

痛覚過敏の新しい分子メカニズムを発見
～シヨウジョウバエの研究から～

研究成果のポイント

1. 痛覚神経の過敏化に関わる新しい分子経路を、キイロシヨウジョウバエを用いた研究により発見しました。
2. 発見した分子経路はヒトを含む哺乳類に存在していますが、それらが痛覚神経の過敏化に関わる発見は初めての報告となります。
3. 今回の発見は、神経因性疼痛の発症メカニズム解明、治療法開発につながる可能性を秘めています。

国立大学法人筑波大学 生命環境系 本庄賢(特任助教)および米国インディアナ大学 Dan Tracey (Associate Professor)の研究グループは、キイロシヨウジョウバエを利用した研究から、痛覚神経の過敏応答を引き起こす新しい分子経路としてHighwire^{※1)}とBMPシグナル^{※2)}経路を発見しました。

痛覚神経は、ヤケドなどの組織損傷の原因となる熱などの危険な刺激を感知するセンサーとして働く感覚細胞です。痛覚神経が危険な刺激を感知したという情報は脳に送られ、ヒトでは不快な痛みの原因となります。この痛覚神経の異常ないし過剰な活動は、キズが治った後も痛みだけが長期間持続してしまう神経因性疼痛発症の主要因の一つと考えられています。しかし、痛覚神経の異常、過剰な活動が引き起こされるメカニズムについては、よくわかっていませんでした。

本研究では、本庄特任助教らの研究グループが2016年に報告した痛覚神経の機能に関わる新規遺伝子の中から、Highwireの機能メカニズムに着目して解析を進めました。その結果、痛覚神経でのHighwireの機能異常は痛覚神経細胞内のBMPシグナルの過剰な活性化(亢進)を引き起こしており、この細胞内BMPシグナルの亢進が、痛覚神経の刺激への過剰反応、および個体レベルでの痛覚過敏を引き起こすことを突き止めました。Highwireと細胞内BMPシグナル経路が痛覚神経の機能調節に関わる証拠はこれまで得られておらず、今回の研究はこれらの分子経路が痛覚神経の過敏化に関わることを示す初めての報告となります。

HighwireとBMPシグナル経路はヒトを含む哺乳類にも存在しており、マウスを用いた先行研究では、痛覚神経の損傷後に細胞内BMPシグナル経路が活性化されることが報告されています。痛覚神経の損傷は神経因性疼痛発症の主要因の一つとして知られており、今回の研究で見つかった新たな分子経路は、神経因性疼痛発症に関係している可能性が考えられます。

本研究の成果は、日本時間2018年7月13日午前3時に「*PLoS Genetics*」でオンライン公開される予定です。

本研究は、日本学術振興会科学研究費補助金の支援をうけて行われました。

研究の背景

痛みという感覚には、組織を損傷する危険な刺激を感知するという大切な機能があります。しかし、過剰な痛みや異常な痛みは、心身の健康を害し社会生活の妨げとなることから、適切に治療する必要があります。ケガや炎症などの実態が存在しないにも関わらず痛みが持続してしまう慢性疼痛は、世界人口の20%以上が苦しんでいると推定されていますが、その原因についてはよくわかっておらず、治療困難な疾病として知られています。そうした慢性疼痛疾患は、激しい痛みを起こす刺激である侵害刺激のセンサーとして働く痛覚神経の過剰または異常な活動が主要な発症要因の一つと考えられることから、痛覚神経の機能を制御するメカニズムの遺伝子レベルでの解明が進められてきました。しかし、痛覚神経の活動制御に関わる分子メカニズムについては、まだ十分な理解が進んでいません。

本研究グループは、これまでに、遺伝子探索と遺伝子機能解析に適したモデル動物であるキロショウジョウバエを用いて、痛覚神経の機能において重要で、しかもヒトを含む哺乳類にも存在する新しい遺伝子を多数発見してきました(Honjo et al., Cell Reports, 2016)。しかし、発見したそれらの遺伝子がどのようなメカニズムで痛覚神経の機能を制御しているかについては不明なまま、今後の研究課題として残されていました。

研究内容と成果

2016年に報告した痛覚神経の機能に関わる遺伝子のなかで、Highwireと呼ばれる遺伝子の機能を阻害すると、ショウジョウバエ幼虫の熱への痛覚応答が過敏になることを発見していました。そこで今回の研究では、Highwireの機能阻害で痛覚過敏応答が引き起こされるメカニズムを探るための詳細な解析を行いました。様々な方法を用いて痛覚神経のHighwire機能を阻害したところ、Highwireの機能阻害は幼虫の痛覚過敏応答を引き起こす一方で、特に強い機能阻害では、別経路による痛覚鈍麻という正反対の結果も引き起こされることがわかりました。すなわち、Highwireは、痛覚神経の機能調節において、複数の異なる役割を担う重要な分子であることがわかりました。

Highwireによる痛覚神経の機能制御メカニズムをさらに調べるために、先行研究でHighwireと相互作用することが報告されている分子経路に注目して解析を進めました。すると、Highwireの機能異常を引き起こした痛覚神経のなかでは、BMPシグナル経路が過剰に活性化(亢進)していることがわかりました。この細胞内BMPシグナル経路の亢進は、痛覚神経におけるHighwire遺伝子の機能を回復させると正常に戻りました。このことから、Highwireは細胞内でBMPシグナル経路の活動抑制に関わっており、Highwireの機能阻害が結果として細胞内でのBMPシグナル経路の亢進につながるということがわかりました。

BMPシグナル経路は生物の発生過程で重要な役割を果たすことが知られていますが、神経活動制御への関与はこれまでほとんど知られていませんでした。そこで、痛覚神経内部でのBMPシグナル経路の亢進が、Highwireの機能阻害で見られる痛覚反応異常の直接的な原因であるかをさらに検討しました。Highwire遺伝子の機能異常を引き起こした痛覚神経でBMPシグナル経路の活動を抑制すると、幼虫の熱刺激への過敏応答が抑えられることがわかりました。さらに、痛覚神経で人為的にBMPシグナルを亢進させると、幼虫の熱刺激への過敏応答が引き起こされることがわかりました。これらの結果から、細胞内BMPシグナル経路の亢進がHighwire機能阻害によって生じる痛覚過敏応答の主原因であること、そして痛覚神経でのBMPシグナル経路の過剰亢進が、痛覚過敏の原因の十分条件であることがわかりました。

ここまでの研究結果から、細胞内BMPシグナル経路の過剰亢進が痛覚神経の刺激への過剰応答を引き起こすという、これまで知られていなかった痛覚過敏メカニズムの存在が示唆されました。そこで、特殊な方法で神経活動の観察を実施したところ、BMPシグナルが過剰亢進した痛覚神経は、実際に熱刺激へ過剰反応することが確かめられました(図2)。細胞内BMPシグナルの亢進は痛覚神経の形態変化も引き起こしましたが、この形態変化が起こらないように短時間だけBMPシグナルを亢進させた場合も、幼虫の痛覚過敏は生じることがわかりました。従って、痛

覚神経での細胞内BMPシグナルの亢進は、痛覚神経の刺激への過剰応答を引き起こし、幼虫の個体レベルでの痛覚過敏反応の原因となることがわかりました。

今後の展開

マウスおよびショウジョウバエの先行研究によって、Highwire と細胞内 BMP シグナル経路はどちらも神経の損傷に反応して発現量や活性が変化することが知られています。特に細胞内 BMP シグナル経路は、マウスの痛覚神経損傷後に活性化することが報告されています。痛覚神経の損傷は慢性疼痛疾患の一種である神経因性疼痛の発症要因の一つと考えられており、今回の研究で明らかになった BMP シグナル亢進による痛覚神経の過敏化プロセスは、神経因性疼痛の発症に関わっている可能性が考えられます。

今回の研究では、Highwire が細胞内 BMP シグナル経路の抑制に関わっていることがわかりましたが、Highwire が直接的に BMP シグナル経路の構成因子と相互作用するのかどうかといった、具体的なメカニズムについてはわかっておらず、今後の研究課題として残っています。また、BMP シグナル経路はその下流で多数の遺伝子の発現調節を行っています。従って、BMP シグナル経路の標的となる遺伝子の中から、痛覚神経の活動制御に関わる遺伝子をさらに発見できる可能性が高いと考えられます。

参考図

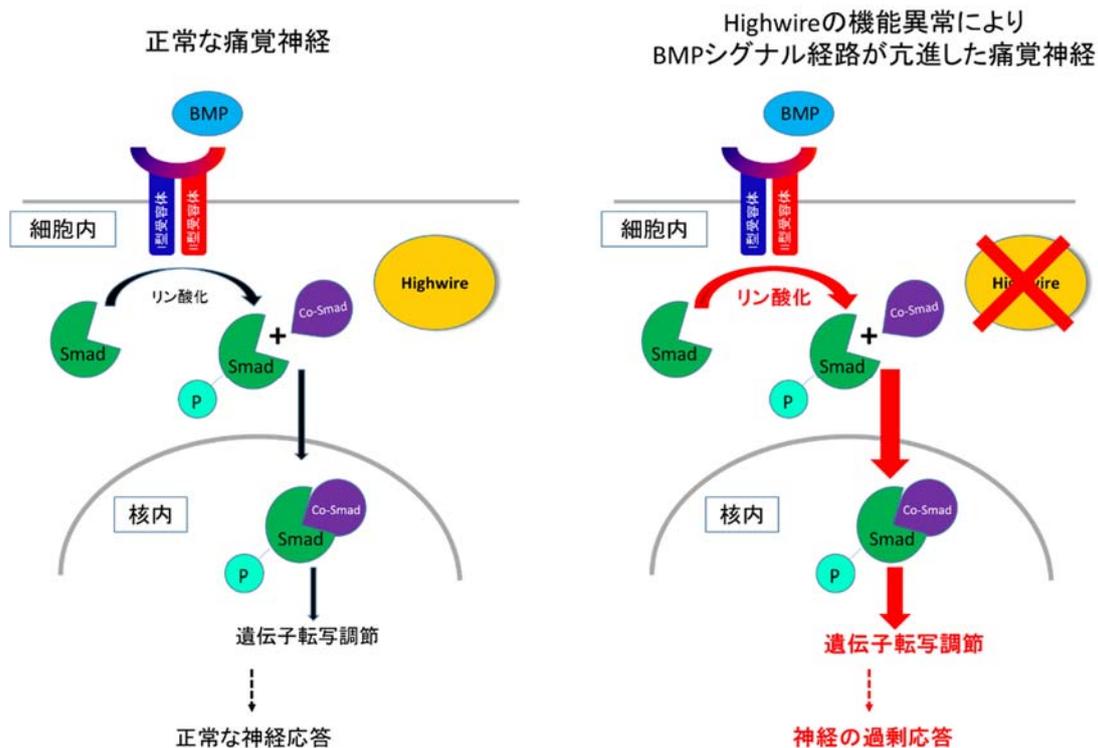


図 1. BMP シグナル経路と本研究の結果の模式図

左図：細胞内 BMP シグナル経路の活性化は、細胞外で BMP リガンド結合した BMP 受容体複合体により、Smad タンパク質がリン酸化されることで起こる。リン酸化された Smad は co-Smad と呼ばれる共役型 Smad と結合し、核内に移行して様々な遺伝子の転写調節を行う。Highwire は細胞内で機能する E3 ユビキチンリガーゼである。右図：本研究の結果から、痛覚神経で Highwire 機能を阻害すると細胞内 BMP シグナル経路が過剰に活性化され、細胞内 BMP シグナル経路の過剰亢進が、痛覚神経の刺激に対する過剰応答と個体レベルでの痛覚過敏を引き起こすことがわかった。

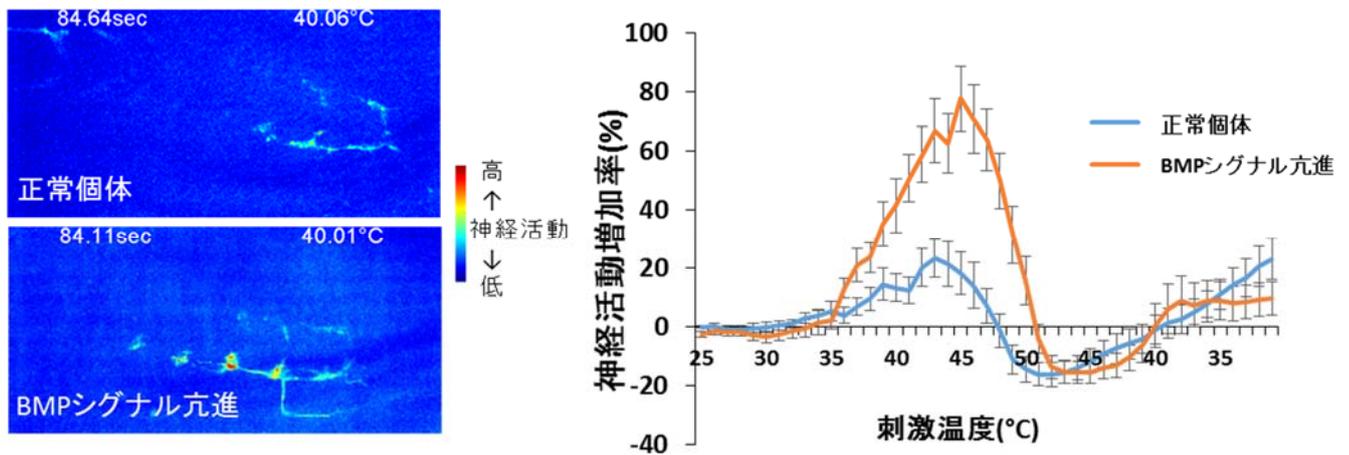


図2. カルシウムイメージング^{注3)}による痛覚神経活動の観察

左図：正常な痛覚神経（正常個体）と、BMP シグナルを亢進させた痛覚神経（BMP シグナル亢進）の熱刺激に対する反応の様子を中枢神経系側で観察したもの。同じ 40°C 前後の刺激に対し、BMP シグナルを亢進させた痛覚神経ではより強い反応（赤や黄色で示されている部分）が観察される。右図：各温度刺激に対する痛覚神経の活動を定量したもので、BMP シグナルを亢進させた痛覚神経は 35°C を超える温度刺激に対して過剰な応答を示した。

用語解説

注1) Highwire 遺伝子

Highwire はユビキチンという小型タンパク質を介したタンパク質分解系(ユビキチンプロテアソーム系)に関わる酵素をコードする遺伝子。複合体を形成し、複数のタンパク質を分解標的に持つと考えられている。

注2) BMP シグナル

骨の形成に関わることから命名された BMP(Bone Morphogenetic Protein)によるシグナル伝達。BMP と、その受容体、そして細胞内シグナル伝達を担う Smad タンパク質が主要な構成要素であり、細胞内での BMP シグナルの活性化は、様々な遺伝子の機能変化を引き起こす(図1)。当初は骨形成因子として発見されたが、その後の研究から、動物の初期発生において骨以外の様々な組織の形成過程で重要な働きをしていることがわかってきた。BMP シグナル伝達に関わるタンパク質は骨を持たないショウジョウバエにも共通して存在しており、やはり発生において様々な組織の形成過程で重要な機能を持つことがわかっている。

注3) カルシウムイメージング

カルシウムイオン存在下で蛍光強度が変化するカルシウムイオンセンサーを用いて、主に細胞内のカルシウムイオン濃度変化を観察する実験法。神経細胞が興奮すると細胞内にカルシウムイオンが流入することから、カルシウムイメージングにより神経細胞の興奮を可視化することができる。ショウジョウバエにおいては、遺伝子組換え技術を利用し、目的の神経細胞にタンパク質性のカルシウムセンサーを発現させることで、多くの神経細胞の中から目的の細胞の活動のみを観察することができる。

参考文献

Honjo et al., (2016) Nociceptor-enriched genes required for normal thermal nociception. *Cell Reports*, 16(2):295-303.

掲載論文

【題名】 BMP signaling downstream of the Highwire E3 ligase sensitizes nociceptors
(Highwire E3 リガーゼ下流の BMP シグナルが痛覚神経の過敏化を引き起こす)

【著者名】 Ken Honjo and W. Daniel Tracey

【掲載誌】 *PLoS Genetics*

doi.org/10.1371/journal.pgen.1007464

問合わせ先

氏名 本庄 賢 (ほんじょう けん)

筑波大学 生命環境系 特任助教

〒305-8572 茨城県つくば市天王台 1-1-1