

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16260

研究課題名(和文) アストロサイトSTAT3の新規制御機構とその病態生理学的役割の解明

研究課題名(英文) A novel mechanism of astrocyte STAT3 activation and its pathophysiological role

研究代表者

白鳥 美穂(林)(Shiratori-Hayashi, Miho)

九州大学・薬学研究院・助教

研究者番号：20735641

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：脊髄アストロサイト選択的なIP3R1のノックダウンは、持続的なSTAT3活性化や慢性掻痒、アストロサイトのSTAT3依存性因子であるリポカリン-2(LCN2)の発現を抑制した。IL-6によるIP3R1依存的なアストロサイトのCa²⁺応答は長時間持続し、TRPCチャンネルを介したCa²⁺流入が関与することがわかった。脊髄のTRPCを薬理的に阻害すると、LCN2の発現と慢性的な痒みが抑制された。慢性掻痒モデルマウスでは、DRGでIL-6の発現が上昇しており、DRGニューロン選択的なIL-6のノックダウンは、LCN2の発現と慢性掻痒を抑制した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって従来のSTAT3活性化に寄与するシグナルとは異なるカルシウムシグナルとの関連が初めて明らかになったことで、慢性掻痒だけでなく、STAT3の長期的活性化が認められる様々な中枢神経疾患の病態メカニズムのさらなる理解に繋がった。さらに、アストロサイトのSTAT3の長期的活性化には、従来アストロサイトのカルシウムシグナルにおいて重要であると示唆されてきたIP3R2ではなく、IP3R1が選択的に寄与することがわかり、アストロサイトのカルシウムシグナルの新たな一面が明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Spinal astrocyte selective IP3R1 knockdown suppressed persistent STAT3 activation, chronic itch and expression of lipocalin-2 (LCN2), an astrocytic STAT3-dependent factor that is required for chronic itch. IL-6-induced IP3R1-dependent astrocytic Ca²⁺ responses were long-lasting and involved Ca²⁺ influx through the TRPC channel. Pharmacologic spinal TRPC inhibition attenuated LCN2 expression and chronic itch. IL-6 expression was upregulated in DRG neurons in a mouse model of chronic itch. DRG neuron-selective IL-6 knockdown also attenuated LCN2 expression and chronic itch.

研究分野：疼痛学

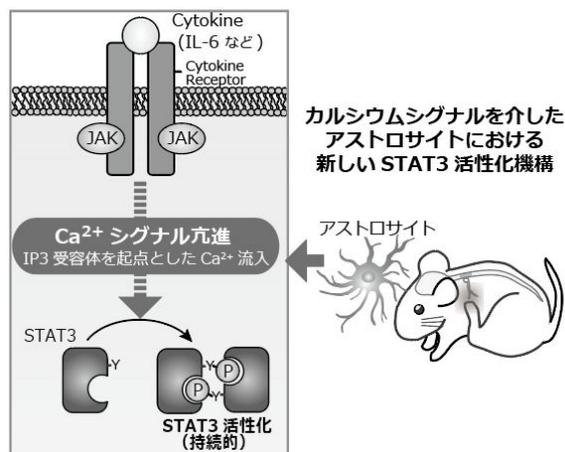
キーワード：痒み 慢性的な痒み アストロサイト 脊髄 STAT3 カルシウム

1. 研究開始当初の背景

アストロサイトは、中枢神経系に存在するグリア細胞の一種で、病態時に活性化することで形態・機能的に変化し、病態形成や進行・維持に関与する。従来は外傷や脳虚血、多発性硬化症、アルツハイマー病など神経傷害時に応答して活性化すると考えられてきた。しかしながら最近、代表者らは、アストロサイトが末梢組織の炎症にも応答して活性化し、病態の進行・維持に関わることをアトピー及び接触性皮膚炎を伴う慢性掻痒モデルマウスを用いて世界に先駆けて見出した。ここから、中枢・末梢問わず様々な傷害・炎症性疾患のメカニズム解明とそれに基づいた治療標的創出において、アストロサイト活性化機構解明は極めて重要な課題である。

代表者らを含め多くのグループの研究により、アストロサイト活性化には主に転写因子 **STAT3** が関わるということがわかっている。**STAT3** は、**IL-6** に代表されるサイトカイン依存的に活性化したチロシンキナーゼ **JAK2** によって直接的かつ即時的に活性化される。また、その活性化は一過性で持続時間は短い。しかし、多くの神経疾患及び末梢炎症においてアストロサイト **STAT3** は長期間にわたり持続的に活性化する。このことから、病態時のアストロサイト **STAT3** の持続的活性化を担う新たな分子メカニズムの存在が想定されるものの、詳細は全く分かっていなかった。

代表者らの事前検討により、初代培養アストロサイトにおいて、**IL-6** 処置により **STAT3** の長期的活性化が見られ、カルシウムシグナルに寄与する **IP3** 受容体 (**IP3R**) の薬理的阻害によって **STAT3** の長期的活性化が抑制された。ここから、カルシウムシグナルを介したアストロサイト **STAT3** の持続的活性化機構の存在が示唆された。



カルシウムシグナルを介したアストロサイトにおける新しい **STAT3** 活性化機構

アストロサイト

2. 研究の目的

本研究では、アストロサイト **STAT3** 活性化の新機構について、特にカルシウムシグナルとの関連に着目し、病態における役割とその詳細な分子機構を解明することを目的として検討を行った。

3. 研究の方法

本研究では、まず初代培養アストロサイトに **IL-6** を処置し、ウエスタンブロッティング法を用いて **STAT3** の活性化の指標であるリン酸化を確認するとともに、カルシウム動態関連タンパク質に対する阻害薬や **siRNA** を用いてリン酸化の変化を確かめた。また、初代培養アストロサイトや脊髄スライスにおいて、**IL-6** 処置後のアストロサイトのカルシウム応答を評価し、**siRNA** や拮抗薬で応答の変化を記録した。さらに、アストロサイトの長期的活性化が見られる慢性掻痒モデルマウスにおける **IL-6** の発現や、カルシウム動態関連分子の発現あるいは機能抑制による慢性的な痒み行動の変化やアストロサイト **STAT3** 依存的因子である **LCN2** の発現を調べた。

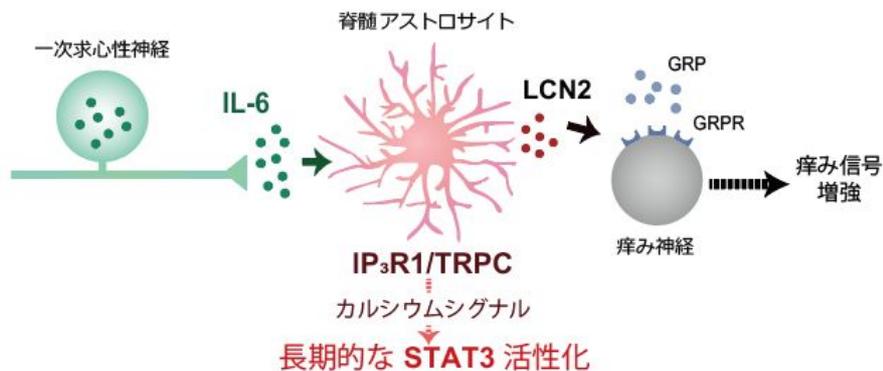
4. 研究成果

IL-6 による **STAT3** の長期的活性化は、**TRPC** チャンネルの阻害薬や **siRNA** によって抑制された。初代培養アストロサイト及び脊髄スライスに **IL-6** を処置すると、野生型のマウス由来のアストロサイトではカルシウム応答に違いは見られなかったが、**IP3R2** 欠損マウス由来のアストロサイトでは微弱で持続的なカルシウム応答が認められ、これは **IP3R** の阻害薬で抑制された。アストロサイトでは主に **IP3R1** と **IP3R2** が発現していることが **RT-PCR** 法で判明したため、この微弱で持続的なカルシウム応答は **IP3R1** 依存的であることが示唆される。また、**TRPC** の **siRNA** でもカルシウム応答は抑制された。

培養細胞や脊髄スライスで関与が示唆された **IP3R1** や **TRPC** の病態での役割を明らかにする

ために、慢性掻痒（接触性皮膚炎）モデルマウスの脊髄後角にアストロサイト選択的に **IP3R1** の発現を抑制できるアデノ随伴ウイルスベクターを投与したところ、慢性的な痒み行動及び **LCN2** の発現が抑制された。また、**TRPC** の阻害薬を脊髄腔内に投与しても慢性的な痒み行動及び **LCN2** の発現が抑制された。ここから、アストロサイトにおける **IP3R1/TRPC** を介したカルシウムシグナルは、**STAT3** の長期的活性化を引き起こし、慢性掻痒に寄与していることが示唆された。

また、**IL-6** の発現を脊髄後角及び脊髄後角に感覚情報を伝える一次求心性神経の細胞体が集積する **DRG** で確認したところ、**DRG** でのみ慢性掻痒時に **IL-6** の発現が増加していた。そこで、アデノ随伴ウイルスベクターを用いて、一次求心性神経選択的に **IL-6** の発現を抑制したところ、慢性的な痒み行動及び **LCN2** の発現が抑制された。



以上の結果から、アストロサイト **STAT3** の長期的活性化には **IP3R1/TRPC** 依存的なカルシウムシグナルが関わり、慢性掻痒に寄与することが示唆された。

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 Koga K, Yamagata R, Kohno K, Yamane T, Shiratori-Hayashi M, Kohro Y, Tozaki-Saitoh H, Tsuda M	4. 巻 145
2. 論文標題 Sensitization of spinal itch transmission neurons in a mouse model of chronic itch requires an astrocytic factor.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Allergy Clin Immunol	6. 最初と最後の頁 183-191
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jaci.2019.09.034.	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 Shiratori-Hayashi M, Yamaguchi C, Eguchi K, Kohno K, Shiraishi Y, Mikoshiba K, Inoue K, Nishida M, Tsuda M	4. 巻 147
2. 論文標題 Astrocytic STAT3 activation and chronic itch require IP3R1/TRPC-dependent Ca ²⁺ signals in mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Allergy Clin Immunol	6. 最初と最後の頁 1341-1353
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jaci.2020.06.039	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 Shiraishi Y*, Koga K*, Yamagata R, Hatada I, Shiratori-Hayashi M, Tsuda M (*equal contributors)	4. 巻 14
2. 論文標題 1A-adrenaline receptors in dorsal horn inhibitory neurons have an inhibitory role in the regulation of chloroquine-induced itch in mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mol Brain	6. 最初と最後の頁 55
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13041-021-00768-9	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 Koga K, Shiraishi Y, Yamagata R, Tozaki-Saitoh H, Shiratori-Hayashi M, Tsuda M	4. 巻 13
2. 論文標題 Intrinsic braking role of descending locus coeruleus noradrenergic neurons in acute and chronic itch in mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol Brain	6. 最初と最後の頁 144
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13041-020-00688-0	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9件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 白鳥 美穂
2. 発表標題 痒みの神経基盤とグリア細胞
3. 学会等名 順天堂医学研究所・順天堂かゆみ研究センター 第5回 学術シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Miho Shiratori-Hayashi, Chiharu Yamaguchi, Kazushi Eguchi, Honami Toyonaga, Makoto Tsuda
2. 発表標題 Mechanism underlying STAT3 activation in astrocytes under chronic itch conditions
3. 学会等名 48th NAITO CONFERENCE（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kensho Kanehisa, Keisuke Koga, Shiori Fujii, Miho Shiratori-Hayashi, Makoto Tsuda
2. 発表標題 Excitatory synaptic responses in GRPR+ dorsal horn neurons are increases in a mouse model of atopic dermatitis
3. 学会等名 48th NAITO CONFERENCE（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Keisuke Koga, Ryo Yamagata, Miho Shiratori-Hayashi, Makoto Tsuda
2. 発表標題 Sensitization of GRPR-expressing dorsal horn neurons under chronic itch condition requires astrocyte-derived signaling
3. 学会等名 48th NAITO CONFERENCE（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Keisuke Koga, Ryo Yamagata, Miho Shiratori-Hayashi, Makoto Tsuda
2. 発表標題 Activated astrocytes in the spinal dorsal horn facilitate itch transmission in a mouse model of contact dermatitis.
3. 学会等名 Neuro 2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 兼久 賢章、古賀 啓祐、白鳥-林 美穂、津田 誠
2. 発表標題 慢性掻痒モデルマウスでは脊髄後角GRPR陽性神経への興奮性シナプス入力が増大する
3. 学会等名 生体機能と創薬シンポジウム2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山方涼、古賀啓祐、白鳥美穂、津田誠
2. 発表標題 慢性掻痒時の活性化アストロサイトによる痒み増強メカニズム
3. 学会等名 第36回日本薬学会九州支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 白鳥 美穂
2. 発表標題 痒みの神経基盤とグリア細胞
3. 学会等名 第1回 アトピー性皮膚炎痒みコンセンサス会議（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 白鳥 美穂
2. 発表標題 慢性掻痒におけるアストロサイト活性化機構とその役割
3. 学会等名 第63回 日本神経化学学会大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関