

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 29 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K08992

研究課題名(和文) 脊髄におけるGPR83および他の痒み受容体との機能的関連性

研究課題名(英文) Functional association with GPR83 and other itch receptors in the spinal cord

研究代表者

中山 留美(直野留美)(Nakayama, Rumi)

東北医科薬科大学・医学部・助教

研究者番号：00609034

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：痒みは痛みに類似する不快な感覚であり、脳において痒みと痛みは区別されることで、これらの感覚の違いを認識することができる。これまでの研究により、痛みと痒みの伝達に寄与する分子に着目し、これらの伝達経路の違いを明らかにする。具体的には、脊髄に発現する分子の中から、痒み伝達に寄与する受容体のノックダウン動物を用いた痒みと痛み行動において、痒み行動の有意な減少を認めた。さらに、痛み行動に対しては、野生型と同程度であることが示唆された。さらに、形態学的な解析や分子生物学的な解析を併せて進めることで、この受容体は痒みの伝達に役割を果たすと示唆される結果を得ている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、新たな痒みの伝達経路の解明を目指すことを目的として進めてきた。これまでの研究により、脊髄における痒みの伝達機構の解明が期待できる結果を得てきている。この研究により、新たな痒み治療薬の開発へと進むことができることで、難治で慢性の痒みの患者に対して有益な薬の提供が可能となることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：Itch is unpleasant sensation similar to pain, and it's possible to recognize the difference between these sensation by distinguish itch and pain in the brain. In the previous studies, we focused on the molecules that contribute to the transmission of pain and itch, and clarified the differences in these transmission pathways. Specifically, among the molecule expressed in the spinal cord, we focused the receptor, and using knockdown animals of the receptor in the spinal cord were estimated. These results indicated that that of animals were reduced itch behavior compare with non-treated animals. On the other hand, pain-related behavior of knock down animals was hardly changed compare with non-treated animals. These results indicated that the receptor may contribute to itch processing in the spinal cord.

研究分野：神経科学

キーワード：痒み 受容体 神経ペプチド

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

神経系での痒みの基礎研究は、2007年にGRPR(ガストリン分泌ペプチド受容体)が痒み受容体として脊髄で報告されたことを端とする、神経科学の新しい研究分野である(Sun et. al., *Nature* 2007)。しかしGRPRノックアウトマウスはヒスタミン誘発の痒みを抑制できないことから、全ての痒み伝達に寄与する受容体とは考えられていない。さらにGRPRと関連性が報告されたNprA(ナトリウム利尿チャネル受容体)の解析は進んでおらず、神経系での痒み伝達機構は未知の領域が多い。従ってこれらが要因となり、中枢神経系で有効な痒み治療薬の開発は進んでいないと考えられている。

2. 研究の目的

申請者は脊髄におけるオーファン受容体GPR83が新たな痒み受容体であることを報告している(Rumi Nakayama et al., Patent No. 5688718)。しかし、他の痒み受容体との機能的な関連性を含んだ解析が進んでおらず、痒み伝達経路の全容は明らかにできていない。

そこで本研究は、脊髄での他の痒み受容体との発現様式の比較や、GPR83ノックアウトマウスの脊髄への遺伝子導入によるGPR83を介した痒み行動への影響、GPR83安定発現株による拮抗薬の同定を進めることで、脊髄における痒み伝達機構の詳細を明らかにしながらGPR83を標的とした新たな痒み治療薬の開発に向けた基礎的研究へと展開していく。さらにこの成果を治療法が確立されていない難治性の痒みに対する治療薬の開発に貢献したい。

3. 研究の方法

(1)行動学的な解析

GPR83ノックダウン動物に対する行動学的な解析を行った。具体的には、脊髄にGPR83のsiRNAを投与して脊髄特異的なノックダウン動物を作製した。この動物に対して痛み行動や痒み行動を誘発する物質の皮下投与による行動を評価した。また、対照動物として、ミスマッチsiRNA(Control)および痛み受容体であるサブスタンスP受容体(neurokinin-1受容体; NK1R)のsiRNAの処理した個体を用いた。

(2)形態学的な解析

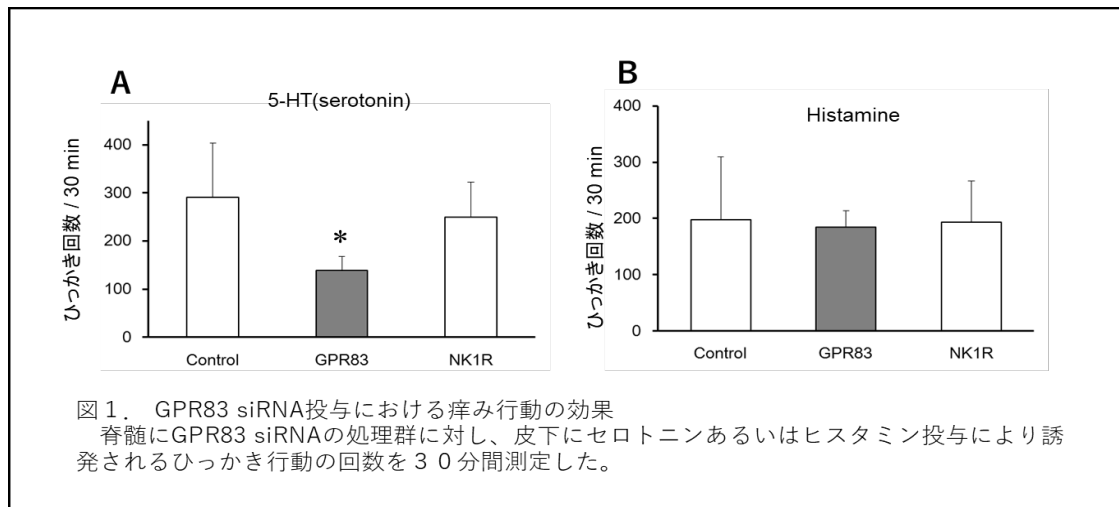
GPR83の形態学的な解析を進めるために、GPR83の抗体を用いた免疫組織化学染色を行った。具体的には、マウス脊髄より作製した標本を用いて、GPR83および痛み受容体であるサブスタンスP受容体の免疫組織化学染色を行った。

(3)分子生物学的な解析

GPR83のリガンドを探索するために、GPR83発現細胞に対して、タキキニンペプチドの添加による細胞内Ca⁺⁺の変動を指標として、実験を行った。その結果、GPR83に特異的に結合するペプチドを同定できた。

4. 研究成果

行動学的、形態学的および分子生物学的な指標を用いた実験により、GPR83は痒みの伝達に寄与する分子であることが示唆された。さらに、これら動物に対し5-HT(Serotonin;セロトニン)やHistamine(ヒスタミン)の皮下投与で誘発する痒み行動を体表のひっかき回数を評価した(図1AおよびB)。その結果、セロトニン皮下投与における評価では、GPR83siRNA投与群において、Control群と比較して有意な痒み行動の抑制を示した(図1A.)。



また、この受容体の糖鎖修飾が一部欠損すると、リガンドとの結合様式に違いが確認された(国内特許出願 番号 2016-112686、「GRP83 の受容体機能を阻害する方法」)。このことより、GPR83 とこのリガンドとの結合には、糖鎖修飾部位の関与が示唆される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yu Miyahara, Hideki Funahashi, Rumi Naono-Nakayama, Ayaka Haruta-Tsukamoto, Toshikazu Nishimori, Yasushi Ishida	4. 巻 850
2. 論文標題 Role of serotonin and noradrenaline in the acute itch processing in mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Journal of Pharmacology	6. 最初と最後の頁 118-125
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.02.013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 石田 雄介、直野 - 中山 留美、太田 伸男	4. 巻 36
2. 論文標題 1日で結果を得る手軽な insitu hybridization 超微形態の確認の前に	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proc Clin Electron Microsc.	6. 最初と最後の頁 5-8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 K. Igawa, H. Funahashi, Y. Miyahara, R. Naono-Nakayama, H. Matsuo, S. Sakoda, T. Nishimori, Y. Ishida	4. 巻 79
2. 論文標題 Distribution of hemokinin-1 in the rat trigeminal ganglion and trigeminal sensory nuclear complex	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Archives of Oral Biology	6. 最初と最後の頁 62-69
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.03.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 H. Funahashi, Y. Miyahara, A. Haruta-Tsukamoto, T. Matsuo, R. Naono-Nakayama, K. Ebihara, T. Nishimori, Y. Ishida.	4. 巻 124
2. 論文標題 Pharmacological characteristics of hemokinin-1-derived peptides in rat pruriceptive processing.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Peptides	6. 最初と最後の頁 170232-170239
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1016/j.peptides.2019.170232	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Rumi Naono-Nakayama, Hideki Funahashi, Yu Miyahara, Yusuke Ishida, Toshikazu Nishimori, Keiju Kamijyo
2. 発表標題 Hemokinin-1 contribute to itch processing in the spinal cord
3. 学会等名 第41回 日本神経科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中山(直野) 留美、石田 雄介、船橋 英樹、宮原 2、高宮 考悟、西森 利數、上条 桂樹
2. 発表標題 サブスタンスP受容体に類似する受容体の脊髄における役割
3. 学会等名 第63回 東北・北海道連合支部 学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中山-直野 留美、船橋 英樹、宮原 裕、西森 利數
2. 発表標題 Hemokinin-1 (1-5) elicits the inhibitory effect on pruritic processing in the rat spinal cord
3. 学会等名 第95回 日本生理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 R. Nakayama-Naono, H. Funahashi, Y. Miyahara, T. Nishimori, K. Takamiya
2. 発表標題 New tachykinin receptor mediates pruriceptive processing in the spinal cord
3. 学会等名 第16回 国際疼痛学会（国際学会）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 中山-直野 留美、船橋 英樹、宮原 裕、石田 雄介、西森 利數、上条 桂樹
2. 発表標題 炎症性疼痛におけるヒト遺伝子由来ペプチドの抑制効果
3. 学会等名 第97回 日本生理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中山-直野 留美.
2. 発表標題 神経系における痒み受容体の役割 - 痒み治療薬および痒み診断薬としての可能性 - .
3. 学会等名 Bio Conference 20'
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 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、西森利數	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願 2016-112686	出願年 2016年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----