

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 2 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460699

研究課題名(和文) 生理的感覚感度調節に寄与するサイトカインの発見と、その疼痛調節メカニズムの解明

研究課題名(英文) Discovery of cytokine contributing to physiological sensory sensitivity adjustment and elucidation of controlling mechanism of pain

研究代表者

平川 奈緒美 (Hirakawa, Naomi)

佐賀大学・医学部・准教授

研究者番号：20173221

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：IL-27は病的な状態においてだけでなく、生理的条件下においても感覚感度を調節していることを明らかにした。IL-27欠損マウスは未処置でも熱刺激や機械刺激に対して過敏な状態であり、これらのマウスにIL-27を投与すると過敏が改善した。また、IL-27欠損マウスの慢性痛モデル(神経障害性疼痛モデルおよび炎症性疼痛モデル)では、生来の痛覚過敏がさらに増強された。これらのことから、IL-27欠損マウスの痛覚過敏は、先述の慢性痛モデルにおける痛みの発症メカニズムとは異なる新しいメカニズムにより生じていると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We show evidences that constitutive existence of IL-27 controls threshold of sensation that induce aversive behavior in physiological and pathological conditions. Mice lacking IL-27 signaling possessed chronic pain-like hypersensitivity without any treatments. Reconstitution of IL-27 in these mice reversed hypersensitive threshold of aversive behavior. Furthermore, these mice showed additional hypersensitivity when subjected to commonly used chronic pain models suggesting that the mechanism of hypersensitivity induced by ablation of IL-27 signaling was different from ones underlying known chronic pain models.

研究分野：疼痛学

キーワード：IL-27 痛覚過敏 感覚感度の調節

1. 研究開始当初の背景

痛みには様々な免疫関連物質が関係しており、例えば、炎症性サイトカイン IL-1、IL-6、TNF-、IFN-、IL-17 は痛み行動を促進し、抗炎症性サイトカイン IL-10 は痛み行動を抑制することが知られている。新規サイトカイン IL-27 は、IL-10 の産生を促進し、IL-17 を産生するヘルパーT 細胞(Th17)の分化を抑制することで、強力な免疫抑制作用・抗炎症作用を発揮する。私たちは IL-27 の作用機序に着目し、IL-27 が痛みに関して抑制性に働くことを期待して研究を開始した。

2. 研究の目的

先行研究により、IL-27 欠損マウスは機械刺激、熱刺激などに対する感覚過敏を呈するが、熱過敏は IL-27 を補うことで改善することが分かった。また、IL-27 欠損マウスは、観察上は外見や発達・運動・繁殖に関する顕著な異常を認めなかった。これらのことより、IL-27 欠損マウスは感覚神経系選択的に異常が生じている可能性が示唆された。本研究は、IL-27 シグナルを介した病態メカニズムを解析し、新たな難治性疼痛治療薬開発の基盤を構築することを目的としている。

3. 研究の方法

IL-27 は EB13 サブユニットと p28 サブユニットから構成され、その受容体は WSX-1 と gp130 から成る。本研究では 3 系統の IL-27 欠損マウス、すなわち EB13、p28、WSX-1 をそれぞれ欠損したマウスを用いた。また、コントロールマウスとして C57BL/6 を用いた。

(1) IL-27 欠損マウスの障害が感覚特異的であることを確認するために、IL-27 欠損マウスの行動解析を行った。

IL-27 欠損マウスに運動機能の低下や情動不安があるかどうかを調べるために、オープンフィールドテスト、ロータロッドテストを行った。

IL-27 欠損マウスのすべてにおいて、どのような刺激に対して感覚過敏を呈するのかを調べるために、機械刺激、熱刺激、冷刺激、化学刺激を与え、反応閾値や反応潜時などを測定した。

p28 ノックアウトマウスの感覚過敏が可逆性であるかどうかを調べるために、リコンビナント(r)IL-27 を投与し、熱刺激に対する過敏反応が軽減するかどうかを調べた。

(2) IL-27 欠損マウスの感覚過敏の発生メカニズムを解明するために、以下の実験を行った。

IL-27 欠損マウスの慢性痛モデルにおいて、生来の痛覚過敏に変化が見られるかどうかを確認するために、一般的な慢性痛モデルである神経障害性疼痛モデルと炎症性疼痛モデルを作成し、機械刺激に対する反応閾値を継時的に測定した。

IL-27 欠損マウスの神経系に解剖学的・組織学的異常がないかを調べるために、神経系

全体のヘマトキシリン染色や、痛みに関わる神経核、脊髄グリア細胞の免疫組織化学法による染色を行った。

IL-27 受容体 WSX-1 が後根神経節やケラチノサイトに発現しているかどうかを、in Situ ハイブリダイゼーション法により調べた。

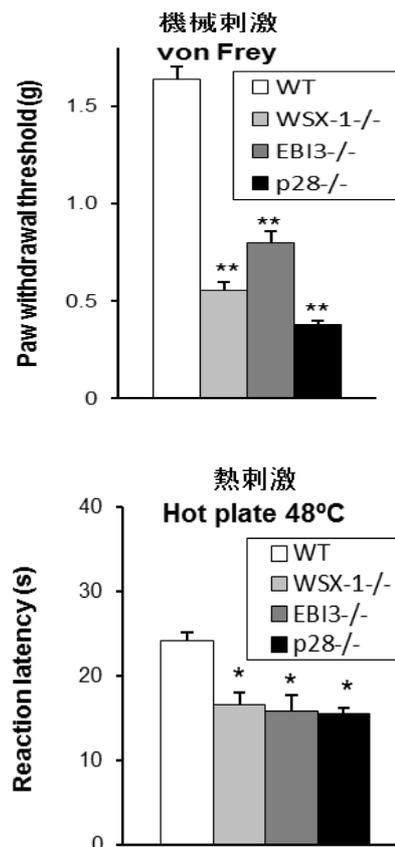
IL-27 欠損マウスの感覚応答性の増強が末梢レベルで行っているのかを調べるために、皮膚神経標本からの単一神経記録を行った。

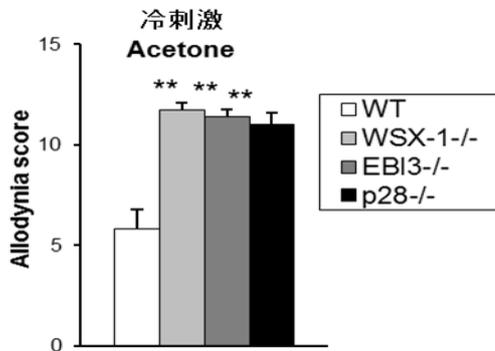
(3) 鎮痛薬開発への基盤を作るための第一歩として、健常者を対象に、血中 IL-27 濃度測定および Pain Vision を用いた電流知覚閾値測定を行い、これらの相関性を調べた。

4. 研究成果

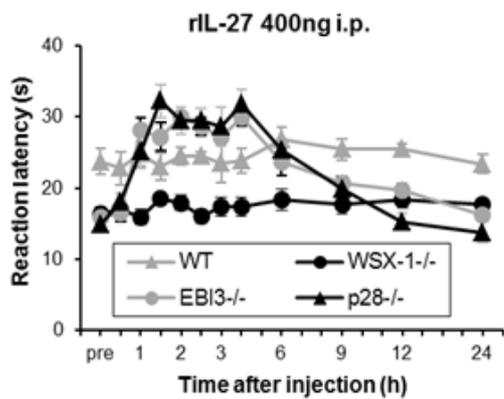
(1) 3 系統の IL-27 欠損マウスはコントロールマウスと比較し、オープンフィールドテストにおける歩行距離、フィールド中央部滞在時間、ロータロッドテストにおける落下までの時間に差はなかった。よって、IL-27 欠損マウスには運動機能の低下や情動不安はないと考えられた。

3 系統の IL-27 欠損マウスにおいて、機械刺激に対する反応閾値が低下しており、また、熱刺激や冷刺激に対する反応潜時および反応時間が延長していた。化学刺激(ホルマリン)に対しては WSX-1 ノックアウトマウスで反応時間が延長していた。

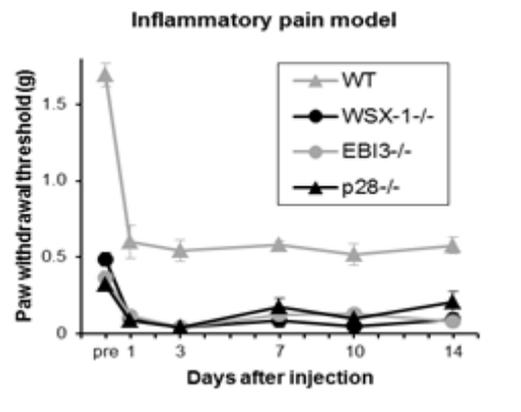
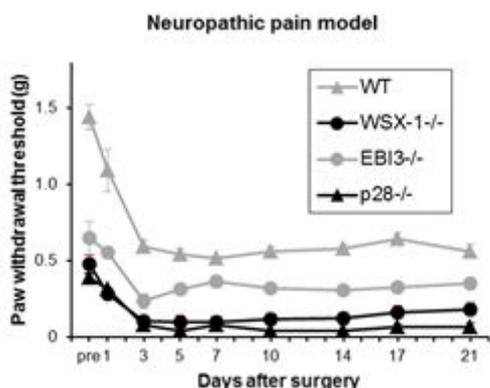




p28 ノックアウトマウスへの rIL-27 の腹腔内投与により、熱刺激に対する反応潜時がコントロールマウスと同程度まで回復した。EBI3 ノックアウトマウスでは熱刺激に対する反応潜時が回復し、WSX-1 ノックアウトマウスでは回復しないという既知の結果も考え合わせると、この作用は、IL-27 受容体を介していること、IL-27 欠損マウスの表現型は、発達過程の不可逆的变化ではないことが示唆された。



(2) 3系統の IL-27 欠損マウスの神経障害性疼痛モデルおよび炎症性疼痛モデルにおいて、機械刺激に対する反応閾値は術後2日目より低下し、コントロールマウスの慢性痛モデルと同様の变化を示した。このことから、IL-27 欠損マウスの感覚過敏の発生メカニズムは、神経障害性疼痛や炎症性疼痛の発生メカニズムとは異なることなるものであることが示唆された。



3系統の IL-27 欠損マウスの神経系、特に痛みに関わる神経核や脊髄グリア細胞に解剖学的・組織学的異常は認められなかった。in Situ ハイブリダイゼーション法により、コントロールマウスの後根神経節やケラチノサイトには WSX-1 が発現していないか、あるいは検出感度以下であることが分かった。

神経皮膚標本からの単一神経記録では、機械刺激に対する3系統の IL-27 欠損マウスの反応は、コントロールマウスと比べて大きかった。また、EBI3 ノックアウトマウスにおいて、rIL-27 投与後に行った単一神経記録では、機械刺激に対する反応が小さくなった。これらは(1)の実験結果を支持するものである。

(3) 健常者の安静時血中 IL-27 濃度と電流知覚閾値に相関性はなかった。

以上に示した研究結果から、IL-27 は生理的状況において痛みの感度を調節していること、IL-27 は痛み抑制効果があり、末梢組織中で痛みに関わる細胞に直接的に働いていることが示唆された。

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0件)

〔学会発表〕(計8件)

SASAGURI Tomoko、YASAKA Toshiharu、ISHIKAWA Asako、MURATA Yuzo、HARA Hiromitsu、YOSHIDA Hiroki、HIRAKAWA Naomi、Constitutive control of pain sensitivity in physiological and pathological condition by interleukin-27 in mice、IASP 16th world congress on pain、2016年9月28日、神奈川県横浜市

笹栗智子、八坂敏一、石川亜佐子、村田祐造、原博満、平川奈緒美、吉田裕樹、痛み行動における IL-27 の役割、第81回日本インターフェロンサイトカイン学会学術集会、2016年5月13日、長崎県長崎市

笹栗智子、八坂敏一、石川亜佐子、村田祐造、吉田裕樹、平川奈緒美、インターロイキン (IL) -27 ノックアウトマウスの痛み行動、日本麻酔科学会第 62 回学術集会、2015 年 5 月 29 日、兵庫県神戸市

SASAGURI Tomoko、YASAKA Toshiharu、ISHIKAWA Asako、MURATA Yuzo、HARA Hiromitsu、YOSHIDA Hiroki、HIRAKAWA Naomi、Pain Behavior of Interleukin-27 Knockout Mice、第 33 回九州ペインクリニック学会、2015 年 2 月 21 日、福岡県福岡市

YASAKA Toshiharu、Sasaguri Tomoko、MURATA Yuzo、HARA Hiromitsu、ISHIKAWA Asako、FUJITA Tsugumi、KUMAMOTO Eiichi、MASUKO Sadahiko、HIRAKAWA Naomi、YOSHIDA Hiroki、Enhanced pain behavior observed in mice lacking interleukin-27、Neuroscience2014、2014 年 11 月 16 日、ワシントン DC (アメリカ合衆国)

笹栗智子、八坂敏一、村田祐造、原博満、石川亜佐子、園畑素樹、吉田裕樹、平川奈緒美、インターロイキン-27 欠損による疼痛行動の変化、第 7 回日本運動器疼痛学会、2014 年 10 月 26 日、山口県宇部市

八坂敏一、笹栗智子、村田祐造、原博満、石川亜佐子、藤田亜美、熊本栄一、増子貞彦、平川奈緒美、吉田裕樹、インターロイキン-27 ノックアウトマウスの疼痛行動解析、第 36 回日本疼痛学会、2014 年 6 月 20 日、大阪府大阪市

笹栗智子、八坂敏一、村田祐造、原博満、吉田裕樹、平川奈緒美、痛みにおける抗炎症性サイトカイン IL-27 の役割、日本麻酔科学会第 61 回学術大会、2014 年 5 月 17 日、神奈川県横浜市

〔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

平川 奈緒美 (HIRAKAWA Naomi)
佐賀大医学部麻酔・蘇生学・准教授
研究者番号：20173221

(2) 研究分担者

吉田 裕樹 (YOSHIDA Hiroki)
佐賀大学医学部分子生命科学講座・教授
研究者番号：40260715

八坂 敏一 (YASAKA Toshiharu)
鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・准教授
研究者番号：20568365

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

笹栗 智子 (SASAGURI Tomoko)
村田 祐造 (MURATA Yuzo)
飯笹 さやか (IIZASA Sayaka)
石川 亜佐子 (ISHIKAWA Asako)
原 博満 (HARA Hiromitsu)