

ンピア大学の報告が話題になった。このような現象と、肥満でグレリンが低値を示すことは直観的には相容れず、整合性がとれない印象がある。ヒトの場合、血中アシル化グレリンは脱アシル化グレリンの1/10程度であるから、グレリン総量が低下しているならば主な原因は脱アシル化グレリンの「消失」であろうと考えられる。しかし、分泌量そのものが低下しているか、アシル化グレリンが血中に放出されかつ速やかに脱アシル化された分解産物をみているのか、アシル化されていないグレリンが血中に放出されるや否や分解を受けているのか、あるいはグレリンとは認識されない形に分解されているものなのか、現在のところ明快な説明はなされていない。血中グレリンの測定系に関しては早くから寒川らにより精力的に開発が行われており、既に洗練された方法が確立している。しかし、図1に示したような多分子種の存在を確かめるためにも、今後これらを分けて測定する工夫も必要となってくるだろう。事実、市販のELISAキットを含め我々が検討した限りでは、短縮型グレリンを認識できる抗体は非常に限られている。グレリンの血中濃度が低下している背景には、グレリンが限定分解を受けて短縮型が増加している可能性も否定できない。肥満やメタボリックシンドロームの病態は血管・循環器系の慢性炎症状態を引き起こし、並行して凝固系の活性化が誘導されていることが推測される。したがって短縮型グレリンが血中に増加している状況は、これらの生成機序から考えてさほど突飛な想定ではないと考える。あるいはこの辺にグレリン「消失」の意味を探る糸口も見えてくるのではないだろうか。

グレリンに関わる現象については実に様々な報告が蓄積しつつある一方で、グレリンの機能多様性を説明しうる分子的な実体や理論体系についてはまだ確立されていない部分も多い。本稿では詳しく触れることができなかったGHSR1aの下流シグナルや構成的活性化、食欲と深く結びついた嗅覚や学習行動など興味深い話題は拡がり、尽きず、気ばかりが急いでしまう。その時に、筆者はレニン・アンジオテンシン系の歴史を思い起こしている。今でこそアンジオテンシノーゲンから（本稿流の表現を許していただければ）アンジオテンシン（1-10）、（1-9）、（1-8）、（2-8）、（3-8）の分解産物が生じることや、それぞれに対する特異的受容体も明らかになってきた。レニン発見から今年で115年目である。グレリンについても短縮型のペプチドが同様の作用様式をもっているかについて現在のところ不明ではあるが、着実に実験データを積み上げていく必要があるだろう。

- 1) Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matsuo, H., & Kangawa, K. (1999) *Nature*, 402, 656-660.
- 2) Fukuda, T. & Kambe, T. (2011) *Metallomics*, 3, 662-674.
- 3) Nishi, Y., Mifune, H., & Kojima, M. (2012) *Methods Enzymol.*, 514, 303-315.
- 4) Sugimoto, H., Hayashi, H., & Yamashita, S. (1996) *J. Biol. Chem.*, 271, 7705-7711.
- 5) Satou, M., Nishi, Y., Yoh, J., Hattori, Y., & Sugimoto, H. (2010) *Endocrinology*, 10, 4765-4775.
- 6) Satou, M. & Sugimoto, H. (2012) *Methods Enzymol.*, 514, 165-179.
- 7) Heppner, K.M., Chaudhary, N., Müller, T.D., Kirchner, H., Habegger, K.M., Ottaway, N., Smiley, D.L., Dimarchi, R., Hofmann, S.M., Woods, S.C., Sivertsen, B., Holst, B., Pfluger, P. T., Perez-Tilve, D., & Tschöp, M.H. (2012) *Endocrinology*, 153, 4687-4695.
- 8) De Vriese, C., Haquebard, M., Gregoire, F., Carpentier, Y., & Delpoete, C. (2007) *Endocrinology*, 148, 2355-2362.
- 9) Porporato, P.E., Filigheddu, N., Reano, S., Ferrara, M., Angelino, E., Gnocchi, V.F., Prodham, F., Ronchi, G., Fagoonee, S., Fornaro, M., Chianale, F., Baldanzi, G., Surico, N., Sinigaglia, F., Perroteau, I., Smith, R.G., Sun, Y., Geuna, S., & Graziani, A. (2013) *J. Clin. Invest.*, in press.
- 10) Inoue, Y., Nakahara, K., Maruyama, K., Suzuki, Y., Hayashi, Y., Kangawa, K., & Murakami, N. (2012) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 430, 278-283.
- 11) Satou, M., Nakamura, Y., Ando, H., & Sugimoto, H. (2011) *Peptides*, 32, 2183-2190.
- 12) Torsello, A., Ghe', E., Catapano, F., Ghigo, E., Deghenghi, R., Locatelli, V., & Muccioli, G. (2002) *Endocrinology*, 143, 1968-1971.
- 13) Dezaki, K., Kakei, M., & Yada, T. (2007) *Diabetes*, 56, 2319-2327.
- 14) Park, S., Jiang, H., Zhang, H., & Smith, R.G. (2012) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109, 19003-19008.

佐藤 元康

(獨協医科大学医学部生化学講座)

Molecular mechanisms involved in the diverse actions of ghrelin

Motoyasu Satou (Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Dokkyo Medical University, Kitakobayashi 880, Mibu, Shimotsuga-gun, Tochigi 321-0293, Japan)

痛みの受容機構と新規鎮痛薬創製の可能性

1. はじめに

痛みは、一次感覚神経のうち、主に有髄Aδ線維や無髄C線維の自由神経終末に存在する様々な感覚受容器（侵害

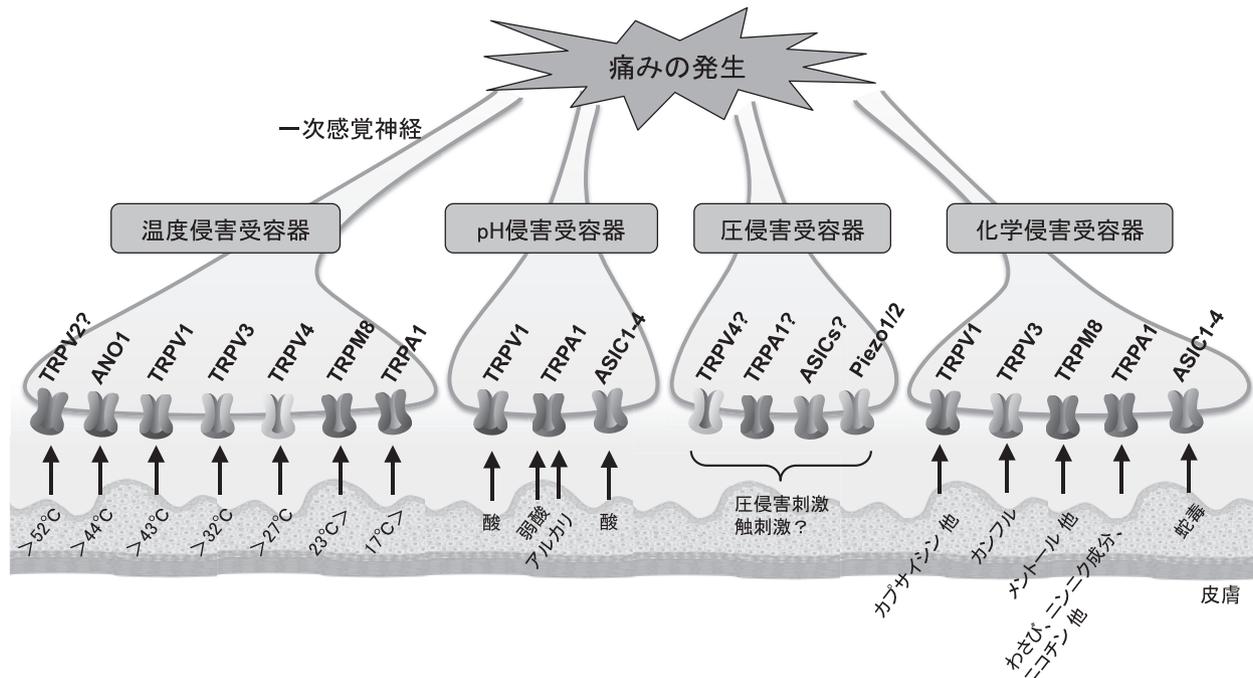


図1 温度、pH、圧および化学刺激に対する侵害受容器の分子実体

一次感覚神経の自由神経終末には、温度、pH、圧および化学刺激に対する各種侵害受容器が存在し、現在その候補と考えられている TRP チャンネル、ASICs、ANO1、piezo を図示している。これらが必ずしも同一の神経終末（C 線維、A δ 線維など）に存在するわけではないが、便宜上、本図では4種類の神経終末に分類している。

受容器) が刺激されることにより発生する。この侵害受容器の分子実体として、温度、圧、pH、化学物質等の侵害刺激に応答するイオンチャンネルが次々と明らかになってきており、新規鎮痛薬の重要な標的候補となっている。特に、温度や様々な化学物質などに感受性を持つ transient receptor potential protein (TRP) チャンネル、酸などに感受性を持つ酸感受性イオンチャンネル (acid-sensing ion channels: ASICs) に対する研究が進んできたが、最近では、熱受容器としてアノクタミンファミリーや圧受容器として piezo ファミリーなどのイオンチャンネルも報告され、注目を集めている。本稿では、これら侵害受容器の分子実体 (図1) とこれらを標的とした新規鎮痛薬創製の可能性について概説したい。

2. TRP チャンネル

TRP チャンネルは、ヒトでは28種類の遺伝子が同定されており、TRPV、TRPC、TRPM、TRPA、TRPP、TRPMLの六つのサブファミリーに分類され、幾つかの例外を除き、6回膜貫通型の非選択的カチオンチャンネルを構成する。これら TRP チャンネルのうち幾つかが温度、酸・アル

カリ、浸透圧や圧刺激に感受性を持つことが知られている^{1,2)}。

1) TRPV1

TRPV1は、後根神経節 (DRG) からカプサイシンに反応するカチオンチャンネルとしてクローニングされたが、43°C以上の熱やプロトンにも感受性を持つことが明らかとなり¹⁻³⁾、侵害受容の主要分子として、現在、最も研究が進んでいる TRP チャンネルである。一次感覚神経のうち、無髄C線維や一部の有髄A δ 線維に発現しており、多様な機能を持つポリモーダル侵害受容器として機能している。侵害刺激などの外界刺激に対して応答するが、内因性 TRPV1 リガンドとして、内因性カンナビノイド、アラキドン酸カスケードのリポキシゲナーゼ産物 12-HPETE やプロスタグランジン (PG) D₂ 代謝産物 5-deoxy- Δ 12, 14-PGJ₂、ある種の脂質等が候補に挙がっており、多彩な生理機能を有していると考えられている。また、炎症時には、各種炎症性メディエーターが、GqあるいはGs共役型の7回膜貫通型受容体 (GPCR) を介してプロテインキナーゼCやプロテインキナーゼAを活性化し、TRPV1をリン酸

化することで、機能増強、細胞膜表面への輸送を引き起こし、一次感覚神経の過敏化(末梢神経感作)の原因となる。実際、TRPV1欠損マウスでは、炎症性熱痛覚過敏が減弱することや、TRPV1阻害薬が炎症性疼痛だけでなく、神経障害性疼痛、変形性関節症など様々な疼痛モデルに対して有効性を示すことが報告されている³⁾。これまで、TRPV1阻害薬の臨床治験が数多く進められてきたが、発熱などの副作用が生じたため、現在ではその多くが開発中止となっている。発熱作用の少ないTRPV1阻害薬も報告されているが、熱に対する感覚が阻害されるため、火傷のリスクが高まるなど新たな問題も生じており、現在もお、臨床応用には至っていない。

一方、TRPV1刺激薬のカプサイシンの外用薬が、古くから鎮痛薬として用いられてきた。この逆説的な作用のメカニズムとして、持続的なTRPV1刺激により、チャネル機能の脱感作、サブスタンスPなどの痛覚伝達物質の枯渇や、過剰に流入したCa²⁺イオンの神経毒性による感覚神経終末部の退縮、不応答などが生じ、長期に渡る鎮痛作用が得られるものと考えられている。近年では、カプサイシンを高用量含有する貼付剤も開発されているが、初期段階で生じる皮膚への強い刺激作用(灼熱感)が問題とされる。現在、刺激性の低いTRPV1刺激薬も報告されており、現実性の高い新規鎮痛薬として期待できる^{2,3)}。

2) TRPV2/3/4

TRPV2は52℃以上の熱刺激で開口する。非神経細胞にも広く分布しているが、感覚神経では主に有髄A δ 線維に発現しており、当初、高閾値熱侵害受容器と考えられていた^{1,2)}。しかし、遺伝子欠損マウスにおいて、熱侵害受容閾値が変化しないだけでなく、炎症性/神経障害性疼痛モデルにおいても変化は認められず⁵⁾、熱侵害受容器としての役割は、現在も不明である。

TRPV3は、32~39℃以上の温刺激で活性化し、感覚神経よりもむしろ、表皮角化細胞に発現していることから^{1,2)}、皮膚での温度受容に関わっていると考えられている⁶⁾。TRPV3は、繰り返し温度刺激によりその活性が増強され⁶⁾、また、Gq共役型GPCRの活性化、アラキドン酸や不飽和脂肪酸などによってもその活性が増強されることから、炎症性疼痛との関連が指摘されている。TRPV3阻害薬は炎症性疼痛や神経障害性疼痛に有効であり、その開発が期待される。

TRPV4は、27~35℃以上の温刺激の他、低浸透圧、機械刺激(圧力や流れによるずり応力)、酸、アラキドン酸

代謝物、内因性カンナビノイドなどにより活性化されるポリモーダル受容器である^{1,2)}。感覚神経節やA線維、C線維の末梢神経終末に発現しており、遺伝子欠損マウスでは、酸および圧侵害刺激に対する感受性が低下する⁷⁾。一方、炎症状態における熱、低浸透圧、圧刺激に対する痛覚過敏応答に、PGE₂あるいはproteinase-activated receptor 2を介したTRPV4の感作が関与することが知られている⁷⁾。また、TRPV3と同じく、表皮角化細胞などの非神経細胞にも発現し、温度受容に関与していることが知られている⁶⁾。TRPV4選択的阻害薬も開発されており、疼痛モデルでの評価が待たれる。

3) TRPM8

TRPM8は、25~28℃以下の冷涼刺激の他、メントール(ミント成分)、アリシン(ニンニク成分)やイチリンによって活性化され、周囲の温度環境や清涼剤といった冷涼刺激の受容器として機能している^{1,2)}。小~中型DRGニューロンに存在するが、TRPV1とは共発現しておらず、冷涼刺激と熱侵害刺激は異なる感覚神経が関与すると考えられている。TRPM8は、むしろ、冷涼刺激による鎮痛効果や冷環境に対する忌避反応に関与することが知られているが、神経障害性疼痛モデルにおいて、TRPV1を発現するDRGニューロンにおいてTRPM8の発現が増加し、冷痛覚過敏を担っているとする報告もある⁸⁾。TRPM8阻害薬は、神経障害性疼痛時の冷過敏応答を抑制することが報告されており、臨床応用にも期待できる。

4) TRPA1

TRPA1は、主に小型DRGニューロンに存在し、侵害受容器の一つとして機能していると考えられている。当初、17℃以下の冷刺激で活性化する冷受容器として報告されたが、それ以外にも実に様々な刺激性化学物質に応答する。例えば、allyl isothiocyanate(マスタード、わさび成分)、cinnamaldehyde(シナモン成分)、アリシン、イチリン、メントール、汚染物質のアクロレイン、ニコチン、さらに、炎症時に産生される過酸化水素、アルデヒド類などにも応答し、これらが誘導する侵害受容行動に寄与することが知られている^{1,2)}。また、pH(アルカリ、弱酸)や、二酸化炭素、酸素、硫化水素といった気体にも感受性を持つことも報告されている⁹⁾。TRPA1阻害薬は、体温を変化させることなく、炎症性疼痛、神経障害性疼痛や変形性関節炎モデルなど様々な疼痛モデルにおいて有効性が確認されており⁹⁾、TRPV1と並び、新規鎮痛薬の主要標的分子と

位置付けられている。

また、TRPA1は痛覚以外にも様々な感覚に寄与している可能性がある。例えば、ヒスタミン依存性のかゆみがTRPV1を介しているのに対し、ヒスタミン非依存性のかゆみがTRPA1を介していることが報告されている¹⁰⁾。一方、筆者らは、現在、TRPA1としびれや異常感覚といった感覚との関連に着目している。抗がん剤のオキサリプラチンは、投与直後から数時間以内にほぼ全ての患者で、四肢末端、口周囲等に寒冷被曝で誘発・増強されるしびれや異常感覚（錯感覚）が生じることが知られており、オキサリプラチン特有の急性末梢神経障害として臨床現場ではその対応に非常に苦渋している。筆者らは、マウスへオキサリプラチンを投与すると数時間内に冷刺激に対する過敏応答が惹起されることを見だし、この冷過敏応答がTRPA1阻害薬の投与や遺伝子欠損マウスで消失すること、DRGニューロンのTRPA1が特異的に過敏化していることなどを報告した¹¹⁾。これらの結果は、オキサリプラチンにより引き起こされるしびれや異常感覚といった急性末梢神経障害に、TRPA1が関与することを示唆するものである。しびれが末梢神経障害や末梢血流障害により惹起されることは経験的にも理解できるが、現在、しびれを適切に評価できる動物モデルは存在しないため、その発症機構は全く理解されていない。筆者らは、TRPA1の過敏化が、しびれの一側面を反映しているのでは考え、現在も解析を行っている。

3. ASICs

酸（プロトン）に感受性を持つ受容器として、degenerin/epithelial Na⁺ channel (DEG/ENaC) 遺伝子ファミリーに属するアミロライド感受性の電位非依存性Na⁺チャンネルASICsが知られている。これまでに少なくとも7種類のサブユニットが同定されており (ASIC1a/1b/1b2/2a/2b/3/4)、いずれも2回膜貫通型で、ホモあるいはヘテロ三量体を形成していると考えられている¹²⁾。末梢神経には全てのASICサブユニットが発現しているが、特にASIC1bとASIC3は感覚神経に特異的に発現し、酸（プロトン）に対する感受性が最も高い（約pH6.7）。圧受容器としての機能も報告されているが、定かではない。遺伝子欠損マウスを用いた解析では必ずしも一貫した結果は得られていないが、ASIC阻害作用を有するアミロライドやNSAIDs、またASIC選択的阻害薬が、酸注入による痛みの他、炎症性疼痛に有効であることが報告されており、今後の展開が期待できる^{12,13)}。

4. アノクタミン

アノクタミンは、Ca²⁺により活性化される8回膜貫通型のCl⁻チャンネルの一つである。哺乳類では10種類のアノクタミンファミリーが同定されているが (ANO1~ANO10)、最近、このうち、少なくともANO1とANO2が、熱刺激に感受性を持つことが報告された¹⁴⁾。ANO1は、小型の感覚神経でTRPV1と共発現しており、生理的条件下に近い細胞内Ca²⁺濃度では約44℃、1μM以上の濃度になると、30℃以下の熱刺激でも開口して、Cl⁻電流を引き起こす。また、ANO1のコンディショナル遺伝子欠損マウスでは、熱侵害刺激に対する感受性が低下するが、圧侵害刺激や触刺激に対する応答に変化は認められないことが報告されている。現在のところ、ANO1と痛みの関連を示す報告はこの1報のみであるが、TRPV1遺伝子欠損マウスでも熱侵害刺激に対する感受性に変化は認められなかったことを考えると、ANO1はTRPV1と同等あるいはそれ以上の役割を持つ熱侵害受容器である可能性も高い。今後の展開に期待したい。

5. piezo タンパク質

上述のように、熱/冷侵害受容器については、多くの研究がなされているが、圧（機械）侵害受容器については、これまで、幾つか候補が提唱されてきたが、その多くは懐疑的なものであった。近年、哺乳類のpiezoタンパク質piezo1が、機械刺激により活性化する四量体のポア形成細胞膜イオンチャンネルであることが証明された¹⁵⁾。さらに、キイロシヨウジョウバエのpiezoタンパク質の遺伝子欠損により、機械刺激による侵害受容応答が抑制されるが、熱侵害刺激や触刺激に対する応答に変化は認められないことが報告された¹⁶⁾。現在、遺伝子改変動物などを用いた哺乳類での機械侵害刺激受容応答に対する解析が待たれているところであるが、piezoタンパク質が、機械侵害受容器の一つである可能性は非常に高い。今後、他の性質を有する機械侵害受容器も、次々と見つかるのではないかと期待している。

6. おわりに

上述のように、一次感覚神経に存在する複数のTRPチャンネルが、熱/冷侵害受容器としてだけでなく、酸・アルカリ、浸透圧や他の化学刺激、さらに圧刺激に対するポリモーダル侵害受容器として機能していることが明らかになってきた。また、TRPチャンネル以外にも、酸侵害受容

器として ASICs, 新たな熱侵害受容器として ANO1, 圧受容器として piezo タンパク質など, 様々なタイプのイオンチャンネルが侵害受容器として機能していることも明らかとなりつつある。しかし, 特に, 圧侵害受容器など, 今回取り上げた piezo タンパク質以外にも, 多数の分子が関与しているものと考えられ, 今後の探索が待たれる。侵害受容器を標的とした新規鎮痛薬の開発は, TRPV1 阻害薬の開発が臨床段階で副作用の問題等からことごとく失敗しており, 新たな標的の開発を躊躇している感がある。しかし, TRPA1 など痛み以外にも, かゆみ, しびれ, 感覚異常等の様々な感覚に寄与しているものや, ANO1, piezo 等の新たな候補も出てきたことから, 侵害受容器を標的とした新規鎮痛薬の今後の開発を大いに期待したい。

- 1) Vay, L., Gu, C., & McNaughton, P.A. (2012) *Br. J. Pharmacol.*, 165, 787–801.
- 2) Moran, M.M., McAlexander, M.A., Bíró, T., & Szallasi, A. (2011) *Nat. Rev. Drug Discov.*, 10, 601–620.
- 3) Gunthorpe, M.J. & Chizh, B.A. (2009) *Drug Discov. Today*, 14, 56–67.
- 4) De Petrocellis, L. & Di Marzo, V. (2009) *Cell Calcium*, 45, 611–624.
- 5) Park, U., Vastani, N., Guan, Y., Raja, S.N., Koltzenburg, M., & Caterina, M.J. (2011) *J. Neurosci.*, 31, 11425–11436.
- 6) Chung, M.K., Lee, H., Mizuno, A., Suzuki, M., & Caterina, M. J. (2004) *J. Biol. Chem.*, 279, 21569–21575.
- 7) Todaka, H., Taniguchi, J., Satoh, J., Mizuno, A., & Suzuki, M. (2004) *J. Biol. Chem.*, 279, 35133–35138.
- 8) Xing, H., Chen, M., Ling, J., Tan, W., & Gu, J.G. (2007) *J. Neurosci.*, 27, 13680–13690.
- 9) Andrade, E.L., Meotti, F.C., & Calixto, J.B. (2012) *Pharmacol Ther.*, 133, 189–204.
- 10) Wilson, S.R., Gerhold, K.A., Bifolck-Fisher, A., Liu, Q., Patel, K.N., Dong, X., & Bautista, D.M. (2011) *Nat. Neurosci.*, 14, 595–602.
- 11) Zhao, M., Isami, K., Nakamura, S., Shirakawa, H., Nakagawa, T., & Kaneko, S. (2012) *Mol. Pain*, 8, 55.
- 12) Deval, E., Gasull, X., Noël, J., Salinas, M., Baron, A., Diocot, S., & Lingueglia, E. (2010) *Pharmacol. Ther.*, 128, 549–558.
- 13) Qadri, Y.J., Rooj, A.K., & Fuller, C.M. (2012) *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 302, C943–C965.
- 14) Cho, H., Yang, Y.D., Lee, J., Lee, B., Kim, T., Jang, Y., Back, S.K., Na, H.S., Harfe, B.D., Wang, F., Raouf, R., Wood, J.N., & Oh, U. (2012) *Nat. Neurosci.*, 15, 1015–1021.
- 15) Coste, B., Xiao, B., Santos, J.S., Syeda, R., Grandl, J., Spencer, K.S., Kim, S.E., Schmidt, M., Mathur, J., Dubin, A.E., Montal, M., & Patapoutian, A. (2012) *Nature*, 483, 176–181.
- 16) Kim, S.E., Coste, B., Chadha, A., Cook, B., & Patapoutian, A. (2012) *Nature*, 483, 209–212.

中川 貴之

(京都大学大学院薬学研究科生体機能解析学分野)

Sensory mechanism of pain and novel analgesics
Takayuki Nakagawa (Department of Molecular Pharmacology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University, 46-29 Yoshida-Shimoadachi-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8501, Japan)

ヘテロクロマチン構造の形成と RNA サイレンシング

1. はじめに

真核生物のゲノム DNA は, クロマチンと呼ばれる構造に折りたまれて核内に収められている。ヒトなどの高等真核細胞は, このクロマチン構造をダイナミックに変化させることで, 発生や分化における遺伝子発現を巧妙に調節している。一方, 真核生物のゲノムには, 細胞にとって必要とされる遺伝子に加えて, 機能の明らかにされていない偽遺伝子や単純な反復配列, また利己的に増幅するトランスポゾンなど非コード DNA 配列が数多く存在している。このような配列は, 不適切な DNA 組換えを引き起こすばかりでなく, その増幅によって必須遺伝子の機能が損なわれるなど, 細胞にとって脅威となる存在である。細胞は「ヘテロクロマチン」と呼ばれる高次のクロマチン構造を形成することで, これらの非コード DNA 領域の組換えや増幅を抑制している。近年の研究によって, このヘテロクロマチンの形成と RNA サイレンシングと呼ばれる機構が密接に結びついていることが明らかにされてきている。RNA サイレンシングとは, 転写された RNA を分解, あるいはその翻訳を阻害することによって遺伝子の機能を抑制する現象であり, 最も良く知られた例は二本鎖 RNA の導入によって引き起こされる RNA 干渉 (RNAi) である。本稿では, ヘテロクロマチン構造形成の分子機構を概説するとともに, RNA サイレンシングとの関わりについてモデル生物での最近の知見を紹介する。

2. ヘテロクロマチンの分子構造

真核細胞のゲノムは, ユークロマチンとヘテロクロマチンに大別することができる。遺伝子に富み活発な遺伝子発現が見られるユークロマチンに対して, ヘテロクロマチン