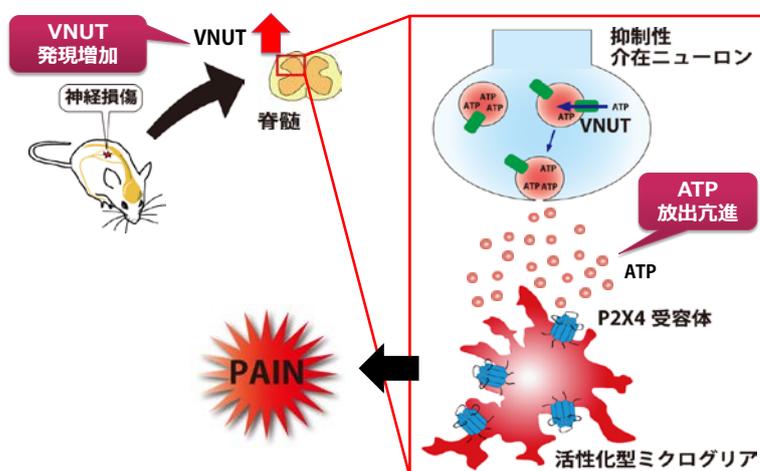


平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 研究開発領域：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
2. 研究開発課題名：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
3. 研究開発代表者： 井上和秀（国立大学法人九州大学 大学院薬学研究院 薬理学分野）
4. 研究開発の成果：下記の通り、それぞれの項目でミクログリアと疼痛に関し優れた成果があがった。

前年度までに、神経損傷モデルでは脊髄後角ニューロンに発現した小胞型ヌクレオチドトランスポーター（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を明らかにした。そこで今年度は、どの種類の脊髄後角ニューロンからどのようなメカニズムで ATP が放出され慢性疼痛発現に関与しているのかを明らかにするため、数種類の細胞種特異的 VNUT 欠損マウスを作製し、詳細な解析を行った。その結果、脊髄後角の抑制性ニューロン特異的に VNUT を欠損させたマウスにおいて、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。一方、興奮性ニューロン特異的 VNUT 欠損マウスでは対照群と差がみられなかった。一方、こうした神経損傷後の脊髄内 ATP 量の増加は、開口放出阻害薬によっても顕著に抑制された。以上の結果から、神経損傷後に脊髄後角の抑制性介在ニューロンに発現した VNUT が、開口放出を介して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（投稿中）。



また、同モデルにて炎症に応答してミクログリアで発現する分子を探索した結果、免疫系の ITAM に属する DAP12、さらに DAP12 とアソシエートするリガンド認識分子として TREM2, SiglecH が得られた。これまでに、DAP12 は運動神経損傷後のミクログリアの活性化を遷延(慢性)化していること、そのメカニズムとして、DAP12 を介するシグナルが炎症性サイトカインをはじめとした pro-inflammatory 分子の発現を促進していることを明らかにした。今年度は DAP12 を介するシグナルが脊髄後角においても機能し疼痛発症の遷延化（慢性化）に関わることを明らかにした。さらに、慢性疲労（ストレス）モデルでも活性化ミクログリアを介して疼痛が発症していることを明らかにし、メカニズムとしては特に固有感覚の過剰興奮が原因であることを示した。

モルヒネは強力な鎮痛薬であるが連続投与によりそれ自体で痛みを引き起こす。これまで不明であったそのメカニズムについて次のことが明らかになった。モルヒネの連日投与は μ オピオイド受容体-アラキドン酸産生を介して脊髄ミクログリアに特異的に発現する BK チャネルを活性化する。BK チャネル活性化による細胞内 K^+ の低下は細胞内への Ca^{2+} 流入を引き起こす。その結果、P2X4 受容体の活性化を介して神経伝達を促進する働きをもつタンパク因子（Brain-Derived Neurotrophic Factor, BDNF）の分泌が生じ、痛み神経伝達を増強すると考えられる（Hayashi et al., Nat Commun, 2016 in press）。また、痛み感受性に日内変動があることが知られている。これまでの検討で、ミクログリア突起の構造と伸縮速度に日内変動が見いだされ、それらがニューロン活動へ影響していると考えられた。本年度は、ATP 局所注入によって誘発されるミクログリア突起伸展に対する日内変化を解析した結果、ATP によって誘導されるミクログリアの突起進展反応は活動期の方が休止期と比較して有意に大きいことが明らかとなった。そして、この突起進展反応はカテプシン S 阻害剤により有意に抑制された。