

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成25年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	ミクログリア転写因子 IRF8 を切り口にした慢性疼痛メカニズムの解明
研究機関・ 部局・職名	九州大学・大学院薬学研究院・准教授
氏名	津田 誠

1. 当該年度の研究目的

本研究では、慢性疼痛における転写因子 IRF8 とそれによって発現制御される分子群の役割から、慢性疼痛メカニズムを解明することを目標としている。前年度までに、ミクログリアでの IRF8 が神経障害性疼痛に極めて重要な役割を担うこと、IRF8 によって IRF ファミリーの IRF5 が直接発現制御を介して発現が増加することを示し、IRF8 が IRF5 の発現を制御して最終的にミクログリアの活性化状態と神経障害性疼痛を成立させるという新たな可能性を見出した。そこで本年度は、IRF5 による神経障害性疼痛メカニズム解明に力点をおき、研究を進めた。

2. 研究の実施状況

本年度は、慢性疼痛における IRF5 の役割を明らかにする目的で、IRF5 欠損マウスを用いて詳細な解析を行った。IRF5 欠損マウスでは神経損傷後のアロディニアが有意に抑制されていた。しかし、組織炎症性の慢性疼痛や生理的な急性疼痛には影響がなかった。したがって、IRF5 の神経障害性疼痛選択的な役割が示唆される。IRF5 は細胞外からの刺激によって核内へ移行する。そこで、ミクログリアを刺激する種々のリガンドで IRF5 の核内移行を検討したところ、ATP や IFN γ 、LSP では核内移行が認められなかったが、細胞外マトリックス分子のフィブロネクチン(FN)刺激によって IRF5 が核内に移行した。FN は以前我々がミクログリアで P2X4 受容体の発現増加をさせる因子として特定した分子である。P2X4 受容体は細胞外 ATP に応答する陽イオンチャネルで、我々が神経障害性疼痛における重要分子として 2003 年に Nature 誌に報告したタンパク質である。そこで、P2X4 受容体発現増加における IRF5 の役割を検討したところ、FN 刺激後に IRF5 がマウス P2X4 受容体プロモーター領域に直接結合すること、FN による P2X4 受容体発現増加が IRF5 ノックダウンにより抑制されることを見出した。さらに、IRF8 強制発現ミクログリア細胞における P2X4 受容体発現増加も IRF5 ノックダウンで完全に抑制された。神経障害性疼痛モデルにおいても、神経損傷後の脊髄における P2X4 受容体の増加が IRF5 欠損マウスでは見られなかった。興味深い点は、P2X4 受容体以外のミクログリア分子(IL-1 β , IL-6, TNF α , P2X7 受容体など)の発現は IRF5 欠損マウスでは影響がなかった。以上の結果から、IRF8-IRF5 転写因子カスケードの駆動によりミクログリア細胞が P2X4 受容体陽性になり神経障害性疼痛を成立させるという新しいメカニズムを明らかにした(本成果は英科学誌『Nature Communications』に掲載された)。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計6件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計2件 Takahiro Masuda, Shosuke Iwamoto, Ryohei Yoshinaga, Hidetoshi Tozaki-Saitoh, Akira Nishiyama, Tak W. Mak, Tomohiko Tamura, Makoto Tsuda#, Kazuhide Inoue#: Transcription factor IRF5 drives P2X4R⁺ reactive microglia gating neuropathic pain. <i>Nature Communications</i> 5: 3771 (2014). #Corresponding authors Makoto Tsuda, Takahiro Masuda, Hidetoshi Tozaki-Saitoh, Kazuhide Inoue: P2X4 receptors and neuropathic pain. <i>Frontier in Cellular Neuroscience</i> 7: 191 (2013).</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計1件 津田 誠, 井上和秀: 慢性疼痛におけるグリア細胞の関与と治療応用への可能性. <i>臨床整形外科</i> 48: 1185-1190 (2013).</p> <p>(未掲載) 計3件 Takahiro Masuda, Nao Nishimoto, Daisuke Tomiyama, Tsuyoshi Matsuda, Hidetoshi Tozaki-Saitoh, Tomohiko Tamura, Shinichi Kohsaka, Makoto Tsuda#, Kazuhide Inoue#: IRF8 is a transcriptional determinant for microglial motility. <i>Purinergic Signalling</i> (in press). #Corresponding authors Masaya Yasui, Yoshimura Takashi, So Takeuchi, Kyohei Tokizane, Makoto Tsuda, Kazuhide Inoue, Hiroshi Kiyama: Continuous stress elicits mechanical allodynia and muscular hyperalgesia via spinal microglial activation. <i>Glia</i> (in press) Katsuyuki Matsushita, Hidetoshi Tozaki-Saitoh, Chinami Kojima, Takahiro Masuda, Makoto Tsuda, Kazuhide Inoue, Sumio Hoka: Chemokine (C-C motif) receptor 5 is an important pathological regulator in the development and maintenance of neuropathic pain. <i>Anesthesiology</i> (in press).</p>
<p>会議発表 計20件</p>	<p>専門家向け 計19件 <シンポジウム等> 津田誠, 井上和秀 「かゆみの慢性化における脊髄内メカニズム」 第 87 回日本薬理学会年会(仙台, 2014.3.19-21) 東北大学 ※シンポジウムオーガナイザー兼務 Makoto Tsuda, Kazuhide Inoue 「Purinergic signaling and chronic pain」 Areces Foundation Symposium(スペイン, 2014.3.11-12) Complutense University Makoto Tsuda, Takahiro Masuda, Hidetoshi Tozaki-Saitoh and Kazuhide Inoue 「Microglial transcription factors and neuropathic pain」 5th Asian Pain Symposium(愛知, 2013.12.18-20) 岡崎統合バイオサイエンスセンター 津田誠, 増田隆博, 井上和秀 「神経障害性疼痛に重要な脊髄ミクログリアの活性化分子メカニズム」 第 28 回日本整形外科学会基礎学術集会(千葉, 2013.10.17-18) 千葉大学 Makoto Tsuda 「World First Discovery and Research—Neuropathic Pain, Neuralgia」 12th Asia Pacific Pharmaceutical Symposium(千葉, 2013.8.22-28) 東邦大学 津田誠, 井上和秀 「神経障害性疼痛と脊髄グリア細胞」 日本ペインクリニック学会第 47 回大会(大宮, 2013.7.13-15) 獨協大学 Makoto Tsuda 「Glial cells in the spinal cord and neuropathic pain」 HBI seminar(カルガリー, 2013.5.17) University of Calgary <一般発表> 白鳥美穂, 古賀啓祐, 長谷川あゆみ, 豊永穂奈美, 岡野栄之, 蜂須賀淳一, 井上和秀, 津田誠 「脊髄後角における STAT3 依存的なアストロサイト活性化は慢性的な痒みに必要である」(優秀発表賞) 第 87 回日本薬理学会年会(仙台, 2014.3.19-21) 東北大学 増田隆博, 岩本祥佑, 吉永遼平, 齋藤秀俊, 西山晃, Tak W. Mak, 谷口維紹, 田村智彦, 津田誠, 井上和秀 「IRF5 は神経障害性疼痛を誘発する P2X4 受容体発現ミクログリアを直接制御している」 第 87 回日本薬理学会年会(仙台, 2014.3.19-21) 東北大学 富山大輔, 津田誠, 井上和秀 「末梢神経損傷後に活性化する脊髄ミクログリアへの骨髄由来細胞の寄与」 第 87 回日本薬理学会年会(仙台, 2014.3.19-21) 東北大学 松田烈志, 齋藤秀俊, 増田隆博, 西本奈央, 田村智彦, 高坂新一, 津田誠, 井上和秀 「Transcriptional regulation of microglial motility by IRF8」 第 87 回日本薬理学会年会(仙台, 2014.3.19-21) 東北大学 松下克之, 小嶋ちなみ, 齋藤秀俊, 津田誠, 外須美夫, 井上和秀 「ケモカイン受容体 CCR5 の神経障害性疼痛への関与」 第 87 回日本薬理学会年会(仙台, 2014.3.19-21) 東北大学 小嶋ちなみ, 齋藤秀俊, 川田竜, 津田誠, 井上和秀 「神経障害後の脊髄ミクログリアにおける MafB 発現誘導メカニズムの解析」(優秀発表賞) 第 66 回日本薬理学会西南部会(福岡, 2013.11.16) 福岡大学</p>

様式19 別紙1

	<p>岩本祥佑, 増田隆博, 吉永遼平, 齋藤秀俊, 田村智彦, 津田誠, 井上和秀 「転写因子 IRF5 は脊髄ミクログリア P2X4 受容体の発現増加を介して神経障害性疼痛発症維持に関与する」 第 66 回日本薬理学会西南部会(福岡, 2013.11.16) 福岡大学</p> <p>高露雄太, 津田誠, 坂口瑛美, 齊藤秀俊, 岡野栄之, 井上和秀 「神経障害性疼痛におけるアストロサイト STAT3 シグナルの役割」 生体機能と創薬シンポジウム(福岡, 2013.8.29-30) 九州大学</p> <p>津田 誠, 増田隆博, 岩本祥佑, 齊藤秀俊, 田村智彦, 井上和秀 「Role of IRF5 in P2X4R upregulation in microglia and neuropathic pain」 Neuro2013 (京都, 2013.6.20-23) 理化学研究所, 名古屋大学, NTT コミュニケーションズ基礎研</p> <p>高露雄太, 津田誠, 坂口瑛美, 齊藤秀俊, 岡野栄之, 井上和秀 「Astrocytic STAT3 is a crucial factor for reactive astrocytes after nerve injury and neuropathic pain」 Neuro2013 (京都, 2013.6.20-23) 理化学研究所, 名古屋大学, NTT コミュニケーションズ基礎研</p> <p>眞嶋悠幾, 井川ありさ, 井手聡一郎, 津田誠, 井上和秀, 南雅文 「Chronic pain increases neurokinin 1 receptor mRNA expression in the bed nucleus of stria terminalis: Roles of neurokinin 1 receptor in the anxiety-like behavior」 Neuro2013 (京都, 2013.6.20-23) 理化学研究所, 名古屋大学, NTT コミュニケーションズ基礎研</p> <p>齊藤秀俊, 増田潤哉, 増田隆博, 津田誠, 井上和秀 「Transcription factor MafB mediates activation process of spinal microglia that contributes to neuropathic pain development」 Neuro2013 (京都, 2013.6.20-23) 理化学研究所, 名古屋大学, NTT コミュニケーションズ基礎研</p> <p>一般向け 計1件</p> <p>津田誠 「ミクログリア転写因子 IRF8 を切り口にした慢性疼痛メカニズムの解明」 FIRST シンポジウム「科学技術が拓く 2030 年」へのシナリオ(東京, 2014.2.28, 3.1)</p>
図書 計2件	<p>Takahiro Masuda, Makoto Tsuda, Hidetoshi Tozaki-Saitoh, Kazuhide Inoue: Intrathecal infusion of microglia cells. <i>Methods in Molecular Biology</i> 1041. Springer pp. 291-294 (2013).</p> <p>Takahiro Masuda, Makoto Tsuda, Hidetoshi Tozaki-Saitoh, Kazuhide Inoue: Lentiviral transduction of cultured microglia. <i>Methods in Molecular Biology</i> 1041. Springer pp. 63-67 (2013).</p>
産業財産権 出願・取得状況 計0件	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
Webページ (URL)	<p>薬学研究院: http://www.phar.kyushu-u.ac.jp/</p> <p>薬理学分野: http://yakkou.phar.kyushu-u.ac.jp/</p>
国民との科学・技術対話の実施状況	<p>2014年2月28日にベルサール新宿グランド(東京, 新宿)で開催された「FIRST シンポジウム「科学技術が拓く2030年」へのシナリオ」にて、「ミクログリア転写因子 IRF8 を切り口にした慢性疼痛メカニズムの解明」という演題名でポスター発表した。</p>
新聞・一般雑誌等掲載 計0件	
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成25年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	121,000,000	86,100,000	34,900,000	0	
間接経費	36,300,000	25,830,000	10,470,000	0	
合計	157,300,000	111,930,000	45,370,000	0	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	58,081	34,900,000		34,958,081	34,958,081	0	
間接経費	2,803	10,470,000		10,472,803	10,472,803	0	
合計	60,884	45,370,000	0	45,430,884	45,430,884	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	31,212,569	倒立顕微鏡、対物上下動式正立顕微鏡、ハッチクランプ用増幅器、マルチマイクロコンピューターシステム、光刺激用レーザー、試薬、実験器材、動物等
旅費	1,410,120	研究打合せ、研究成果発表旅費等
謝金・人件費等	708,158	短期雇用職員(実験動物飼育ケージ等清掃)人件費、研究指導謝金等
その他	1,627,234	動物飼育費用、動物輸送費用、論文掲載費用、学会参加費等
直接経費計	34,958,081	
間接経費計	10,472,803	
合計	45,430,884	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関名
倒立顕微鏡 AxioObserver.Z1	独国カルツァイスマイ クロスコー社製	1	6,533,100	6,533,100	平成25/8/21	九州大学
研究用対物上下動 式正立顕微鏡FN1	株式会社ニコン製	1	5,838,000	5,838,000	平成25/9/27	九州大学
ハッチクランプ用増幅 器	米国Molecular Devices社製	1	4,998,000	4,998,000	平成25/9/20	九州大学
マルチマイクロコンピュー ターシステム	米国Sutter Instrument社製 MPC-385-2	1	3,213,000	3,213,000	平成25/7/26	九州大学
光刺激用レーザー	COME2- LB473/532/100	1	949,620	949,620	平成25/4/16	九州大学