

長寿医療研究開発費 2021年度 総括研究報告

ショウジョウバエモデルによる下行性侵害受容制御機構の研究（21-47）

主任研究者 本庄 賢 国立長寿医療研究センター・認知症先進医療開発センター長室
(研究員)

研究要旨

健康長寿社会を実現していく上で痛みの問題解決は喫緊の課題である。これまでに脳から脊髄へのトップダウン入力により痛覚シグナルを調節する下行性侵害受容制御系の機能が慢性疼痛患者や高齢者における痛みの慢性化に関わる可能性が指摘されてきており、疼痛疾患の原因究明と治療法開発に向けて注目されている。しかし、これまで痛覚研究に主に用いられてきたげっ歯類などの哺乳類モデルにおいて、下行性侵害受容制御系の動作原理の解明は十分なスピードで進んでいるとは言い難い。主任研究者はこれまでの研究で、無脊椎遺伝学モデル生物であるショウジョウバエが下行性侵害受容制御系の有効な研究モデルとなる可能性を見出してきた。そこで本研究ではショウジョウバエの下行性侵害受容制御系の機能解明を目指してショウジョウバエの優れた遺伝学を活用した解析を進めた。

主任研究者

本庄 賢 国立長寿医療研究センター 認知症先進医療開発センター長室 (研究員)

分担研究者

なし

A. 研究目的

痛みは直接我々の心身の健康に影響を与えるだけでなくフレイル、認知症、そしてうつ病のリスク因子としても知られ、その適切なコントロールは健康寿命延伸を目指す上で極めて重要な課題と言える。先行研究で、脳から脊髄へのトップダウン入力により痛覚シグナルを調節する下行性侵害受容制御系の加齢に伴う機能低下が、高齢者における痛みの慢性化に寄与している可能性が指摘されてきた。下行性侵害受容制御系の機能異常は慢性疼痛疾患患者においても数多く報告されており、このシステムは疼痛の慢性化メカニズムの理解、そして慢性疼痛に対する有効な治療方策の開発に向けて重要な研究標的と目される。しかし、ヒトおよび哺乳類の巨大かつ複雑な中枢神経系において、下行性侵害受容制御系の動作原理の解明は十分に進んでいない。主任研究者は無脊椎動物であるショウジョウバエに下行性侵害受容制御系の存在を見出してきた。そこで本研究ではショウジョウバエをモデルとした下行性侵害受容制御系の動作原理解明を目的とした。

B. 研究方法

1：ショウジョウバエの神経ペプチド作動性下行性侵害受容制御機構

これまでの研究でショウジョウバエ幼虫において進化的に保存された CCK 作動性の下行性ニューロンが下行性侵害受容制御に機能する可能性が高いことを見出してきた。そこで、この CCK 作動性ニューロンの侵害受容制御における動作原理をさらに詳細に解明するべく、神経回路解析ツールを用いて標的細胞との接続性解析、神経細胞の極性解析、神経の熱遺伝学的人為発火による直接的な機能検証を実施した。

2：下行性侵害受容制御系ニューロンの新規探索

ヒトやげっ歯類の下行性侵害受容制御は、CCK 以外にも様々なシグナル伝達系と神経経路が相互作用しながら機能する極めて複雑なシステムであることが判明してきている。そこで、これまでに実施してきた神経ペプチドの予備検討で下行性侵害受容制御に関わる可能性がある神経伝達因子の解析を進めると共に、ショウジョウバエの遺伝学ツールを活用した新規スクリーニングのアプローチからショウジョウバエの下行性制御系構成ニューロンの探索を実施した。

3：下行性侵害受容制御系の機能変化を生じる感覚刺激経路の探索

ヒトや哺乳類においては、下行性侵害受容制御機構は様々な感覚刺激やストレスなどの生体内情報の入力を受けて痛覚シグナルを調節することが示唆されてきている。しかし、そうした動作原理がショウジョウバエでも共通している可能性は高いものの、実際にそれを示す研究証拠は全く得られていない。そこで、これまでに見出してきたショウジョウバエ幼虫の熱痛覚反応変化を引き起こす因子について、主に組織学的手法を用いて下行性侵害受容制御系機能との関与を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は遺伝子組換え実験を含むため、すべて国立長寿医療研究センターの遺伝子組換え実験安全委員会での承認（承認番号：遺3-1）の下、国の法令および所内規定を遵守した上で実施した。

C. 研究結果

1：ショウジョウバエの神経ペプチド作動性下行性侵害受容制御機構

GRASP (GFP Reconstitution Across Synaptic Partners) 法と trans-Tango 法を用いた神経回路解析から、幼虫の CCK 作動性下行性ニューロンは下流標的と目される細胞との接触が検出された一方で、直接的なシナプス接続の証拠は得られなかった。Denmark と syteGFP を用いた神経細胞極性解析の結果、このニューロンが脳から下行性の軸索を投射する下行性ニューロンであることが重ねて確かめられた。また熱遺伝学的に神経発火による人為発火実験の結果、この下行性ニューロンの活動が侵害受容を調節する直接的な証拠を得ることができた。

2：下行性侵害受容制御系ニューロンの新規探索

これまでに実施してきた予備検討で下行性侵害受容制御に関わる可能性があるものとして見出されてきていた神経ペプチド A の新たな欠失変異体を入手して実験を行ったところ、予想外なことに従来の変異体で見られていた表現型を確認することができず、それ以上の解析に進むことができなかった。一方、ショウジョウバエの splitGAL4 発現ライブラリを用いた新規の探索からは、侵害受容に関わる可能性のある新たな下行性ニューロンを複数見出してくることに成功した。

3：下行性侵害受容制御系の機能変化を生じる感覚刺激経路の探索

これまでに見出してきた幼虫の侵害受容を調節すると考えられる生理条件について、CCK 作動性の下行性侵害受容制御系の活動に関わる遺伝子 X の発現強度に変化が見られるかどうかを解析したものの、顕著な変化は認められなかった。

D. 考察と結論

これまでの研究からショウジョウバエ幼虫における CCK 作動性の下行性侵害受容制御系の存在を示すデータを蓄積しており、本年度の研究においてさらに追加の証拠と解析データを加えることができたため、論文を作成し発表の準備を進めている。新しい下行性侵害受容制御ニューロンの探索では注目していた神経ペプチドの研究が頓挫したものの、新しいスクリーニング方によって有力な新規候補を見出すことに成功しており、今後ショウジョウバエの実験ツールを駆使してその機能解析を進めていくことができると考えられる。また、これまでの研究からショウジョウバエ幼虫の下行性制御系が哺乳類同様に促進系と抑制系からなるある程度複雑なシステムであることを示す証拠も得てきており、今後ショウジョウバエを用いてその共通動作原理を探っていくことが期待できる。下行性侵害

受容制御の活動制御因子の探索では予定した実験計画で顕著な変化が認められなかったが、この失敗に触発される形で活動制御因子をシステムチックに探索していく新しい研究法の着想を得ることができた。必要な技術的検討もポジティブに進んでおり、今後の研究での実用に期待が持てる。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

1) Honjo, K., Oikawa, I., Kondo, S., Hashimoto, K., Kashiwabara, A., Tanimoto, H., Furukubo-Tokunaga, K. Descending inhibition of nociception mediated by an evolutionarily conserved neuropeptide system in *Drosophila*. JDRC14、9月16日、オンライン開催

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし