

89. 感覚制御の仕組みとその破綻による感覚異常メカニズム

津田 誠

九州大学 大学院薬学研究院 ライフイノベーション分野

Key words : 痒み, 脊髄後角, アストロサイト, Lipocalin 2

緒言

痒みは、掻きたいという欲望を起こさせる感覚である。生理学的には、引掻き行動を誘発させ、皮膚等に付着あるいは侵入する寄生虫などの外敵を除去するなどの生体防御機構の一つとされている。従来、痒みは単に弱い痛みとして認識され、その神経科学的研究は非常に遅れていた。しかし 2007 年、脊髄後角において GRP (gastrin-releasing peptide) とその受容体 GRPR が痒みを選択的に伝達することが報告された¹⁾。これらの成果は、痒み選択的な物質・神経回路の存在を明らかにしており、世界に大きな衝撃を与えた。それ以降、痒み刺激を受容・伝達する神経の特定が次々となされ、現在、痒みの神経メカニズムの解明に向けた世界的な研究潮流が生まれている^{2,3)}。その大きな進展の一方で、痒みの慢性化メカニズムは依然として不明のままである。アトピー性皮膚炎などの皮膚疾患の痒みは激しく、患者の生活の質を確実に低下させる⁴⁾。これまでの研究は皮膚を中心に進められ、治療も皮膚炎を抑制するものがほとんどである。しかし、慢性的な痒みの大きな問題は、過剰な引掻き行動の結果、皮膚炎が悪化し、それが更に強い痒みを生むという「痒みと掻破の悪循環」である。すなわち、痒みそのものを抑制し、この悪循環を断ち切ることが慢性的な痒みの治療に極めて重要である。しかし、痒みそのものに著効する治療薬はない。

我々は、神経系に視点を向けた痒みの研究から、アトピー性皮膚炎モデルマウスの脊髄後角において STAT3 (signal transducers and activator of transcription 3) 依存的に活性化するアストロサイト (中枢神経系のグリア細胞の一つ) が痒みの慢性化に重要な役割を担っていることを明らかにした⁵⁾。さらに、アストロサイト STAT3 が LCN2 (lipocalin 2) を産生放出し、それが GRP による痒みを増強することも突き止めた。この成果は、慢性的な痒みにおける全く新しいメカニズムであり、その解明へ向けた大きな一歩となった⁶⁾。

しかし、アストロサイトがどのようなメカニズムで LCN2 を産生放出するのかは不明である。アストロサイトはニューロンとは異なり活動電位を発生せず、細胞内カルシウムを利用してその活動性を制御している。アストロサイトにおける細胞内カルシウム制御系として、IP3 (inositol trisphosphate) 受容体 (IP3R) を介した小胞体からのカルシウム動員系と、細胞膜の TRP (transient receptor potential) チャネルを介した細胞外からのカルシウム流入経路が知られている。そこで本研究では、この両者に注目し、LCN2 の産生放出における関与を検討した。

方法および結果

1. 培養細胞での検討

マウス新生児脳から初代培養アストロサイトを調製し、IL-6 (interleukin-6) 刺激後の STAT3 のリン酸化をウエスタンブロットティング法、LCN2 の産生放出を ELISA 法により解析した。IL-6 刺激によって即時的で一過性の STAT3 のリン酸化と遅発性で持続的なリン酸化が認められ、LCN2 の産生放出は後者と時間的に相関した。遅発性の STAT3 リン酸化と LCN2 産生放出は、IP3R 阻害薬 2-aminoethoxydiphenylborane により抑制された。培養アストロサイトに発現している IP3R サブタイプ (IP3R1 と IP3R2) のうち、IP3R1 siRNA によるノックダウンによって STAT3 のリン酸化が抑制され、LCN2 産生放出も抑制された。また、TRP チャネルについても同様に検討し、TRP チャネルサブタイプ (以降 TRP-x と表記し、詳細は非公表とさせていただきます) がアストロサイトに発現し、その阻害薬および siRNA で IL-6 誘発の LCN2 産生放出が強く抑制された (図 1)。

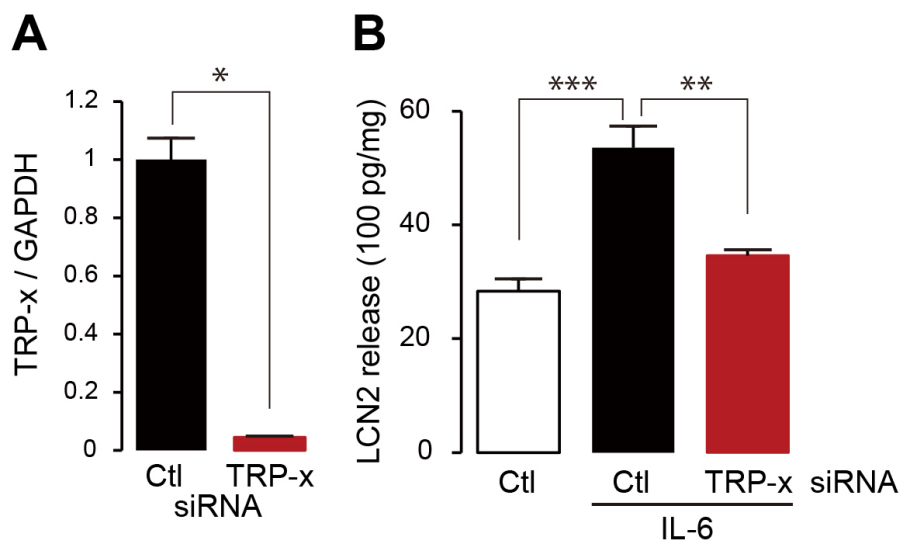


図1. 培養アストロサイトからの IL-6 誘発 LCN2 産生放出における TRP-x の関与

(A) 初代培養アストロサイトに TRP-x siRNA を処置することで TRP-x 発現レベルがコントロール (Ctl) に比べて著明に減少した (* $P < 0.05$, Mann-Whitney U test)。(B) IL-6 刺激後の TRP-x 産生放出の増加は TRP-x siRNA によるノックダウンにより有意に抑制した (** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, one-way ANOVA, post-hoc Tukey test)。データは平均 \pm 標準誤差。

2. モデル動物での検討

アストロサイトからの LCN2 産生への関与が大きい TRP-x の役割を慢性掻痒モデルにて検討した。C57BL/6 マウスの背部皮膚へ DCP (diphenylcyclopropanone) 溶液を塗布し、その7日後に再び同じ部位に1回目と同様の DCP 溶液を塗布することで慢性掻痒モデルマウスを作製した。マウスの頸部くも膜下腔内に予め留置したカテーテルを介して TRP-x チャネル阻害薬を投与した。その結果、同阻害薬により頸部 C3 - C5 における LCN2 発現が有意に抑制された。さらに、痒みの指標である後肢による引掻き行動を痒み測定装置マイクロアクトで自動計測し、DCP 処置による引掻き回数の増加が TRP-x 阻害薬の頸部くも膜下腔内で有意に減少した。

考 察

本研究では、アストロサイトに発現する IP3R1 および TRP チャネルサブタイプの機能を薬理的阻害あるいはサブタイプ選択的ノックダウンによって検討し、IL-6 刺激による STAT3 の活性化、それに伴う LCN2 の産生放出がそれらの処置によって共に抑制されることを明らかにした。したがって、両分子が LCN2 の産生放出メカニズムに重要な役割を担っていることが示唆された。さらに、TRP-x チャネル阻害薬は慢性的な痒み行動も抑制したことから、*in vivo* における関与も明らかにした。IL-6 刺激後に IP3R1 と TRP-x チャネルを活性化する細胞内メカニズムは依然不明であり、今後の新しい重要な課題となった。さらに、IP3R1 と TRP-x チャネルを介したカルシウムが協調あるいは独立して STAT3 活性化と LCN2 産生放出に関与するか否かも興味深い。本研究で明らかにした IP3R1 と TRP-x の役割を今後詳細に検討することで、痒みの慢性化メカニズムの理解がさらに進展すると期待される。

共同研究者

本研究の共同研究者は、九州大学大学院薬学研究院ライフィノベーション分野の白鳥美穂および山口千春である。本研究にご支援を賜りました上原記念生命科学財団に深謝申し上げます。

文 献

- 1) Sun YG, Chen ZF. A gastrin-releasing peptide receptor mediates the itch sensation in the spinal cord. *Nature*. 2007;448(7154):700-3. doi:10.1038/nature06029. PubMed PMID:17653196.
- 2) LaMotte RH, Dong X, Ringkamp M. Sensory neurons and circuits mediating itch. *Nat Rev Neurosci*. 2014;15(1):19-31. doi:10.1038/nrn3641. PubMed PMID:24356071; PubMed Central PMCID:PMC4096293.
- 3) Green D, Dong X. The cell biology of acute itch. *J Cell Biol*. 2016;213(2):155-61. doi:10.1083/jcb.201603042. PubMed PMID:27114499; PubMed Central PMCID:PMC4862869.
- 4) Miller G. Biomedicine. Grasping for clues to the biology of itch. *Science*. 2007;318(5848):188-9. doi: 10.1126/science.318.5848.188. PubMed PMID:17932266.
- 5) Shiratori-Hayashi M, Koga K, Tozaki-Saitoh H, Kohro Y, Toyonaga H, Yamaguchi C, et al. STAT3-dependent reactive astrogliosis in the spinal dorsal horn underlies chronic itch. *Nat Med*. 2015;21(8):927-31. doi:10.1038/nm.3912. PubMed PMID:26193341.
- 6) Green D, Dong X. Supporting itch: a new role for astrocytes in chronic itch. *Nat Med*. 2015;21(8):841-2. doi: 10.1038/nm.3921. PubMed PMID:26248264.