

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 27 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19492

研究課題名(和文) アトピーが脊髄グリアを活性化して神経障害性疼痛を誘導する機構の解明と新規治療開発

研究課題名(英文) Allergic inflammation leads to neuropathic pain via glial cell activation

研究代表者

米川 智 (Yonekawa, Tomomi)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：40631586

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)：アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎、気管支喘息などのアトピー性疾患の患者さんの一部は手足のしびれ感、痛みを訴えることがあるが、その原因は明らかでない。私たちは、気管支喘息モデルマウスを作成し、そのマウスでも実際の患者さんと同様の痛みに対する過剰な反応(=アロディニア)が起こっていることを見出した。このマウスを解析すると、脊髄のグリア細胞という非神経細胞が活性化し、神経細胞の活性化を誘導してアロディニアを引き起こしていることがわかった。これらのグリア細胞はEDNRBという特殊な受容体を発現していたため、この受容体に対する選択的阻害薬をマウスに投与したところ、アロディニアを完全に抑制した。

研究成果の概要(英文)：We studied whether allergic/atopic inflammation affects the spinal nociceptive system. We found that mice with atopy had widespread activation of microglia and astroglia in the spinal cord than those without atopy, and displayed neuropathic pain. Microarray analysis of isolated microglia revealed marked upregulation of endothelin receptor type B (EDNRB) in atopic mice. EDNRB expression was enhanced in microglia and astroglia while endothelin-1, an EDNRB ligand, was increased in serum, lungs, and epidermis of atopic mice. The EDNRB antagonist BQ788 abolished glial activation and allodynia. We found increased serum endothelin-1 and activation of spinal microglia and astroglia with EDNRB upregulation in atopic patients with neuropathic pain. Therefore, allergic/atopic inflammation induces diffuse glial activation, influencing the nociceptive system via the EDNRB pathway.

研究分野：神経科学

キーワード：神経因性疼痛 ミクログリア アストログリア 気管支喘息 アトピー性皮膚炎

## 1. 研究開始当初の背景

私たちは、アレルギー素因(アトピー性皮膚炎、気管支喘息、アレルギー性鼻炎など)を持つ患者さんの一部で、アレルギー症状の悪化と同時に手足のしびれ感を訴える場合があることを日常臨床で経験し、これらの患者さんたちには共通して頸髄に炎症性病変を認めたことから、この疾患群を「アトピー性脊髄炎」と呼称し、報告した(Kira J, Yamasaki K, Kawano Y, Kobayashi T (1997) Acute myelitis associated with hyperIgEemia and atopic dermatitis. Journal of the neurological sciences 148:199-203.)。しかしながら、疾患自体の希少性や認知度の低さから症例の集積が進まず、病態についても末梢臓器におけるアレルギー炎症がなぜ中枢神経に炎症を惹起し神経症状を来すのか、長年にわたりそのメカニズムは不明であった。

アトピー性脊髄炎の患者の8割以上は神経障害性疼痛などの異常感覚を訴え、日常生活において大変な障害になっている。脊髄炎の原因もさることながらこの感覚障害の原因も明らかでない。

## 2. 研究の目的

本研究では、アトピー性脊髄炎の病態解明のため、気管支喘息及びアトピー性皮膚炎モデルマウスを作成し、同マウスにおける中枢神経系の病理学的解析及び、疼痛刺激テストによる異痛症(アロディニア)の有無精査、さらにそのメカニズムに基づいた治療法開発を目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 卵アルブミンによる感作

マウス気管支喘息を誘導するため、卵アルブミンを3週間、連日腹腔内投与し、最終週に4日連続で気管内吸入させることで気管支喘息モデルマウスを作成した。また、アトピー性皮膚炎作成のため、マウス背部を1cm四方で剃毛し、その部位に卵アルブミンを染み込ませたガーゼを貼付しアトピー性皮膚炎を作成した。

### (2) アレルギー素因マウスにおけるアロディニアの評価

異痛症(アロディニア)を評価するため、フォンレイフィラメントというプラスチック製の細い針でマウス足底を刺激し、マウスが逃避反応を示す確率(頻度)を刺激強度別に比較した。

### (3) 中枢神経系の評価

気管支喘息マウスの脊髄を免疫組織学的に解析し、感覚神経入力がある脊髄後角ニューロンやグリア細胞の生化学的解析を行った。また、同マウスからグリア細胞を抽出し、

発現遺伝子のRNAアレイアッセイを行うことで、遺伝子発現パターンを比較検討した。さらに、この遺伝子発現解析により得られた結果から、標的蛋白を同定し、阻害薬投与によるアロディニア治療を試みた。

## 4. 研究成果

(1) 気管支喘息モデルとアトピー性皮膚炎モデルはともに誘導に成功した(図1)。

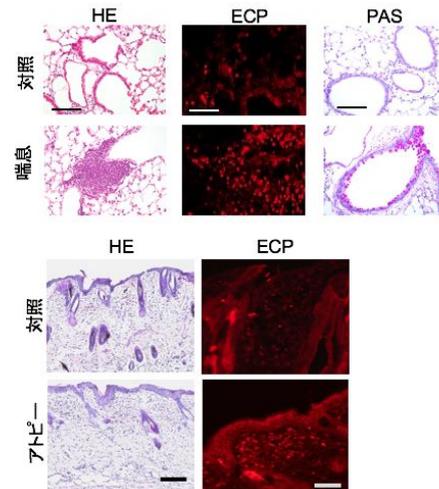


図1：気管支喘息(上)及びアトピー性皮膚炎(下)の誘導。

(2) 気管支喘息モデルマウスでは、無処置マウスと比較し著明なアロディニアを呈していた(図2)。

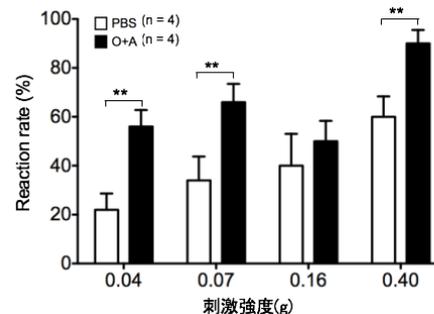


図2：気管支喘息(黒)マウスにおけるアロディニア。

(3) アレルギー素因モデルマウスの脊髄では、顕著なミクログリアやアストログリアの活性化を認めた(図3)。

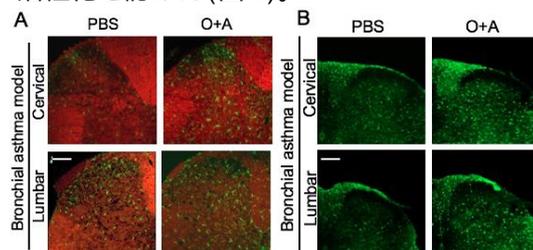


図3：気管支喘息マウス脊髄におけるミクログリア(A)及びアストログリア(B)の活性化。

ミクログリアはアレルギー疾患のそれぞれの病変部位(気管支喘息：気管支、アトピー性皮膚炎：背部)の感覚入力があるレベルの脊髄(頸髄及び胸髄)で強かったが、アストログリアの活性化は脊髄の部位による違いはなかった。ミクログリアの発現遺伝子解析により、エンドセリン受容体(EDNRB)遺伝子発現が亢進していた。これを踏まえ、同マウスの脊髄を免疫学的に解析したところ、EDNRBの発現はミクログリアのみならずアストログリアにも見られることが判明した(図4)。

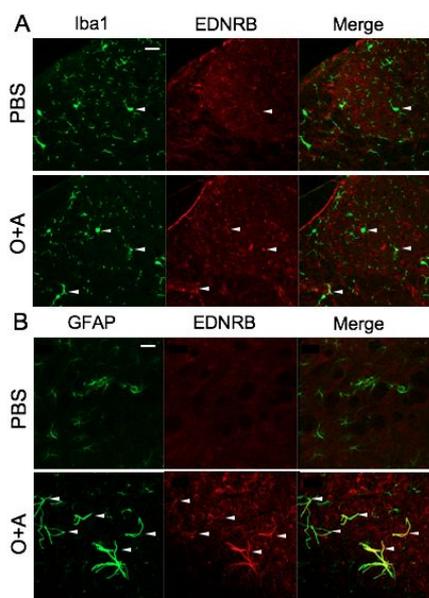


図4：気管支喘息マウス脊髄におけるミクログリア(A)及びアストログリア(B)のEDNRB発現。

このことから、EDNRBを介したシグナル伝達がアロディニアの発症に関与している可能性が示唆された。同マウスに、EDNRBの選択的拮抗薬であるBQ-788を予防投与したところ、アロディニアの発症を完全に抑制した(図5)。

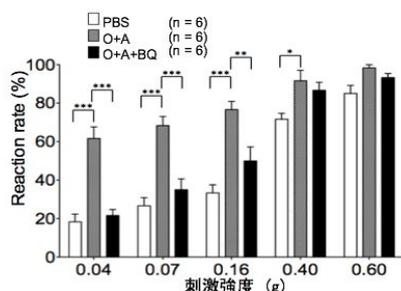


図5：気管支喘息で見られたアロディニア(灰)はEDNRB拮抗薬BQ788により完全に抑制された(黒)。

これらの結果から、アトピー素因モデルマウスでは脊髄グリア細胞の活性化が起こっており、このグリア細胞活性化がアロディニ

アの発症に重要であることが世界ではじめて明らかとなった。

#### 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1件)

Yamasaki R, Fujii T, Wang B, Masaki K, Kido MA, Yoshida M, Matsushita T, Kira JI. Allergic Inflammation Leads to Neuropathic Pain via Glial Cell Activation. *J Neurosci*. 2016 Nov 23;36(47):11929-11945. PubMed PMID: 27881779.

〔学会発表〕(計5件)

山崎 亮, 藤井 敬之, 斎藤 万有, 方 梅, 飯沼 今日子, 王 冰, 城戸 瑞穂 吉良 潤二: 末梢のアレルギー素因に伴う中枢神経グリア細胞の活性化と神経因性疼痛 第16回 痛み学会 2017.2.20 福岡.

Takayuki Fujii, Ryo Yamasaki, Bing Wang, Mei Fang, Katsuhisa Masak, Mizuho A Kido, Mari Yoshida, Jun-ichi Kira Peripheral allergy/atopy induces glial activation leading to allodynia and exacerbation of autoimmune central nervous system inflammation via endothelin-1 ANA 2015 2015.9.24 Chicago.

山崎 亮, 藤井 敬之, 方 梅, 王 冰, 城戸 瑞穂, 吉良 潤二 "アレルギー素因マウスにおける中枢グリア炎症と異痛症(アロディニア)" 第27回日本神経免疫学会学術集会 2015.9.15~16 岐阜、長良川国際会議場.

Takayuki Fujii, Ryo Yamasaki, Bing Wang, Mei Fang, Mizuho Kido, Katsuhisa Masaki, Jun-ichi Kira: Peripheral atopic diathesis induces allodynia and glial activation in the spinal cord. *日本アレルギー学会* 2015.5.26~28 東京.

Ryo Yamasaki, Bing Wang, Mei Fang, Takayuki Fujii, Mizuho Kido, Jun-ichi Kira A mouse model of atopic diathesis displaying tactile allodynia with glial inflammation in the spinal cord "XII European Meeting on Glial Cells in Health and Disease Bilbao 2015.6.15~18 España.

〔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：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

米川 智 (YONEKAWA, Tomomi)  
九州大学・大学院医学研究院神経内科学・  
特任研究員  
研究者番号：40631586

(2) 研究分担者

吉良 潤一 (KIRA, Jun-ichi)  
九州大学・大学院医学研究院神経内科学・  
教授  
研究者番号：40183305

山崎 亮 (YAMASAKI, Ryo)

九州大学・大学院医学研究院神経内科学・  
准教授  
研究者番号：10467946

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：

(4) 研究協力者

( )