

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 免疫アレルギー疾患等実用化研究事業 (免疫アレルギー疾患実用化研究分野)  
(英語) Practical Research Project for Allergic Diseases and Immunology  
(Research on Allergic Diseases and Immunology)

研究開発課題名： (日本語) 皮膚バリアに影響する一次求心性神経由来シグナル分子の特定  
(英語) Factors derived from primary afferent neurons affecting the skin barrier

研究開発担当者 (日本語) 大学院薬学研究院 教授 津田 誠  
所属 役職 氏名： (英語) Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Professor, Makoto Tsuda

実施期間： 平成28年9月31日 ~ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語) 一次求心性神経由来Xの役割に関する研究  
開発課題名： (英語) Research for the role of X derived from primary afferent neurons

研究開発分担者 (日本語) 大学院薬学研究院 教授 津田 誠  
所属 役職 氏名： (英語) Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Professor, Makoto Tsuda

分担研究 (日本語) 一次求心性神経由来Yの役割に関する研究  
開発課題名： (英語) Research for the role of Y derived from primary afferent neurons

研究開発分担者 (日本語) 大学院薬学研究院 助教 白鳥 美穂  
所属 役職 氏名： (英語) Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Assistant Professor,  
Miho Shiratori-Hayashi

分担研究 (日本語) 既承認医薬品ライブラリーを用いたスクリーニング  
開発課題名： (英語) Screening using a library of already approved drugs

研究開発分担者 (日本語) 大学院薬学研究院 助教 山下 智大  
所属 役職 氏名： (英語) Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Assistant Professor,  
Tomohiro Yamashita

## II. 成果の概要（総括研究報告）

### ・ 研究開発代表者による報告の場合

#### 和文

津田誠教授（九州大学 大学院薬学研究院）らの研究グループは、慢性搔痒モデル動物の一次求心性神経で発現増加するシグナル因子（特に X と Y）に注目し、皮膚バリアに対する直接および引掻き行動による間接的作用について研究する。本年度は、因子 X および Y の発現分布について慢性搔痒モデルの皮膚、一次求心性神経および脊髄後角において解析した。

アトピー性皮膚炎モデルの NC/Nga マウスの一次求心性神経における X の mRNA をリアルタイム PCR によって解析し、有意な発現増加が認められた。また、接触性皮膚炎モデルの diphenylcyclopropanone (DCP) 処置マウスの一次求心性神経においても X mRNA が増加することを明らかにした。さらに、X に対する特異的抗体を入手し、免疫組織染色法により X タンパク質発現を解析した結果、X 陽性の一次求心性神経数が有意に増加した。X 陽性神経は TRPV1（小型ニューロン）と NF200（大型ニューロン）と共存していた。一次求心性神経の脊髄後角側終末での X タンパク質レベルも増加していた。

NC/Nga マウスおよび DCP 処置マウスにおける因子 Y の mRNA をリアルタイム PCR 法で検討し、皮膚および一次求心性神経において有意な発現増加が認められた。しかし、脊髄後角では変化しなかった。さらに、Y の発現レベルを免疫組織染色法にて検討し、リアルタイム PCR 法の結果と同様の結果を得た。一方、免疫染色では脊髄後角において Y の発現増加が観察されたことから、一次求心性神経で発現増加した Y が脊髄後角内へ投射する神経終末へ輸送された結果であると考えられる。

#### 英文

The aim of this study is to identify factors (especially X and Y) derived from primary afferent neurons that affect the skin barrier. This study also investigates the change in the skin barrier by itch-evoked scratching that is modulated by these factors through their action on reactive astrocytes (that have been shown to enhance itch signaling). In this fiscal year, Makoto Tsuda (Professor, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University) and his colleagues investigated the profile of expression of the factors X and Y in primary afferent sensory neurons, skin and spinal dorsal horn using NC/Nga mice and diphenylcyclopropanone (DCP)-treated mice, models of atopic and contact dermatitis, respectively.

They examined the level of X mRNA in primary sensory neurons of NC/Nga mice by real-time PCR analysis and found a significant upregulation of X mRNA expression. A similar upregulation of X mRNA was also observed in DCP-treated mice. Furthermore, immunohistochemical analysis using a specific antibody for X demonstrated that the number of X-positive sensory neurons was increased in DCP-treated mice. X-positive sensory neurons were double-labelled by TRPV1 (a marker of small-sized sensory neurons) or NF200 (a marker of large-sized sensory neurons). In addition, they observed an increase in the X immunoreactivity in the spinal dorsal horn.

As for Y, they examined its mRNA level in both NC/Nga mice and DCP-treated mice by real-time PCR analysis and showed a significant increase in Y mRNA in primary sensory neurons and the skin. However, the level of Y mRNA in the spinal dorsal horn did not change. In immunohistochemistry using a Y antibody, a similar increase in Y immunoreactivity in primary sensory neurons was observed. In the spinal dorsal horn, they detected an increase in Y immunoreactivity in chronic itch models, suggesting that Y synthesized in the cell body of primary sensory neurons may be transported to their terminals in the spinal dorsal horn.

### III. 成果の外部への発表

#### (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 2件、国際誌 1件）

1. 津田誠, 白鳥美穂. 慢性的なかゆみの新しい神経系メカニズム. 生化学. 2016, 23, 1200-05.
2. 津田誠. 慢性炎症と痒み. 最新医学. 2016, 71, 114-18.
3. TSUDA M. Spinal dorsal horn astrocytes: new players in chronic itch. Allergology International. 2017, 66, 31-5.

#### (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Glial cells in the spinal dorsal horn: key players for chronic pain and itch, 口頭（特別講演）, 津田誠, 第21回グリア研究会, 2016/12/3, 国内.
2. MrgprA3 陽性一次求心性神経に発現する P2X3 受容体の活性化は GRP 受容体依存的な痒みを発症する, 口頭, 白鳥美穂, 長谷川あゆみ, 豊永穂奈美, 安東嗣修, 倉石泰, 井上和秀, Xinzhong Dong, 津田誠, 第90回日本薬理学会年会, 2017/3/16, 国内.
3. 頸髄後角の抑制性介在ニューロン活性化は接触性皮膚炎モデルにおける慢性搔痒を抑制する, ポスター, 兼久 賢章, 白鳥美穂, 古賀啓祐, 津田誠, 第90回日本薬理学会年会, 2017/3/16, 国内.
4. 慢性搔痒におけるアストロサイト STAT3 の活性化メカニズム, 口頭, 山口千春, 白鳥美穂, 豊永穂奈美, 津田誠, 第90回日本薬理学会年会, 2017/3/16, 国内.
5. アトピー性皮膚炎等の慢性搔痒に対する中枢神経系を標的にした創薬戦略, 口頭, 津田誠, 日本薬学会第137年会, 2017/3/26, 国内.

#### (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 慢性搔痒モデルマウス一次求心性神経での発現変動因子の解析, 津田誠, 難治性疾患実用化研究事業免疫アレルギー疾患等実用化研究事業（免疫アレルギー疾患実用化研究分野）2016年度合同成果報告会「革新への挑戦～疾患克服を目指して～」, 2017/2/10, 国内.

#### (4) 特許出願

記載事項なし