

ショウジョウバエを使って私たちの痛みの謎に迫る
～痛覚神経機能に重要な遺伝子を多数発見～

研究成果のポイント

1. キイロショウジョウバエを活用した研究から、痛覚神経の機能に重要な役割を果たす新しい遺伝子を多数発見しました
2. 今回見つかった遺伝子の多くはヒトにも存在しており、マウスの痛覚神経でも強く発現していました
3. ヒトの痛覚神経機能にも関わっている可能性が高いことから、新しい鎮痛薬の開発に役立つ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 本庄賢特任助教らの研究グループは、キイロショウジョウバエを材料にした研究から、痛覚神経の機能に重要な新しい遺伝子を多数同定することに成功しました。

痛覚神経は、やけど・切り傷などの組織傷害や、その原因となる高温や強い機械刺激などの危険な刺激を検出する感覚神経細胞です。痛覚神経が危険な刺激によって興奮すると、その情報は脳などの中枢神経系に送られ、危険からの回避反応が引き起こされます。私たち人間では、痛覚神経の興奮は不快な痛みの知覚も引き起こします。

本研究では、キイロショウジョウバエを利用した大規模な遺伝子探索によって、これまで知られていなかった痛覚神経の機能に関わる遺伝子を多数発見することに成功しました。今回見つかった遺伝子はショウジョウバエ幼虫の痛覚神経に強く発現しており、痛覚神経でその遺伝子機能を抑制した場合には、熱に対する痛覚反応の鈍麻や過敏化を引き起こすことから、痛覚神経の機能に重要であると考えられました。ヒトとキイロショウジョウバエの遺伝子データベースの比較から、今回見つかった遺伝子の半数以上がヒトにも存在していることがわかりました。さらに、先行研究との比較から、今回見つかった遺伝子の多くが、マウスの痛覚神経でも強く発現していることもわかりました。これらの結果は、本研究で発見された遺伝子がヒトを含めた哺乳類の痛覚神経の機能にも重要である可能性を強く示唆しており、ヒトの痛覚神経機能を遺伝子レベルで理解し、新しい鎮痛法を開発していく上で有用であることが期待されます。

本研究の成果は日本時間2016年6月24日午前1時に「Cell Reports」でオンライン公開されます。

*本研究は日本学術振興会の研究スタート支援の支援を得て行われました。

研究の背景

痛覚は組織を傷害するような危険な刺激(侵害刺激)に対する感覚であり、動物の生存に必要な感覚機能です。痛覚神経は、侵害刺激の検出に特化した感覚神経であり、侵害刺激によって興奮し、その情報を中枢神経系の痛覚情報処理中枢へと伝達します。ヒトにおいては、痛覚神経の興奮は、脳において痛みの知覚を引き起こします。

痛みは私たちの身体組織を傷害や機能不全から守るための警告信号です。しかし、実態を伴わない異常または過剰な痛みは、逆に私たちの心と身体の健康を害することから、治療が必要な疾病として扱われます。このような異常な痛みを感じる病気として、傷や炎症など痛みを生じる実態がないにも関わらず慢性的に痛みを感じてしまう慢性疼痛疾患が知られています。慢性的な痛みを苦しんでいる人は、世界人口の20%以上に上ると推定されています。痛覚神経の機能異常は、こうした疼痛疾患発症の主要因の一つと考えられており、痛覚神経機能の遺伝子レベルでの解明が進められてきました。しかし、痛覚神経機能に関わる遺伝子を効率的に探索することは容易ではなく、その大規模な探索もこれまであまり行われてきませんでした。

本研究では、大規模な遺伝子探索に適したモデル生物であるキロショウジョウバエを用い、痛覚神経の機能に重要な遺伝子の大規模探索を試みました。キロショウジョウバエの幼虫は、組織傷害を起こすような高温刺激や強い機械刺激に対して「横転回避行動」または「ローリング」と呼ばれる特徴的な回避応答を示します(図1)。この横転回避行動は侵害刺激に対してのみ見られることから、幼虫の痛覚応答の明確な指標として用いることができます。先行研究から、クラス4ニューロンと呼ばれる神経細胞が幼虫の痛覚神経であることが明らかになっています。幼虫の痛覚神経は樹状突起を伸ばして表皮を広く覆っており(図2)、温度刺激、機械刺激とは異なる種類の刺激への痛覚応答に関わることから、形態的、機能的に哺乳類の痛覚神経と似ています。

研究内容と成果

先行研究から、痛覚神経の機能に重要な役割を果たす遺伝子は、他の感覚神経に比べて痛覚神経で強く発現していることが知られていました。そこで研究グループは、まずショウジョウバエの痛覚神経において、他の感覚神経と比べて強い発現が見られる遺伝子を探しました。レーザー微小解剖法(注1)とマイクロレイ解析(注2)を組み合わせることで、痛覚神経細胞と非痛覚感覚細胞において発現している遺伝子とその発現量をそれぞれ調べ、痛覚神経細胞での発現量が非痛覚感覚細胞での発現量に比べて2倍以上の遺伝子を、痛覚神経強発現遺伝子として275リストアップしました(図3)。

次に、この痛覚神経強発現遺伝子の中から、痛覚神経の機能に実際に重要なものを絞り込むために、組織特異的RNA干渉法(注3)と幼虫の熱痛覚反応試験を用いた二次探索として、痛覚神経のみで遺伝子機能を抑制した時に、熱に対する痛覚反応が鈍麻または過敏化する遺伝子を探しました(図4)。その結果、遺伝子機能を抑制した際に熱痛覚反応の鈍麻を生じた遺伝子が14、過敏化を生じた遺伝子が22見つかりました。また、これらの遺伝子の機能抑制が樹状突起の形態に与える影響も調べたところ、機能抑制で熱痛覚鈍麻を生じた遺伝子の一部では、痛覚神経の樹状突起の減少が見られました。また、機能抑制で熱痛覚過敏を生じた遺伝子の一部では、逆に樹状突起の増加が見られました。

遺伝子データベースの比較により、本研究で見つかった36の遺伝子のうち、20はヒトを含む哺乳類にも存在する遺伝子であることがわかりました。さらに、哺乳類にも共通しているこの20の遺伝子のうち、17はマウスの痛覚神経においても強発現が報告されていることが先行研究との比較から明らかになりました。また、哺乳類に共通した20の遺伝子のうち、これまでに痛覚神経機能に関わることを示唆されている遺伝子は2種類のみで、大部分は痛覚神経機能に関わる新しい遺伝子でした。

今回発見した36遺伝子のうち16については、ショウジョウバエにおいて遺伝子名が提案されていませんでした。そこで、痛覚神経での機能阻害で熱痛覚鈍麻をもたらす遺伝子には *boilerman*(ボイラー技士)、*fire fighter*(消防士)、*oven mitt*(オープンミット)など、熱に耐性のある人や物にちなむ名前を、熱痛覚過敏をもたらした遺伝子には *eucalyptus*(ユーカリ)、*primacord*(導火線)、*smoke alarm*(火災報知器)など、可燃性だったり熱に敏感な物にちなむ名前を提案しました。

今後の展開

今回の研究からは、ショウジョウバエの痛覚神経で強く発現し、痛覚神経の機能に関わる 36 の遺伝子を同定できました。これらの遺伝子のうち、哺乳類にも存在している遺伝子の大部分については、哺乳類の痛覚神経でも強く発現しており、哺乳類の痛覚神経機能にも重要な役割を果たしている遺伝子であることを強く示唆するものです。

今回見つかったショウジョウバエ遺伝子は、痛覚神経で強く発現しており、機能を抑制した際に痛覚応答異常を引き起こしたことから、痛覚神経の機能に重要であると考えられます。しかしその詳しいメカニズムはまだよくわかっていません。また、その生体内機能が全く不明だったり、神経細胞での役割が知られていない遺伝子も多く含まれており、今後詳しい解析を進めていく必要があります。

痛覚神経の異常な活動は慢性疼痛疾患の発症原因の一つと考えられています。今回見つかった遺伝子がどのように痛覚神経の機能調節に関わるか、その詳しいメカニズムが明らかになれば、それを利用した慢性疼痛疾患の治療や予防に役立つ薬を作ることが可能になるかもしれません。

参考図

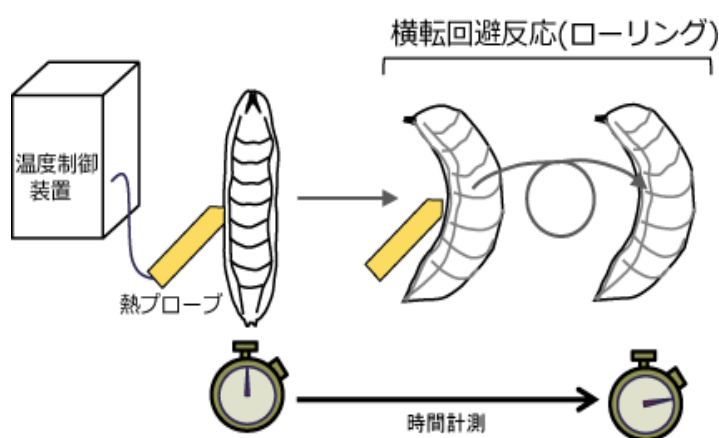


図1. ショウジョウバエ幼虫の熱刺激に対する痛覚応答

ショウジョウバエの幼虫は、高温の熱刺激を受けると横方向へと転がる特徴的な回避反応(横転回避反応またはローリング)を見せる。この反応が生じる熱刺激の閾値は 39°C 程度であり、人間が痛みを感じる温度閾値と似ている。熱刺激を開始してから、このローリングが生じるまでの時間を計測することで、幼虫の痛覚受容の感度を調べることができる。

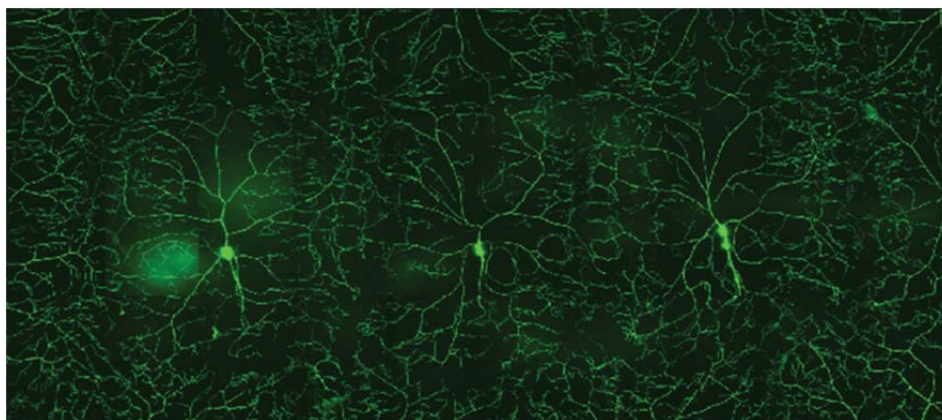


図2. 本研究で注目したショウジョウバエ幼虫の痛覚神経細胞

ショウジョウバエの幼虫の痛覚神経は表皮の下に分布し、発達した樹状突起構造で幼虫体壁の 9 割以上を覆っている。この樹状突起構造には様々な刺激を受容する分子が分布していると考えられており、その情報が神経軸索を通じて中枢神経系に伝達される。

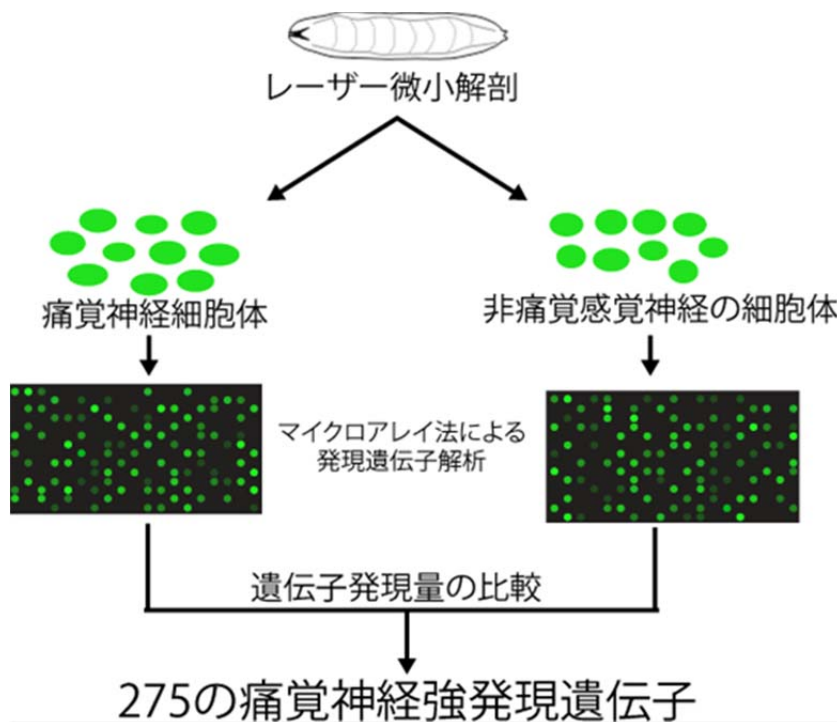


図3. 本研究で行われた痛覚神経強発現遺伝子探索の概略

まず、幼虫の表皮組織からレーザー微小解剖法を用いて、痛覚神経細胞体と痛覚に関係がない感覚神経細胞体をそれぞれ収集した。次に、それぞれの細胞体から抽出した RNA サンプルをマイクロアレイ法を用いて解析し、1万8千の遺伝子についてその発現量を調べた。1万8千の各遺伝子について、痛覚神経と非痛覚感覚神経での発現量を比較し、痛覚神経で2倍以上の発現量を示したものを275同定した。

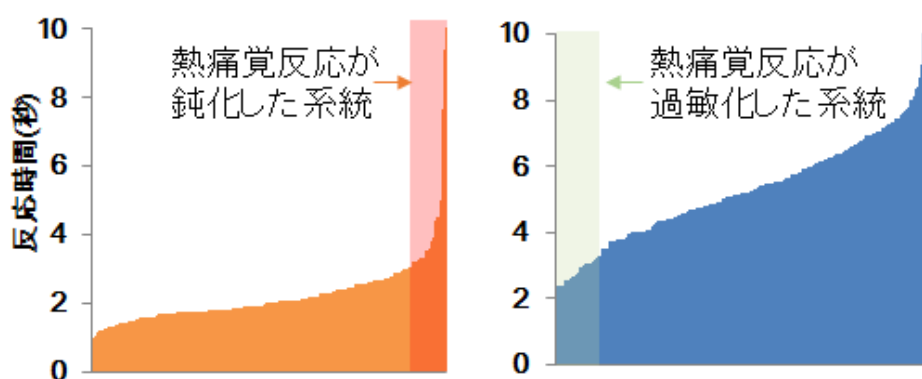


図4. 痛覚神経特異的 RNA 干渉を用いた痛覚神経機能に関わる遺伝子の探索

275の痛覚神経強発現遺伝子の痛覚神経での機能を調べるため、RNA干渉を用いてその遺伝子機能を痛覚神経特異的に阻害し、その熱痛覚反応に対する影響を調べた。一部の遺伝子については、遺伝子機能を阻害した時に熱刺激への応答にかかる時間が顕著に長くなり、これは熱への痛覚反応が鈍化したものと言える(左側、オレンジの網掛け)。一方、一部の遺伝子では機能阻害をした際に熱刺激への応答時間が顕著に短くなり、これは熱への痛覚反応が過敏化したものと考えられる(右側、緑の網掛け)。

用語解説

注1) レーザー微小解剖法

小さな点に集光したレーザーを利用して、生体組織サンプルから、顕微鏡下で狙いを定めたごく微小な目的組織のみを回収する実験手法。

注2) マイクロアレイ解析

色々な配列の DNA がスポット状に並んだ DNA チップを利用し、組織サンプル内に存在している mRNA (遺伝子発現産物)の量を網羅的に定量することができる実験手法。サンプル中の mRNA は蛍光物質でラベルされており、DNA チップ上の相補的な配列を持つ DNA スポットに結合するため、発現量の多い mRNA に対応する DNA スポットはより強く蛍光を発するようになる。この蛍光強度を利用して、各 mRNA の存在量を定量することができる。

注3) RNA 干渉法

細胞が生得的に持つウイルスなどの外来核酸排除機構を利用し、標的遺伝子から転写される転写産物のみを特異的に分解して遺伝子機能を阻害する実験手法。標的遺伝子から転写される mRNA と相補的な配列を含む二重鎖 RNA を細胞内で人為的に生成すると、この本来生体内に存在しない二重鎖 RNA は外来核酸排除機構により分解される。この時、分解の過程で生じる標的遺伝子 mRNA と相補的な配列を持つ RNA 断片が、標的遺伝子 mRNA に結合して二重鎖を形成するため、標的遺伝子の mRNA も同じように分解され、結果として遺伝子発現、そして遺伝子機能が抑制される。本研究では、各痛覚神経強発現遺伝子の配列に対応した二重鎖 RNA を、痛覚神経のみで生成することで、痛覚神経特異的な遺伝子機能阻害を行った。

掲載論文

【題名】 Nociceptor-enriched genes required for normal thermal nociception.

(熱痛覚受容に必要な痛覚神経強発現遺伝子)

【著者名】 Ken Honjo (本庄 賢)、Stephanie E. Mauthner、Yu Wang、J. H. Pate Skene、W. Daniel Tracey Jr.

【掲載誌】 Cell Reports

doi.org/10.1016/j.celrep.2016.06.003

問い合わせ先

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