

慢性疼痛における細胞外ヌクレオチドとその受容体の役割

津田 誠, 井上 和 秀

慢性疼痛はしばしば難治性となり、その代表的なものに神経障害性疼痛がある。これは、末梢や中枢神経の損傷、圧迫や機能不全の結果生じる疼痛疾患であり、触覚刺激で激しい痛みを誘発するアロディニアという症状が特徴的である。神経障害性疼痛の厄介な点は、強力な鎮痛薬であるモルヒネでさえ十分な治療効果を得られないことであり、今現在も有効な治療法は確立されていない。本稿では、この難治性の慢性疼痛発症メカニズムに、細胞外ヌクレオチドとその膜受容体である ATP 受容体を介したシグナルが重要な役割を果たしていることを概説する。ATP 受容体は、イオンチャネル内蔵型の P2X と G タンパク質共役型の P2Y に大別される。末梢から脊髄後角へ感覚信号を伝達する一次求心性感覚神経では、P2X₃ および P2X_{2/3} 受容体の活性化によるカルシウム依存的な cPLA₂ の活性化が神経障害性疼痛に対して重要な役割を担っている。一方、脊髄後角レベルでは、神経損傷後に活性化するミクログリアで過剰発現した P2X₄ 受容体が ATP により刺激され、ミクログリアから脳由来神経栄養因子 BDNF を放出し、脊髄後角二次ニューロンに発現する KCC2 の発現低下と陰イオンに対する逆転電位 (E_{anion}) の脱分極側シフトを引き起こし、触刺激により介在ニューロンから放出された GABA の二次ニューロンへの働きが興奮的となり、触刺激によって痛みが出現する。さらに、P2X₇ 受容体や P2Y₁₂ 受容体も神経障害性疼痛と深い関係がある。これらの成績は、ATP がそれぞれの受容体サブタイプを介して神経障害性疼痛の発現に大きく関与しており、そのメカニズムを理解する上で非常に重要な分子であることを示唆している。また、これらの ATP 受容体は、今後の治療薬開発において非常に有望なターゲットになると思われる。

はじめに

あらゆる細胞のミトコンドリアで生産される ATP は、リン酸化酵素の基質として生体の生理機能を維持することに大きく貢献している一方で、細胞の興奮やダメージに応じて細胞外へ放出され、細胞膜上に発現する ATP 受容体を刺激し、オートクラインおよびパラクライン的な細胞間

情報伝達物質として重要な役割を担っている。ATP 受容体は、既知の神経伝達物質受容体と類似して、イオンチャネル内蔵型受容体 (P2X) と G タンパク質共役型受容体 (P2Y) に大別され¹⁻³⁾、今現在、サブタイプがそれぞれ 7 種類 (P2X₁~P2X₇) および 8 種類 (P2Y₁, P2Y₂, P2Y₄, P2Y₆, P2Y₁₁~P2Y₁₄) 報告されている³⁻⁵⁾。P2X 受容体は、非選択的のカチオンチャネルであり、その構造は細胞膜 2 回貫通型のサブユニット (約 400~600 アミノ酸残基) が会合してイオンチャネルを形成している²⁾。一つのイオンチャネルを構成するサブユニット数は、現在までのところ 3~4 分子という説があるが、最近我々は、原子間力顕微鏡を駆使した P2X₄ 受容体のシングルイオンチャネルリアルタイムイメージング解析から、P2X は 3 分子が会合して一つのチャネルを形成していること、さらに ATP 刺激によるチャネルの開口も捉えることに成功している⁶⁾。7

九州大学大学院薬学研究院薬理学分野 (〒812-8582 福岡県福岡市東区馬出 3-1-1)

Role of extracellular nucleotides and their receptors in chronic pain

Makoto Tsuda and Kazuhide Inoue (Department of Molecular and System Pharmacology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University, 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan)

種類の P2X 受容体は、それぞれ全て細胞外 ATP により活性化され、EC₅₀ は 1~10 μ M 程度だが、P2X₇ 受容体だけは活性化本体が ATP⁴⁺ と考えられているため、その活性化に非常に高濃度の ATP (0.1~1mM) が必要となる^{5,7)}。一方、P2X₁ 受容体はカルシウムの透過性が高いこと⁷⁾や、持続的なアゴニストの刺激により、P2X₇ と同様に大きなチャネルポアを形成することが他のサブタイプと比べて突出している特徴である^{8,9)}。会合する 3 分子は、7 種類のサブタイプがそれぞれのタイプのみで構成するホモマー受容体と、異なった 2 種類のサブタイプで構成するヘテロマー受容体がある。しかし、全ての種類のサブタイプがヘテロに会合できるわけではなく、今現在まで P2X₁ と P2X₅¹⁰⁾、P2X₂ と P2X₃¹¹⁾、P2X₂ と P2X₆¹²⁾、P2X₄ と P2X₆¹³⁾ の組み合わせが報告されている。また、P2X₂ と P2X₃ の場合、1 分子の P2X₂ と 2 分子の P2X₃ が会合することも報告されている¹⁴⁾。一方、P2Y 受容体は、G タンパク質共役型受容体スーパーファミリー (GPCRs) に属し、7 回膜貫通型受容体で、約 400 前後のアミノ酸残基で構成されている^{3,15,16)}。P2Y 受容体を介する細胞内情報伝達において、P2Y₁、P2Y₂、P2Y₄、P2Y₆、P2Y₁₁ 受容体は G_{q/11} と共役しており、ホスホリパーゼ C (PLC) を活性化して、イノシトール三リン酸 (IP₃) やジアセリグリセロールを産生し、細胞内カルシウム動員やプロテインキナーゼ C (PKC) の活性化を引き起こす³⁾。また、P2Y₂ や P2Y₆ は G_{12/13} と共役している^{17,18)}。P2Y₁₂、P2Y₁₃ および P2Y₁₄ は、G_{i/o} と共役しており、アデニル酸シクラーゼの活性を抑制し、サイクリック AMP の産生を減少させ、プロテインキナーゼ A の活性化を制御する³⁾。P2Y 受容体の特徴的なことは、ATP の分解産物である ADP や、UTP とその分解産物 UDP、さらには糖ヌクレオチドが内因性作動薬として受容体を活性化する点にある^{3,15,16)}。このように細分化された ATP 受容体ファミリーではあるが、サブタイプ間において、受容体を活性化するヌクレオチドの種類や濃度、また発現組織分布や発現細胞種などが異なるという点から、生体機能におけるサブタイプ固有の役割が予想される²⁻⁵⁾。事実、最近開発が進んでいる特異的リガンドや受容体欠損動物などを用いた研究成果から、様々な生理的あるいは病態的場面におけるサブタイプ独自の重要性が次々と解明されている。その中の重要な役割の一つが痛みの制御である。

痛みは、末梢と脊髄を結ぶ一次求心性感覚神経の興奮を介して、脊髄後角の神経細胞へ伝達され、さらに上位の脳幹や大脳皮質感覚野へと伝えられ、痛覚として認知される。ATP が“痛み物質”であろうという可能性は、古くから推測されていたが、一次求心性神経特異的に発現する ATP 受容体サブタイプ P2X₃ の発見^{11,19)} がブレイクスルーとなり、ATP 受容体と痛みに関する研究が一気に進んだ²⁰⁾。さらに最近、ATP 受容体サブタイプ選択的拮抗薬や

遺伝子改変動物を用いた解析により、疼痛発現機構における ATP 受容体の役割が次々と明らかにされている。現在までに蓄積された数多くの知見から、ATP 受容体は生体防御反応に必要な急性の生理的な痛み応答よりも、むしろ慢性疼痛にその関与が深いことが示されている^{1,2,20,21)}。慢性疼痛の中でも、末期がんや糖尿病、手術後後遺症、抗がん剤処置、帯状疱疹による痛みは、神経系の損傷や機能異常に起因している場合が多く、神経障害性疼痛と呼ばれ、布が皮膚に触れるなどの軽度な機械刺激によって激的な痛みを誘発する異常痛覚 (アロディニア) を主症状とする。その発症機序は依然不明のままであり、今現在も十分な疼痛緩和を得る治療法はない。そこで本稿では、末梢一次求心性感覚神経と脊髄後角に発現する ATP 受容体が神経障害性疼痛の発症維持に深く関与していることを示唆する知見を中心に紹介し、その役割を概説する。

1. 一次求心性感覚神経における ATP 受容体

一次求心性感覚神経においては、P2X₇ 以外の P2X 受容体サブタイプが全て発現しているが^{20,22)}、量的には P2X₃ 受容体が圧倒的に多い。P2X₃ 受容体は、カプサイシン受容体 TRPV1 や IB4 およびグリア細胞由来神経栄養因子 (GDNF) 受容体 GFR α -1 や c-Ret と共存し、サブスタンス P などの神経ペプチドを含有しない非ペプチド性侵害受容体に発現する²⁰⁾。

上述したように、P2X₃ 受容体は、P2X₃ のみでホモマー受容体を形成するだけでなく、P2X₂ 受容体と会合してヘテロマー受容体 (P2X_{2/3}) も形成する^{11,23)}。P2X_{2/3} 受容体は、P2X₃ 受容体と比べて、受容体の不活性化が遅く、アゴニストの繰り返し刺激による脱感作も殆ど見られない。このような応答は、三叉神経節²⁴⁾ や後根神経節 (DRG) ニューロン^{25,26)} でも見られ、P2X₃ 介在応答は主にカプサイシン感受性の小型ニューロンに、P2X_{2/3} 介在応答は主にカプサイシン非感受性の中型ニューロンで観察される^{25,26)}。P2X₃ と P2X₂ のダブルノックアウトマウスの一求心性神経では ATP 応答がほぼ完全に消失する²⁷⁾ ことから、P2X₃ と P2X_{2/3} 受容体が感覚神経での主な機能的 P2X 受容体であろうと考えられている。

神経障害性疼痛モデルの DRG における P2X₃ 受容体の発現は、損傷したニューロンでは減少し、同じ DRG 内の非損傷ニューロンでは増加する²⁸⁾。触刺激など軽度な機械刺激の伝達に関わる大型 DRG ニューロンでは、P2X₃ 受容体の発現は弱いものの、神経損傷によっては影響を受けない²⁹⁾。一方、正常動物の P2X₂ 受容体は、約 20% の DRG ニューロンに発現しているが、神経損傷後には約 70% にまで増加することから³⁰⁾、神経損傷によって新たに P2X_{2/3} 受容体を発現する DRG ニューロンが出現する可能性がある。

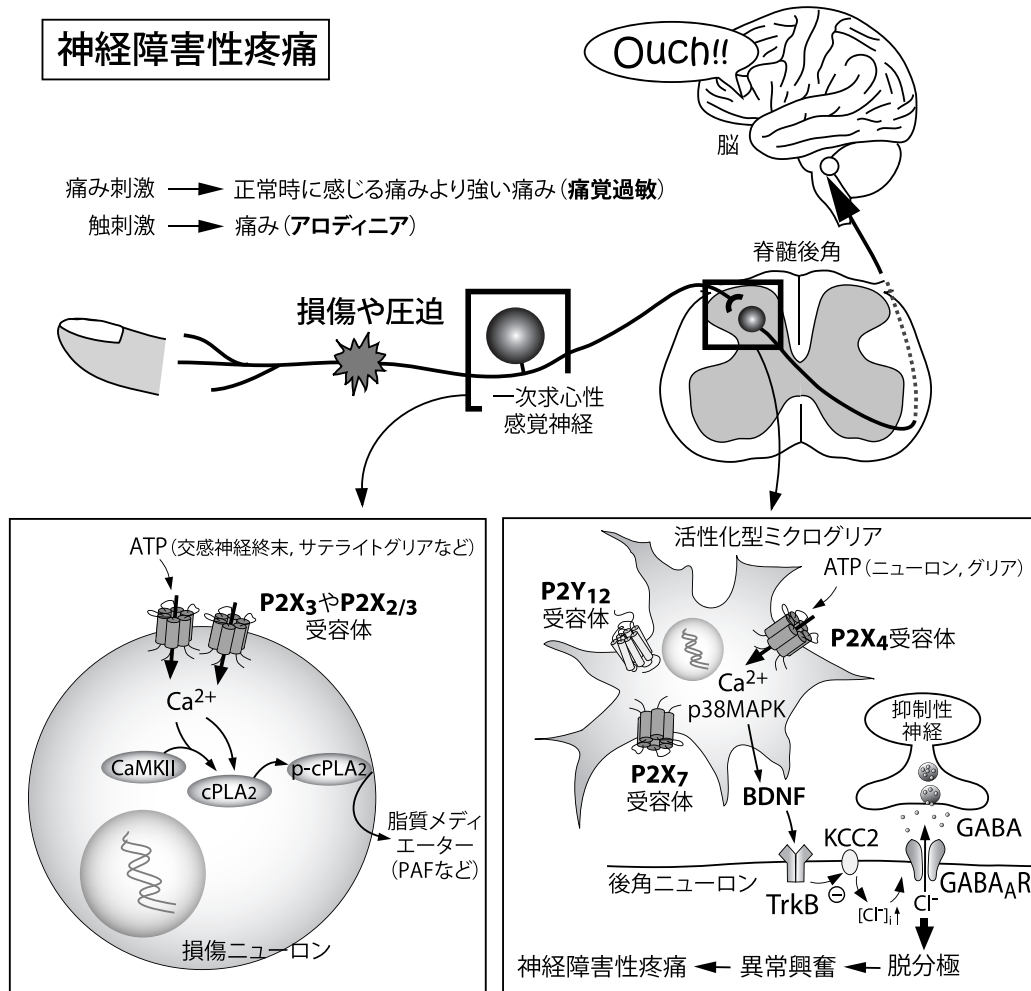


図1 ATP受容体を介する神経障害性疼痛メカニズム

末梢に加えられた刺激は、一次求心性感覚神経を興奮させ、その興奮は脊髄後角神経細胞へシナプス伝達を介して入力し、最終的には脳へ運ばれ、痛みや触覚として認知される。末梢神経等が損傷した後には、痛覚刺激に対する痛みは増強され（痛覚過敏）、軽い触刺激でも痛みを誘発してしまう（アロディニア）。損傷したニューロンでは、 $P2X_3$ や $P2X_{2/3}$ 受容体を介してCaMKIIおよびcPLA₂が活性化され、それによって産生される脂質メディエーターが神経障害性疼痛に対して重要な役割を担っている。脊髄後角では、マイクログリアに過剰発現したP2X受容体の活性化によりBDNFが放出され、BDNFが後角ニューロンのKCC2の発現（あるいは機能）を抑制し、陰イオン濃度勾配を変化させる。その結果、介在ニューロンから放出された抑制性神経伝達物質GABAが、脊髄後角ニューロンの異常興奮を引き起こし、最終的にアロディニアの発現に至る。

PAF: platelet activating factor, TrkB: receptor tyrosine kinase B

神経障害性疼痛に対する $P2X_3$ および $P2X_{2/3}$ 受容体の関与は、 $P2X_3$ アンチセンスオリゴやsiRNAによってアロディニアなどの疼痛行動が抑制されるという報告によって明らかにされた。さらに、 $P2X_3$ および $P2X_{2/3}$ 受容体に対する選択的拮抗薬A317491にも抑制効果が認められた^{20,31}。最近筆者らは、 $P2X_3$ および $P2X_{2/3}$ 受容体の刺激により、 Ca^{2+} 依存性酵素である細胞質型ホスホリパーゼA₂（cPLA₂）が活性化し、その阻害によりアロディニアが寛解されることを明らかにした³²。cPLA₂は、PLA₂分子種の中でアラキドン酸を含むリン脂質に高い選択性を示す酵素であり、細胞膜からアラキドン酸を遊離させ、その後の脂

質メディエーターの産生に極めて重要な役割を担っている³³。初代培養DRGニューロンをATPで刺激すると、cPLA₂の活性化に重要なセリン残基（Ser⁵⁰⁵）のリン酸化と細胞膜へのトランスロケーションが認められた³²。その活性化は、EGTAやA317491の前処置により抑制され、さらにカルモジュリン依存性キナーゼII（CaMKII）阻害剤でも抑制された³⁴。神経障害性疼痛モデルのDRGにおいても、アロディニアの時間的発現パターンに相関したcPLA₂のリン酸化と細胞膜への局在化が認められ、それらの変化はA317491の投与により著明に抑制された³²。また、神経損傷によるアロディニアがcPLA₂阻害剤の投与

によって有意に抑制された。したがって、 $P2X_3$ および $P2X_{2/3}$ 受容体の活性化は $cPLA_2$ 依存的な脂質メディエーター産生を介して神経障害性疼痛に対して重要な役割を担っていると考えられる (図 1)。

2. 脊髄後角における ATP 受容体の役割

(1) $P2X_4$ 受容体

神経障害性疼痛モデルラットの脊髄くも膜下腔内へ $P2X$ 受容体拮抗薬 TNP-ATP および $P2X_4$ 受容体アンチセンスを投与することにより抗アロディニア効果が発現する³⁵⁾。一方で、ラット $P2X_4$ 受容体に拮抗作用を示さない $P2X$ 受容体拮抗薬 PPADS では抑制効果がないことから、 $P2X_4$ 受容体の関与が示唆される。この見解は、 $P2X_4$ 受容体欠損マウスで神経損傷によるアロディニアが殆ど出現しないという最近の成果で強力に支持される^{36,37)}。脊髄での $P2X_4$ タンパク質の発現は、正常状態では非常に低いレベルに維持されているが、神経損傷により著しく上昇し、アロディニアの発現の経時変化とよく相関した。 $P2X_4$ 受容体の発現細胞は、OX-42 強陽性細胞、すなわち活性化型ミクログリアであった³⁵⁾。ミクログリアは、グリア細胞の一つで、中枢神経系における免疫担当細胞とも呼ばれ、末梢神経の損傷によって即座に反応し、細胞体の肥大化、細胞増殖を起し、活性化型ミクログリアへと変化する。ミクログリアを含むグリア細胞は、神経細胞のように活動電位を発生しないので、細胞内カルシウム濃度上昇がそれらの活動性を制御する重要な手段となる。細胞内へのカルシウム透過能が高い $P2X_4$ 受容体がミクログリアに過剰発現することは、 $P2X_4$ 受容体を介した新たなミクログリア反応が起り、それが神経障害性疼痛の原因であることが予想される。実際に *in vitro* 環境下で $P2X_4$ を刺激したミクログリア培養細胞を正常ラットの脊髄腔内へ投与するだけで著明なアロディニアが出現した³⁵⁾。したがって、ミクログリアにおける $P2X_4$ 受容体の活性化はアロディニアの発現に十分なシグナルであることを示唆している。

脊髄ミクログリアにおける $P2X_4$ 受容体の活性化が疼痛を引き起こすには、ミクログリアから痛覚伝達経路、すなわち脊髄後角ニューロンへ情報を伝える必要がある。筆者らは、ATP 刺激ミクログリア細胞を脊髄くも膜下腔内へ投与し、アロディニアを発症したラットの脊髄第 1 層ニューロンにおいて、陰イオンに対する逆転電位 (E_{anion}) が脱分極側へシフトし、抑制性伝達物質の GABA により脱分極が誘発されることを見出した³⁸⁾。この現象は、2003 年に、Coull らが神経障害性疼痛モデルラットで見出した現象³⁹⁾と酷似していた。また、ATP 刺激ミクログリアの投与により、侵害刺激のみを受容する脊髄後角第 1 層ニューロンが軽度機械刺激に対しても応答するようになった⁴⁰⁾。ミクログリアは、中枢神経系におけるサイトカイン、ケモ

カイン、さらには神経栄養因子の産生・遊離細胞であることが知られているが⁴¹⁾、筆者らは、ATP によりミクログリアの $P2X_4$ 受容体が活性化すると、脳由来神経栄養因子 (BDNF) が放出され、その BDNF が脊髄後角ニューロンの TrkB 受容体に作用し、塩素-カリウムトランスポーター 2 (KCC2) を抑制し、 E_{anion} の脱分極側シフトを起し、アロディニアを発現することを明らかにした³⁸⁾。ATP による BDNF の放出は、刺激後の比較的短時間に起こる即時反応に加え、刺激 1 時間後に再び放出量が増加するという二相性の反応であった⁴²⁾。この遅発的な放出は、 $P2X_4$ 受容体を介する p38MAPK の活性化が BDNF 生合成を促進することに由来している。さらに、これらの BDNF 放出は SNARE の阻害剤により抑制されることも興味深い。これらの結果は、ATP 刺激によりミクログリアから放出される BDNF が、神経障害性疼痛に必要なミクログリア-神経細胞間のシグナル分子であることを示唆している (図 1)。

ミクログリアにおける $P2X_4$ 過剰発現因子として、細胞外マトリックス (ECM) 分子であるフィブロネクチンを見出した⁴³⁾。ECM は、従来まで単なる細胞間の隙間を埋める構造物と捉えられてきたが、近年、細胞運動や遺伝子発現なども変化させる、細胞機能の制御因子として注目されている⁴⁴⁾。ミクログリア培養細胞をフィブロネクチンで処置することで、 $P2X_4$ の mRNA およびタンパク質レベルが増加し、さらに $P2X_4$ 受容体介在性の細胞内カルシウム応答も増大した⁴³⁾。フィブロネクチンによる $P2X_4$ R 発現増強作用は、選択的 β_1/β_3 インテグリン拮抗薬のエチスタチンと、 β_1 インテグリン機能阻害抗体で抑制された⁴⁵⁾。神経障害性疼痛モデルの脊髄後角では、 $P2X_4$ の発現増加初期、すなわち神経損傷後 3~7 日にフィブロネクチン発現レベルの増加が認められ、エチスタチンを脊髄くも膜下腔内へ投与することで、 $P2X_4$ 受容体の発現増加とアロディニアの形成が阻害された。さらに、フィブロネクチンを正常動物の脊髄くも膜下腔内へ投与することでもアロディニアが発現し、その反応は $P2X_4$ 欠損マウスで完全に消失した。以上より、フィブロネクチンはインテグリンを介して、ミクログリアにおける $P2X_4$ 受容体過剰発現に非常に重要な役割を担っていることが示唆される。

現在までミクログリアで活性化される細胞内キナーゼ分子が幾つか報告されているが、筆者らは Src ファミリーキナーゼ (SFK) 分子の一つである Lyn が脊髄においてミクログリアに発現し、 $P2X_4$ 過剰発現と神経障害性疼痛に重要であることを見出した⁴⁶⁾。Lyn は正常のミクログリアにも発現しているが、神経損傷により活性化したミクログリアでその発現レベルが増加する。その変化は神経を損傷して 3 日後にピークとなり、2 週間後まで続いた。Lyn 欠損マウスでは、通常の生理的な痛み反応は野生型マウスと同

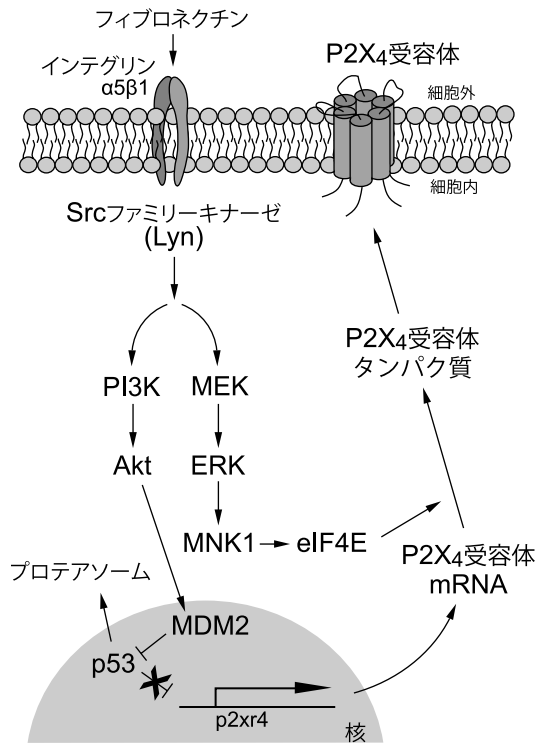


図2 ミクログリアでのフィブロネクチンによるP2X₄受容体発現増加の分子メカニズム

フィブロネクチンは細胞膜上のインテグリン（おそらくα5β1）と相互作用し、SrcファミリーチロシンキナーゼLynを活性化する。その下流では、PI3K-Akt経路とMEK-ERK経路が独立して活性化される。PI3K-Aktの下流では、転写因子p53がプロテアソーム依存的なタンパク質分解を起こし、P2X₄受容体mRNAが増加する。一方、MEK-ERKの下流では、翻訳因子であるeIF4EがMNK1依存的に活性化され、P2X₄受容体タンパク質レベルが増加する。

じであるが、神経損傷後のアロディニアの発現およびP2X₄遺伝子発現が著明に抑制されていた。さらに、Lyn欠損ミクログリア細胞ではフィブロネクチンによるP2X₄発現増加がほぼ完全に消失した。これらの結果から、Lynチロシンキナーゼを介する細胞内シグナル伝達経路の重要性が示唆される。フィブロネクチンで刺激したミクログリアでは、Lyn依存的にPI3K-AktとMEK-ERK経路が独立して活性化する⁴⁷⁾。興味深いことに、PI3K阻害剤では、P2X₄受容体のmRNAおよびタンパク質の発現が共に抑制されるのに対して、MEK阻害剤ではP2X₄のmRNA発現には全く影響を与えずに、タンパク質の増加を抑制した。さらに、PI3K-Akt経路の活性化により、転写因子p53がプロテアソーム依存的なタンパク質分解を起こし、それがP2X₄受容体mRNAの増加に関わっていることが示唆された。一方、MEK-ERK経路の活性化は、翻訳因子eIF4Eの活性化を引き起こし、その上流の制御因子MAPK-interacting protein kinase-1 (MNK1)の阻害剤により、P2X₄受容体タンパク質の発現増加が抑制された。したがって、

フィブロネクチンはPI3K-AktとMEK-ERK経路を介して、それぞれP2X₄受容体の転写と翻訳を制御していることが示唆された（図2）。

上記の知見から、P2X₄に対して阻害作用を有する薬物が神経障害性疼痛に有効な治療薬となり得る可能性が考えられる。現在まで、P2X₄受容体拮抗薬は開発されていないが、最近我々は、三環系や四環系抗うつ薬、選択的セロトニン再取り込み阻害薬のパロキセチンなどが著明なP2X₄受容体拮抗作用や神経障害性疼痛抑制作用を有することを見出した⁴⁸⁾。抗うつ薬は臨床において神経障害性疼痛の治療薬として使用されているが、その作用機序の詳細は依然不明である。興味深いことに、神経障害性疼痛モデル動物のアロディニアに対するパロキセチンの抑制作用は、セロトニン神経の破壊後でも観察されることから⁴⁸⁾、セロトニン神経に依存しないメカニズムが予想され、P2X₄受容体の阻害効果と関連している可能性がある。

(2) P2X₇受容体

P2X₇受容体欠損マウスでは、坐骨神経を部分損傷することによって発症する痛覚過敏反応が消失し、末梢における炎症性サイトカインの増加が抑制される⁴⁹⁾。最近開発されたP2X₇に対する特異的拮抗薬の全身投与でも神経障害性疼痛の抑制⁵⁰⁾と脊髄後角ニューロンの活動性も抑制⁵¹⁾が報告された。しかし、P2X₇受容体の疼痛緩和メカニズムは依然として不明である。中枢神経系では、ミクログリア細胞にP2X₇が発現しているが、P2X₇特異的拮抗薬の脊髄くも膜下腔内投与の効果が報告されていないことから、神経障害性疼痛におけるP2X₇受容体の関与にミクログリアが介在しているかどうかは不明である。しかし最近、P2X₇刺激により、caveolin-1が局在する細胞膜ラフト・カベオラ画分へのP2X₄受容体タンパク質量が増加するという肺上皮細胞株での報告や⁵²⁾、ミクログリアにおけるP2X₄とP2X₇の物理的共役に関する報告から^{53,54)}、慢性疼痛におけるミクログリアでのP2X₄-P2X₇受容体相互作用の役割が注目される。

(3) P2Y₁₂受容体

ミクログリアには、Gタンパク質共役型ATP受容体であるP2Y₂、P2Y₆、P2Y₁₂およびP2Y₁₃も発現している。その中でも、P2Y₁₂は、ミクログリアと特徴が類似しているマクロファージには発現せず^{55,56)}、ATPによる膜ラッフル形成やATP（あるいはADP）の濃度勾配に依存した細胞遊走を示す⁵⁶⁻⁵⁸⁾。正常状態のミクログリアは、分岐の多い突起を長く伸ばしたラミファイド型で存在し、周囲の環境を監視するかのようその突起をダイナミックに動かしている^{59,60)}。JuliusとGanらのグループは、ATPの脳局所注入やレーザーによる組織損傷による突起の急速な集積反応

がP2Y₁₂受容体欠損マウスで消失することを見出し、これらの反応にP2Y₁₂受容体を介するシグナリングが必須であることを明らかにした⁵⁶⁾。筆者らは最近、P2Y₁₂受容体が末梢神経損傷後にミクログリア特異的に発現増加し、さらにP2Y₁₂受容体拮抗薬処置ラットおよびP2Y₁₂欠損マウスでは神経損傷によるアロディニアが発症しないことを明らかにした⁶¹⁾。また、既に上市されているP2Y₁₂拮抗薬クロピドグレルの脊髄腔内への投与によって、神経損傷により発症したアロディニアも緩解できた。以上の結果から、ミクログリアに発現するP2Y₁₂受容体も神経障害性疼痛に重要な役割を有していることが考えられる。詳細なメカニズムは依然不明であるが、P2Y₁₂欠損マウスでは疼痛が抑制されているにも関わらず、ミクログリアの形態学的な活性化にはほとんど影響が認められなかったことは興味深い。この結果は、P2Y₁₂受容体を介したミクログリアの運動性以外にも、何らかの新しいメカニズムが疼痛抑制作用に関与している可能性を示唆している。

ま と め

本総説では、神経障害性疼痛におけるP2XとP2Y受容体の役割について概説した。割愛した研究報告も多いが、それらは他の総説や原著論文等を参照していただきたい。一次求心性感覚神経では、P2X₃およびP2X_{2/3}受容体の活性化によるカルシウム依存的なcPLA₂の活性化が神経障害性疼痛に対して重要な役割を担っている。一方、脊髄レベルでは、神経損傷後にミクログリアで過剰発現するP2X₄受容体がBDNFを放出し、脊髄後角二次ニューロンに発現するKCC2の発現低下とE_{anion}の脱分極側シフトを引き起こし、触刺激により介在ニューロンから放出されたGABAの二次ニューロンへの働きが興奮的となり、触刺激が激痛となることを示唆した。さらに、P2X₇受容体やミクログリアに発現するP2Y₁₂受容体も神経障害性疼痛と深い関係がある。これらは、何れも慢性疼痛の発症維持機構に重要な関わりを有しており、さらに受容体を遮断しても生体防御に必須である生理的な痛み反応には影響が無いことから、慢性疼痛治療薬開発に非常に有望なターゲットとなり得ると思われる^{21,62)}。今回紹介したATP受容体以外にも、ミクログリアに発現する様々な分子の役割が次々と報告されている。例えば、MCP-1受容体CCR2、fractalkine受容体CX₃CR1、カンナビノイドCB₂受容体、MHC class II、自然免疫を司っているTLR、細胞内シグナリング分子では、MAPKファミリーのERKやp38が挙げられる^{21,62,63)}。それぞれの分子がATP受容体とどのように相互作用しているのかなどの詳細な役割には不明な点が多いが、今後、時間および空間的発現変化、また分子間相互作用などを解析することで、未だ発症機序が不明である神経障害性疼痛の全容解明につながると思われる。さらに、ミ

クログリア発現分子を標的にした薬剤が、将来的に有効な治療薬となり得る可能性は十分にあると思われる。

文 献

- 1) Burnstock, G. (2008) *Nat. Rev. Drug. Discov.*, **7**, 575-590.
- 2) Khakh, B.S. & North, R.A. (2006) *Nature*, **442**, 527-532.
- 3) Abbracchio, M.P., Burnstock, G., Boeynaems, J.M., Barnard, E.A., Boyer, J.L., Kennedy, C., Knight, G.E., Fumagalli, M., Gachet, C., Jacobson, K.A., & Weisman, G.A. (2006) *Pharmacol. Rev.*, **58**, 281-341.
- 4) Burnstock, G. (2006) *Pharmacol. Rev.*, **58**, 58-86.
- 5) Jarvis, M.F. & Khakh, B.S. (2009) *Neuropharmacology*, **56**, 208-215.
- 6) Shinozaki, Y., Sumitomo, K., Tsuda, M., Koizumi, S., Inoue, K., & Torimitsu, K. (2009) *PLoS Biol.*, **7**, e103.
- 7) Khakh, B.S., Burnstock, G., Kennedy, C., King, B.F., North, R.A., Seguela, P., Voigt, M., & Humphrey, P.P. (2001) *Pharmacol. Rev.*, **53**, 107-118.
- 8) Surprenant, A., Rassendren, F., Kawashima, E., North, R.A., & Buell, G. (1996) *Science*, **272**, 735-738.
- 9) Khakh, B.S., Bao, X.R., Labarca, C., & Lester, H.A. (1999) *Nat. Neurosci.*, **2**, 322-330.
- 10) Torres, G.E., Haines, W.R., Egan, T.M., & Voigt, M.M. (1998) *Mol. Pharmacol.*, **54**, 989-993.
- 11) Lewis, C., Neidhart, S., Holy, C., North, R.A., Buell, G., & Surprenant, A. (1995) *Nature*, **377**, 432-435.
- 12) King, B.F., Townsend-Nicholson, A., Wildman, S.S., Thomas, T., Spyer, K.M., & Burnstock, G. (2000) *J. Neurosci.*, **20**, 4871-4877.
- 13) Le, K.T., Babinski, K., & Seguela, P. (1998) *J. Neurosci.*, **18**, 7152-7159.
- 14) Jiang, L.H., Kim, M., Spelta, V., Bo, X., Surprenant, A., & North, R.A. (2003) *J. Neurosci.*, **23**, 8903-8910.
- 15) Ralevic, V. & Burnstock, G. (1998) *Pharmacol. Rev.*, **50**, 413-492.
- 16) Sak, K. & Webb, T.E. (2002) *Arch. Biochem. Biophys.*, **397**, 131-136.
- 17) Liao, Z., Seye, C.I., Weisman, G.A., & Erb, L. (2007) *J. Cell Sci.*, **120**, 1654-1662.
- 18) Nishida, M., Sato, Y., Uemura, A., Narita, Y., Tozaki-Saitoh, H., Nakaya, M., Ide, T., Suzuki, K., Inoue, K., Nagao, T., & Kurose, H. (2008) *EMBO J.*, **27**, 3104-3115.
- 19) Chen, C.C., Akopian, A.N., Sivilotti, L., Colquhoun, D., Burnstock, G., & Wood, J.N. (1995) *Nature*, **377**, 428-431.
- 20) Tsuda, M. & Inoue, K. (2006) in *The Nociceptive Membrane* (Oh, U. ed.), Vol. 57, pp. 277-310, Academic Press, San Diego.
- 21) Tsuda, M., Inoue, K., & Salter, M.W. (2005) *Trends Neurosci.*, **28**, 101-107.
- 22) Kobayashi, K., Fukuoka, T., Yamanaka, H., Dai, Y., Obata, K., Tokunaga, A., & Noguchi, K. (2005) *J. Comp. Neurol.*, **481**, 377-390.
- 23) Radford, K.M., Virginio, C., Surprenant, A., North, R.A., & Kawashima, E. (1997) *J. Neurosci.*, **17**, 6529-6533.
- 24) Cook, S.P., Vulchanova, L., Hargreaves, K.M., Elde, R., & McCleskey, E.W. (1997) *Nature*, **387**, 505-508.
- 25) Ueno, S., Tsuda, M., Iwanaga, T., & Inoue, K. (1999) *Br. J. Pharmacol.*, **126**, 429-436.
- 26) Tsuda, M., Koizumi, S., Kita, A., Shigemoto, Y., Ueno, S., &

- Inoue, K. (2000) *J. Neurosci.*, **20**, RC90.
- 27) Cockayne, D.A., Dunn, P.M., Zhong, Y., Rong, W., Hamilton, S.G., Knight, G.E., Ruan, H.Z., Ma, B., Yip, P., Nunn, P., McMahon, S.B., Burnstock, G., & Ford, A.P. (2005) *J. Physiol.*, **567**, 621–639.
 - 28) Tsuzuki, K., Kondo, E., Fukuoka, T., Yi, D., Tsujino, H., Sakagami, M., & Noguchi, K. (2001) *Pain*, **91**, 351–360.
 - 29) Kage, K., Niforatos, W., Zhu, C.Z., Lynch, K.J., Honore, P., & Jarvis, M.F. (2002) *Exp. Brain Res.*, **147**, 511–519.
 - 30) Kim, C., Chung, J.M., & Chung, K. (2003) *Neurosci. Lett.*, **337**, 81–84.
 - 31) Jarvis, M.F., Burgard, E.C., McGaraughty, S., Honore, P., Lynch, K., Brennan, T.J., Subieta, A., Van Biesen, T., Cartmell, J., Bianchi, B., Niforatos, W., Kage, K., Yu, H., Mikusa, J., Wismer, C.T., Zhu, C.Z., Chu, K., Lee, C. H., Stewart, A. O., Polakowski, J., Cox, B.F., Kowaluk, E., Williams, M., Sullivan, J., & Faltynek, C. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **99**, 17179–17184.
 - 32) Tsuda, M., Hasegawa, S., & Inoue, K. (2007) *J. Neurochem.*, **103**, 1408–1416.
 - 33) Hirabayashi, T., Murayama, T., & Shimizu, T. (2004) *Biol. Pharm. Bull.*, **27**, 1168–1173.
 - 34) Hasegawa, S., Kohro, Y., Tsuda, M., & Inoue, K. (2009) *Mol. Pain*, **5**, 22.
 - 35) Tsuda, M., Shigemoto-Mogami, Y., Koizumi, S., Mizokoshi, A., Kohsaka, S., Salter, M. W., & Inoue, K. (2003) *Nature*, **424**, 778–783.
 - 36) Ulmann, L., Hatcher, J.P., Hughes, J.P., Chaumont, S., Green, P.J., Conquet, F., Buell, G.N., Reeve, A.J., Chessell, I.P., & Rassendren, F. (2008) *J. Neurosci.*, **28**, 11263–11268.
 - 37) Tsuda, M., Kuboyama, K., Inoue, T., Nagata, K., Tozaki-Saitoh, H., & Inoue, K. (2009) *Mol. Pain*, **5**, 28.
 - 38) Coull, J.A., Beggs, S., Boudreau, D., Boivin, D., Tsuda, M., Inoue, K., Gravel, C., Salter, M.W., & De Koninck, Y. (2005) *Nature*, **438**, 1017–1021.
 - 39) Coull, J.A., Boudreau, D., Bachand, K., Prescott, S.A., Nault, F., Sik, A., De Koninck, P., & De Koninck, Y. (2003) *Nature*, **424**, 938–942.
 - 40) Keller, A.F., Beggs, S., Salter, M.W., & De Koninck, Y. (2007) *Mol. Pain*, **3**, 27.
 - 41) Inoue, K. (2002) *Glia*, **40**, 156–163.
 - 42) Trang, T., Beggs, S., Wan, X., & Salter, M.W. (2009) *J. Neurosci.*, **29**, 3518–3528.
 - 43) Nasu-Tada, K., Koizumi, S., Tsuda, M., Kunifusa, E., & Inoue, K. (2006) *Glia*, **53**, 769–775.
 - 44) Hynes, R.O. (2002) *Cell*, **110**, 673–687.
 - 45) Tsuda, M., Toyomitsu, E., Komatsu, T., Masuda, T., Kunifusa, E., Nasu-Tada, K., Koizumi, S., Yamamoto, K., Ando, J., & Inoue, K. (2008) *Glia*, **56**, 579–585.
 - 46) Tsuda, M., Tozaki-Saitoh, H., Masuda, T., Toyomitsu, E., Tezuka, T., Yamamoto, T., & Inoue, K. (2008) *Glia*, **56**, 50–58.
 - 47) Tsuda, M., Toyomitsu, E., Kometani, M., Tozaki-Saitoh, H., & Inoue, K. (2009) *J. Cell Mol Med.*, in press.
 - 48) Nagata, K., Imai, T., Yamashita, T., Tsuda, M., Tozaki-Saitoh, H., & Inoue, K. (2009) *Mol. Pain*, **5**, 20.
 - 49) Chessell, I.P., Hatcher, J.P., Bountra, C., Michel, A.D., Hughes, J.P., Green, P., Egerton, J., Murfin, M., Richardson, J., Peck, W.L., Grahames, C.B., Casula, M.A., Yiangou, Y., Birch, R., Anand, P., & Buell, G.N. (2005) *Pain*, **114**, 386–396.
 - 50) Honore, P., Donnelly-Roberts, D., Namovic, M.T., Hsieh, G., Zhu, C.Z., Mikusa, J.P., Hernandez, G., Zhong, C., Gauvin, D. M., Chandran, P., Harris, R., Medrano, A.P., Carroll, W., Marsh, K., Sullivan, J.P., Faltynek, C.R., & Jarvis, M.F. (2006) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **319**, 1376–1385.
 - 51) McGaraughty, S., Chu, K.L., Namovic, M.T., Donnelly-Roberts, D.L., Harris, R.R., Zhang, X.F., Shieh, C.C., Wismer, C.T., Zhu, C.Z., Gauvin, D.M., Fabiyi, A.C., Honore, P., Gregg, R.J., Kort, M.E., Nelson, D.W., Carroll, W.A., Marsh, K., Faltynek, C.R., & Jarvis, M.F. (2007) *Neuroscience*, **146**, 1817–1828.
 - 52) Barth, K., Weinhold, K., Guenther, A., Linge, A., Gereke, M., & Kasper, M. (2008) *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **40**, 2230–2239.
 - 53) Guo, C., Masin, M., Qureshi, O.S., & Murrell-Lagnado, R.D. (2007) *Mol. Pharmacol.*, **72**, 1447–1456.
 - 54) Boumechache, M., Masin, M., Edwardson, J.M., Gorecki, D.C., & Murrell-Lagnado, R. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 13446–13454.
 - 55) Sasaki, Y., Hoshi, M., Akazawa, C., Nakamura, Y., Tsuzuki, H., Inoue, K., & Kohsaka, S. (2003) *Glia*, **44**, 242–250.
 - 56) Haynes, S.E., Hollopeter, G., Yang, G., Kurpius, D., Dailey, M.E., Gan, W.B., & Julius, D. (2006) *Nat. Neurosci.*, **9**, 1512–1519.
 - 57) Honda, S., Sasaki, Y., Ohsawa, K., Imai, Y., Nakamura, Y., Inoue, K., & Kohsaka, S. (2001) *J. Neurosci.*, **21**, 1975–1982.
 - 58) Ohsawa, K., Irino, Y., Nakamura, Y., Akazawa, C., Inoue, K., & Kohsaka, S. (2007) *Glia*, **55**, 604–616.
 - 59) Davalos, D., Grutzendler, J., Yang, G., Kim, J.V., Zuo, Y., Jung, S., Littman, D.R., Dustin, M.L., & Gan, W.B. (2005) *Nat. Neurosci.*, **8**, 752–758.
 - 60) Nimmerjahn, A., Kirchhoff, F., & Helmchen, F. (2005) *Science*, **308**, 1314–1318.
 - 61) Tozaki-Saitoh, H., Tsuda, M., Miyata, H., Ueda, K., Kohsaka, S., & Inoue, K. (2008) *J. Neurosci.*, **28**, 4949–4956.
 - 62) Scholz, J. & Woolf, C.J. (2007) *Nat. Neurosci.*, **10**, 1361–1368.
 - 63) Marchand, F., Perretti, M., & McMahon, S.B. (2005) *Nat. Rev. Neurosci.*, **6**, 521–532.
-