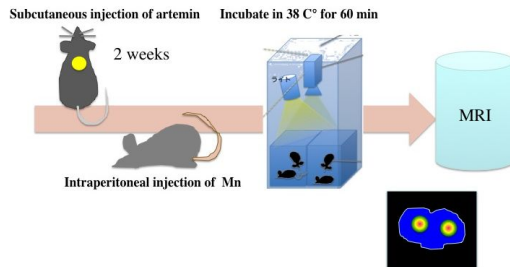
2) 脊髄後根神経節細胞における TRPV1 の発現: C57BL6 マウスの脊髄後根神経節細胞を初代培養し、10ng/ml のリコンビナントアーテミンで6時間刺激したのちの TRPV1 の発現を reverse-transcriptase PCR によって確認した。

3) TRPV1 とアロネシスの関係: TRPV1 のアンタゴニストが痛覚過敏に与える影響を確認する。TRPV1 のアンタゴニストである capsazepine (CPZ) 10mg/kg を上述した Hargreaves test の測定開始5分前に腹腔内投与し、温度痛覚過敏を定量した。

4) 皮膚でのアーテミンの蓄積が脳の活動性に与える影響

痒みは末梢神経を介して脳に投影される感覚 (sense) としての側面と、脳が痒みを感じさせる感情的 (emotion) としての側面がある。脳が皮膚に蓄積したアーテミンの影響が脳にどのように投影されるのかを確認する目的で、アーテミンを投与したマウスの脳を Manganese-Enhanced Magnetic Resonance Imaging: MEMRI によって確認する。こ

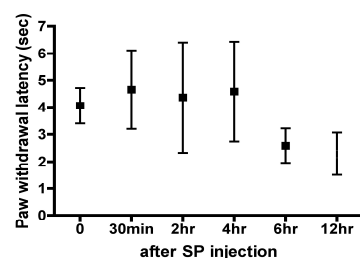
の方法では神経細胞が活性化するとトランスポーターを介して興奮した神経細胞に Ca が流入する作用を応用している。Ca の流入は一時的で流入した Ca は再び細胞外に戻る。マンガンは Ca と同様に興奮した神経細胞に取り込まれ、細胞内に7~10日間留まる。マンガンは MRI で造影される事から、マンガン投与を行ったマウスの脳を MRI にて撮像することで興奮した部位が造影される (下図1)。



4. 研究成果

アーテミンは温度痛覚過敏を誘導する

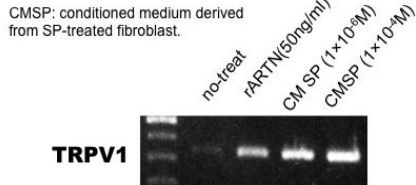
サブスタンス P を foot pad に投与したマウスでは Hargreaves test にて投与12時間後には温度痛覚過敏が生じている事を確認した (図1)。サブスタンス P 誘導性温度痛覚過敏のメカニズムに artemin が関与する可能性を検討するためにサブスタンス P と artemin 中和抗体を同時にマウス足底に投与したところ、温度痛覚過敏は生じなかった (図2)。artemin をマウス足底に投与した場合にも同様の温度痛覚過敏を生じたことから (図1) artemin は末梢で誘導される温度痛覚過敏に関与する分子であり、サブスタンス P によって誘導される温度痛覚過敏は artemin を介して生じている可能性が示唆された。



(図2: サブスタンス P 投与後に生じる熱痛覚過敏の)

アーテミンは脊髄後根神経節細胞から TRPV1 の発現を誘導する

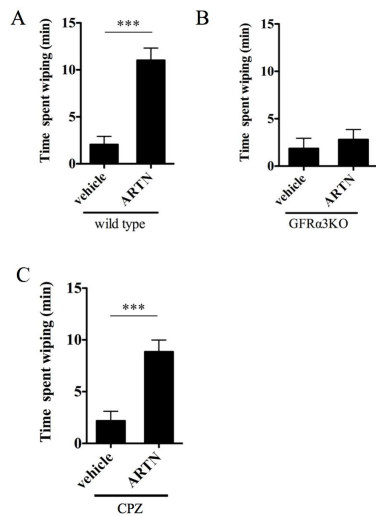
次に、このような末梢での温度痛覚過敏が温度受容体として機能する TRPV1 の影響を受けた結果ではないかと推察した。野生型マウスから得られた脊髄後根神経節細胞に invitro でアーテミンを処理すると TRPV1 mRNA の発現が増強することを確認した (図3)。



(図3: DRGのTRPV1発現。CMSP: substance P-treated conditioned medium)

アーテミンを皮膚に投与したマウスの暑熱環境下における行動の観察

次にマウスの後頸部皮膚にアーテミンを投与し、暑熱環境でどのような行動を示すか観察を行った。アーテミンを2回/週、2週間投与を行ったマウスを38°Cの環境に設置し、ビデオで行動の観察を行った。アーテミンを投与したマウスは全身を掻爬するような行動を示したが、溶媒投与群とGFRa3(artemin受容体)KOマウスは行動の変化を示さなかった。この行動はTRPV1阻害剤(capsazepine)では抑制されなかったことからTRPV1の直接的関与を明らかにできなかった(図4)。

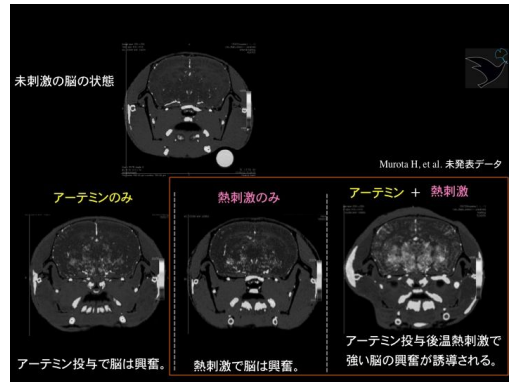


(図4: 暑熱環境でのマウスの異常行動。A: Artn投与された野生型マウス、B: GFRa3KOマウス C: TRPV1阻害剤であるcapsazepine投与群)

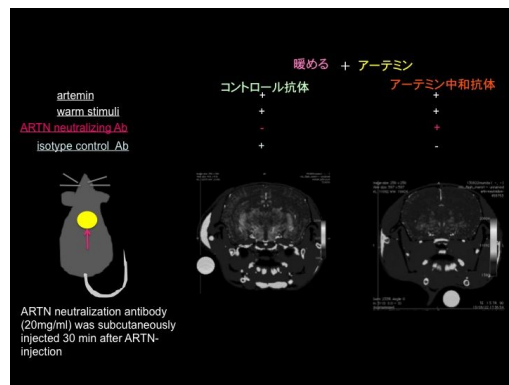
皮膚へのアーテミンが中枢神経に与える影響

アーテミン投与と単独で脳全体の興奮が観察され、暑熱刺激後はさらに強い脳の興奮が観察できた(図5)。特に皮質感覚野のパレル構造や海馬、視床下部の興奮、扁桃体の活性が顕著であった(図5)。この異常な脳の活性現象は皮膚からのアーテミン中和抗体投与によって抑制できることが判明した(図6)。治療薬の標的としての可能性に期待

ができる。



(図5: MEMRIの結果)



(図6: アーテミン中和抗体が脳の活性に与える影響)

5. 主な発表論文等

Murota H, Izumi M, et al. Artemin causes hypersensitivity to warm sensation, mimicking warmth-provoked pruritus in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2012, 130:671-682.

(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7件)

室田浩之 【アトピー性皮膚炎治療の最前線】痒み *Derma*. 2014.11(224);38-44

室田浩之 夏季のアトピー性皮膚炎悪化対策 *日本医事新報* 2014.09(4715);63

室田浩之 アトピー性皮膚炎悪化因子の検証 汗と温度に関する最近の知見 *西日本皮膚科* 2014.06;76(3);189-193

室田浩之 【最近のトピックス 2014 *Clinical Dermatology* 2014】皮膚疾患の病態 温まるとなぜかゆいのか? *臨床皮膚科* 2014.04;68(5);47-50

室田浩之 【アトピー性皮膚炎の病態と治療】アトピー性皮膚炎の悪化因子対策 *臨床免疫・アレルギー科* 60巻3号 Page302-308, .2013.

室田浩之 【小児アトピー性皮膚炎】 小児アトピー性皮膚炎の痒みの管理と指導 臨床免疫・アレルギー科 2012 ; 57 : 663-667 .

室田浩之 アトピー性皮膚炎における汗と温度の指導箋アップデート 日臨皮会誌 2012 ; 29 : 538-539

〔学会発表〕(計3件)

1, 第22回 国際痒みシンポジウム (東京) Artemin induces thermal hyperalgesia mimicking warmth provoked pruritus in atopic dermatitis. 平成24年10月6日

2 第37回日本研究皮膚科学会学術大会 (沖縄) Artemin induces thermal hypersensitivity mimicking warmth provoked itch in atopic dermatitis 平成24年12月6~9日

3. Murota H. Exploring the mechanism of warmth-provoked itch: Artemin causes systemic hypersensitivity to heat via sensitizing the brain. Japan Asia Oceania Forum 2014, 12/14

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

日本経済新聞など

http://www.nikkei.com/article/DGXNASDG1203S_U2A710C1CR0000/

6. 研究組織

(1)研究代表者 室田浩之

(HIROUUKI MUROTA)

大阪大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：90363499

(2)研究分担者 なし

()

研究者番号：

(3)連携研究者 なし

()

研究者番号：