

The Mechanisms of the Lysophosphatidic Acid (LPA) -Induced Demyelination underlying Neuropathic Pain

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科生命薬科学専攻 謝 維嬌

[目的]

脂質メディエーターであるリゾホスファチジン酸 (LPA) は、ミエリン形成シユワン細胞の LPA₁ 受容体に作用し、脱髄とそれに続く神経線維の混線および神経突起進展を介して、神経因性疼痛におけるアロディニアを引き起こす。しかしながら、LPA による脱髄の分子基盤は十分に解明されていない。

本研究では、LPA₁ 受容体を介する脱髄の分子基盤との解明を目的とした。第 1 章ではアロディニアを担う触覚情報の脊髄誤入力と LPA₁ 受容体の関与、第 2 章では LPA₁ 受容体を介するミエリン関連分子群の蛋白質分解機構、第 3 章では LPA₁ 受容体を介するミエリン関連分子群の遺伝子発現抑制機構について解析した。

[結果および考察]

第 1 章 LPA₁ 受容体活性化によるアロディニアの分子基盤: 触覚性 A β 線維の脊髄誤入力

1. ニューロメーターによる線維特異的電気刺激後の脊髄後角において、活性化神経細胞をリン酸化 ERK (extracellular-signal regulated kinase) のシグナル検出法により可視化した。その結果、触情報を伝達する非侵害性 A β 線維に対する特異的電気刺激が、神経損傷後では侵害性応答領域を活性化することを見出した。
2. 神経損傷後における A β 線維特異的刺激による脊髄神経細胞の活性化が、LPA₁ 受容体遺伝子欠損動物において消失することを明らかにした。

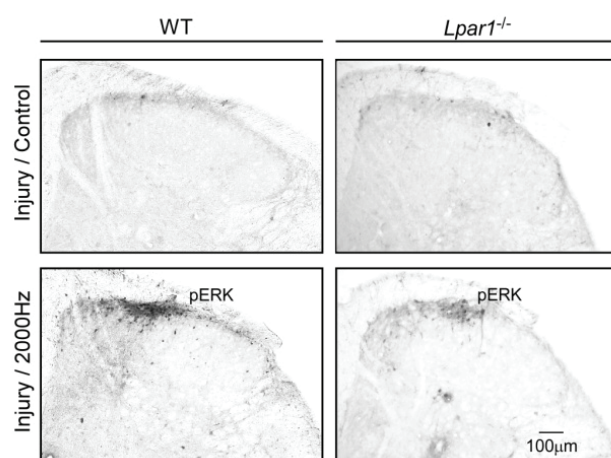


Figure1 Blockage of the nerve injury-induced spinal dorsal horn pERK signals alteration in *Lpar1*^{-/-} mice.

第2章 LPA₁ 受容体活性化による脱髄の分子基盤：カルパインを介するミエリン蛋白質分解機構

1. LPA の脊髄くも膜下腔内投与後における脊髄後根では、ミエリン関連分子である MAG (myelin-associated glycoprotein) の蛋白質発現低下が観察された。この発現低下は LPA₁ 受容体遺伝子欠損動物において消失した。
2. LPA および神経損傷は、脊髄後根におけるカルパイン活性を増強することを見出した。LPA 処置および神経損傷後における MAG の発現低下および神経因性疼痛は、カルパイン阻害薬により顕著に抑制された。一方、慢性炎症性疼痛モデルでは、後根神経節と脊髄後角におけるカルパイン活性化は観察されたが、脊髄後根における活性化は観察されず、カルパイン阻害薬によっても慢性炎症性疼痛は全く影響されなかった。

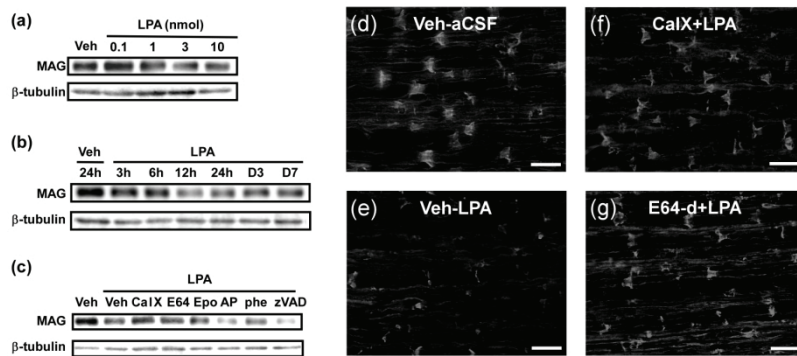


Figure2 Calpain-mediated down regulation of Myelin-associated glycoprotein (MAG). (a,b) LPA-induced dose- and time-dependent down regulation of MAG in dorsal root *in vivo*. (c) The blockage of calpain inhibitors on LPA-induced MAG down regulation in dorsal root *ex vivo* culture. (d,e,f,g) The blockage of calpain inhibitors on LPA-induced MAG down regulation in dorsal root *in vivo*.

第3章 LPA₁ 受容体活性化による脱髄の分子基盤：JNK-p-c-Jun 経路を介するミエリン関連遺伝子群の転写抑制機構

1. LPA 処置後の脊髄後根において、ミエリン関連遺伝子群 (*Mpz*, *Mbp*, *Mag*, *Sox10*, *Egr2*) の mRNA 発現が低下することを見出した。これらの発現低下は LPA₁ 受容体遺伝子欠損動物において消失した。
2. LPA 処置後の脊髄後根において、JNK (c-Jun N-terminal kinase) のリン酸

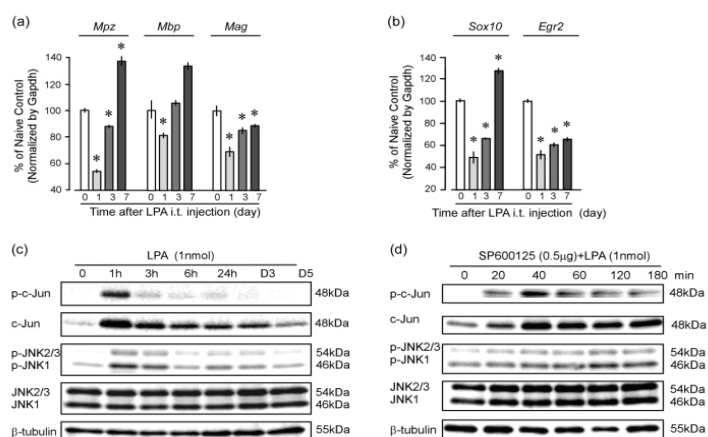


Figure3 LPA-mediated regulation of myelin genes expression. (a,b) LPA-induced down regulation of the genes of myelin proteins and myelin associated transcriptional factors. (c) The LPA effects on the c-Jun pathway elements. (d) The effects of JNK inhibitor (SP600125) on the LPA-induced expression alters of c-Jun pathway elements.

化、および転写因子 **c-Jun** の発現増加とリン酸化の亢進が認められた。さらに、JNK 特異的阻害薬は、**c-Jun** のリン酸化亢進とミエリン関連遺伝子群 (*Mpz*, *Mag*, *Sox10*) の発現低下を抑制した。

[まとめ]

本研究では、神経因性疼痛の発症機序である **LPA₁** 受容体活性化を介する脱髓の分子基盤として、蛋白質分解系と遺伝子発現抑制系を明らかにした。前者では、カルパイン活性化によるミエリン関連分子の蛋白質分解を同定し、さらにこの機構が神経因性疼痛と炎症性疼痛の分子基盤における明確な相違点であることを見出した。しかしながら、**LPA₁** 受容体を介するカルパイン活性化の分子機構は、今後の課題である。一方、後者では、**JNK-p-c-Jun** 経路を介するミエリン

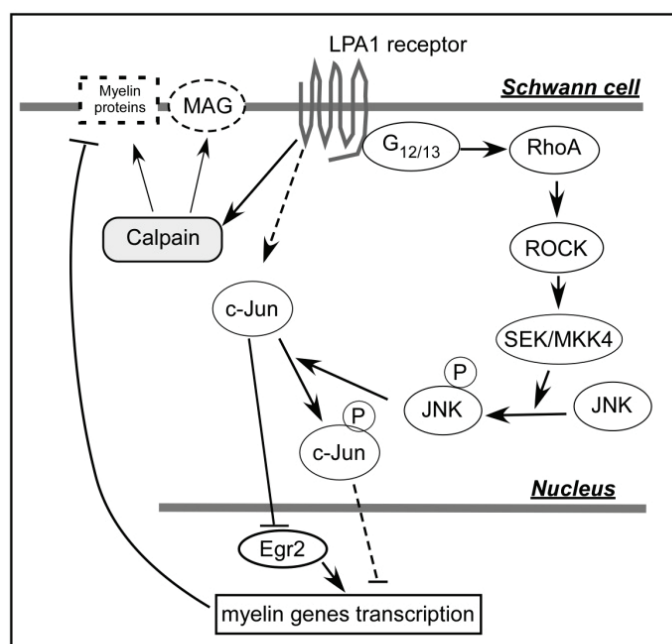


Figure4 The conclusion of the LPA-mediated demyelination.

関連遺伝子群の転写抑制を明らかにした。また、神経損傷後における **Aβ**線維の脊髄誤入力が **LPA₁** 受容体を介することを見出し、その分子基盤は、脱髓に続く神経線維の混線および神経突起進展であると考えられるが、その詳細は今後の課題である。脱髓の分子基盤を標的とした、神経因性疼痛の新たな治療戦略を提案する本研究が、今後の研究の基盤となり、更

なる発展に繋がることを期待したい。

[基礎となった学術論文]

1. Xie W., Matsumoto M., Ueda H., *Mol. Pain* 4:46 (2008)
2. Xie W., Uchida H., Nagai J., Ueda M., Chun J., Ueda H., *J. Neurochem.* **113**, 1002-1011 (2010)

[参考論文]

1. Matsumoto M, Xie W, Ma L, Ueda H., *Mol. Pain* 4(1):25 (2008)