

「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」
平成 22 年度採択研究代表者

H26 年度
実績報告書

井上和秀

九州大学大学院薬学研究院
教授

脳内免疫担当細胞ミクログリアを主軸とする慢性難治性疼痛発症メカニズムの解明

§1. 研究実施体制

(1) 「井上」グループ

① 研究代表者: 井上 和秀 (九州大学大学院薬学研究院、教授)

② 研究項目

- ・細胞外ヌクレオチドシグナル系による脊髄後角ミクログリア均等分布の破綻と炎症の慢性化メカニズムの解明
- ・慢性炎症に連動したニューロン機能と痛覚伝達系の変調メカニズムの解明
- ・3次元ゲル培養系を用いたミクログリアおよびアストロサイトの動態解析
- ・転写調節因子を介した炎症性サイトカイン産生能活性化メカニズムの解析と神経障害性疼痛
- ・食食刺激によるミクログリアの機能変化の解析

(2) 「木山」グループ

① 主たる共同研究者: 木山 博資 (名古屋大学大学院医学研究科、教授)

② 研究項目

- ・神経障害疼痛モデルでの炎症・免疫系メディエーターの発現プロファイリング

(3) 「中西」グループ

① 主たる共同研究者: 中西 博 (九州大学大学院歯学研究院、教授)

② 研究項目

- ・マルチニューロン電気生理的活動と二光子励起レーザー顕微鏡によるミクログリアのイメージング解析を同時に行う新たな 3D 解析システムの開発と応用
- ・T 細胞活性化制御による神経障害性疼痛慢性化の抑制に関する実験

§2. 研究実施の概要

我々はこれまでに、末梢神経損傷後、脊髄内では活性化したミクログリア細胞が P2X4 受容体を過剰発現し、どこかから放出された ATP が P2X4 受容体を介して BDNF 放出を促し、それにより神経障害性疼痛が発症することを報告してきた。しかし、リガンドとなる細胞外 ATP がどの細胞種から放出されたのかはこの 12 年間の謎であった。今回我々は小胞型ヌクレオチドトランスポーター VNUT を切り口としてその難題に挑戦した。まず、神経障害性疼痛モデル動物の脊髄内において VNUT および細胞外 ATP 量自体が顕著に増加していることがわかった。また、VNUT の欠損マウスでは、脊髄での ATP 含量の増加がほぼ完全に消失し、神経損傷に起因する疼痛行動が野生型マウスに比べ顕著に抑制された。このことは、VNUT を介した脊髄内 ATP 量の増加が神経障害性疼痛発症に重要な役割を果たしていると考えられる。次に、種々の細胞種特異的 VNUT 欠損マウスを作製し、ATP の放出および疼痛発症に寄与する VNUT 発現細胞種の特異性を試みた。その結果、脊髄後角ニューロン特異的に VNUT を欠損させたマウスにおいて、VNUT 全身欠損マウスと同様に、神経損傷後の痛み行動および脊髄における細胞外 ATP 量の顕著な抑制が観察された。さらに、VNUT 全身欠損マウスに対して、脊髄後角ニューロン特異的に VNUT を遺伝子導入するレスキュー実験を行ったところ、脊髄内 ATP 量の増加が観察され、それに伴って激しい疼痛行動が誘発された。以上の結果から、脊髄後角ニューロンに発現した VNUT が、脊髄内における細胞外 ATP 量の増加および神経障害性疼痛発症に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

新たな炎症・免疫メディエーターによる慢性的病的疼痛発症の機序の解明をめざし、神経損傷により発現誘導されるミクログリア特異的発現受容体分子についてスクリーニングを行なった。本年度はスクリーニングで得られた受容体分子の DAPI12 について、ノックアウトマウスを入手し、その機能解明を行なった。その結果、①DAPI12 は神経損傷に応答してミクログリア特異的に発現していること。②DAPI12 欠損により神経障害後のミクログリア活性化期間が短くなること、③DAPI12 欠損により損傷神経細胞死を抑制できることが明らかになった。このことから、ミクログリアの DAPI12 を介するシグナルは神経損傷後のミクログリア活性化の慢性化や神経毒性の増悪に関係していることが示唆された。また、慢性的なストレス負荷による慢性疲労症候群や線維筋痛症のモデル動物では病的な疼痛が生じていることを明らかにし、その原因は末梢の炎症や神経損傷ではなく中枢のミクログリアにあることを明らかにした。

モルヒネは慢性投与することで鎮痛耐性ならびに疼痛過敏を惹起させることから臨床応用に限界がある。それを突破するために研究を行った。その結果、モルヒネの慢性投与による鎮痛耐性の形成に伴い、主に脊髄後角の第 I 層から II 層の GABA 性介在ニューロンにおけるカテプシン B 依存的なオートファジー亢進が生じ、シナプス前抑制機能の低下により興奮性シナプス機能が増大することでモルヒネ鎮痛耐性に関与する可能性が示唆された。また、モルヒネの慢性投与によりミクログリアの BK チャネルが特異的に活性化され、その特異的阻害剤でモルヒネ誘発疼痛過敏が有意に抑制された。さらに、PLA2 の活性化とそれに伴い合成されるアラキドン酸カスケードの種々の脂質が直接 BK チャネルを活性化させていることが明らかとなった。BK チャネルの機能を解析したところ、P2X4 受容体の細胞膜上への発現を調節していることが明らかとなった。これらから、P2X4 受容体の機能阻害剤によりモルヒネによる疼痛過敏を抑制する可能性が示唆された。