

論文内容の要旨

TSLP in DRG neurons causes the development of neuropathic pain
through T cells

DRG ニューロンの TSLP は T 細胞を介して
神経障害性疼痛の発症を引き起こす

日本医科大学大学院医学研究科 疼痛制御麻酔科学分野

大学院生 井野 佑佳

Journal of Neuroinflammation (掲載予定)

【背景】

末梢神経損傷は、神経炎症の誘発を介して難治性の神経障害性疼痛を発症する。神経障害性疼痛は治療に難渋する病態であるが、小児においては神経障害性疼痛の発症率は低く、げっ歯類のモデル動物においてもほとんどみられない。しかし、幼若期の神経障害性疼痛抵抗性のメカニズムはほとんど明らかでない。

TSLP はアトピー性皮膚炎や喘息などのアレルギー性の炎症に関わるサイトカインであり、TSLPR と IL-7R から成る受容体複合体への結合を介して様々な免疫細胞に作用する。T ヘルパー細胞は神経傷害後のアロディニアの発症に関与するが、TSLP は T 細胞の遊走を直接的に、もしくは樹状細胞を通して間接的に刺激することが知られている。

本研究では、神経損傷後の幼若期ラットと発達後ラットの後根神経節 (DRG) における遺伝子発現変化の違いを網羅的に解析することで、成体の神経障害性疼痛の新規治療標的として TSLP (Thymic stromal lymphopoietin) を同定し、TSLP が DRG への T 細胞浸潤を制御することにより神経障害性疼痛の発症に寄与することを明らかにした。

【方法】

幼若(生後7日)および発達後(5—6週齢)の Sprague-Dawley ラット (オスおよびメス) を用いて、脛骨神経、総腓骨神経を結紮・切離し、腓腹神経は傷つけずに残す spared nerve injury (SNI) モデルを作製した。疼痛の評価は、後肢足底への von Frey 繊維による刺激により行った。RNA シーケンスにより、DRG における遺伝子発現変化を網羅的に解析した。発現変化した遺伝子が関わる機能はバイオインフォマティクス (Ingenuity Pathway Analysis) により解析した。TSLP やその受容体およびサイトカイン遺伝子の発現量は定量的 PCR で調べた。TSLP および TSLP siRNA は脊髄髄腔内に留置したカテーテルから投与し、FTY720 は腹腔内投与を行った。蛍光免疫染色を用いて、T 細胞浸潤を評価した。TSLP と TSLPR、IL-7R の発現分布は *in situ hybridization* を用いて調べた。また、DRG の T 細胞はフローサイトメトリーで分離した。

【結果】

発達後のラットでは、SNI により速やかに疼痛閾値が低下した。幼若期のラットでは、SNI により疼痛閾値は変化しなかったが、発達後に Sham と比較して疼痛閾値が低かった。

幼若期と発達後の DRG において、SNI によって誘発される遺伝子発現変化の違いを RNA シーケンスにより調べた。さらにバイオインフォマティクスで解析すると、発現に違いのある遺伝子には免疫や炎症に関わるものが多いことが明らかになった。中でも TSLP は発達後ラットにおいて神経障害後早期から著明に発現が増加し、幼若期ラットでは増加しなかった。

これ以降は TSLP の解析を発達後のラットで行った。TSLP を脊髄髄腔内投与したところ、疼痛が引き起こされた。一方で、予防的な TSLP siRNA の髄腔内投与により SNI による神経障害性疼痛の発症が抑制された。しかしながら、神経障害性疼痛発症後での TSLP siRNA の髄腔投与では疼痛は抑制されなかった。

TSLP 受容体サブユニットである TSLPR と IL-7R はどちらも DRG に発現していたが、SNI による発現変化はみられなかった。また、TSLP 受容体の発現は非 T 細胞において多くみられ

たが、DRG の T 細胞においても検出された。

SNI と同様に TSLP の髄腔内投与は DRG への T 細胞浸潤を促進していた。一方で、TSLP siRNA 髄腔投与は SNI による T 細胞浸潤を抑制した。また、TSLP はカテプシン S、IL-24、CXCL13 など、T 細胞の遊走に関わる遺伝子の発現を誘導し、TSLP siRNA はこれらの遺伝子の発現上昇も阻害した。

また、FTY720 を腹腔内投与して T 細胞を減らした後は、TSLP の髄腔内投与による疼痛の発症が抑制された。

【考察】

TSLP は T 細胞に影響を与えるいくつかの遺伝子の発現を誘導し、DRG へ T 細胞を浸潤させることで、神経障害性疼痛を発症していると考えられた。TSLP はすでに発症した疼痛を抑制しなかったことから、神経障害性疼痛の発症に重要と考えられる。DRG から放出された TSLP は T 細胞に直接作用した可能性や DRG 神経自身やマクロファージなどへの作用を通して間接的に作用した可能性が考えられる。実際に、T 細胞を活性化することが知られているカテプシン S や IL-24 や CXCL13 など TSLP が誘導することによって T 細胞浸潤が制御された可能性も示された。

TSLP が神経障害性疼痛に寄与することは、幼若期の神経障害性疼痛の抵抗性に着目したことにより見いだされた。幼若期と発達後において、炎症に関わる遺伝子の発現に差があり、DRG における炎症反応を抑制することが、神経障害性疼痛の治療につながる可能性があると考えられる。臨床においては、抗 TSLP モノクローナル抗体であるテゼベルマブは、重症喘息を対象とした第 III 相臨床試験とアトピー性皮膚炎を対象とした第 II a 相臨床試験で有効性と安全性が確認されていることから、抗 TSLP 療法は成人の神経障害性疼痛の発症に対する治療法となりうると思われる。

【結語】

TSLP は T 細胞の DRG への浸潤を制御することで、神経障害性疼痛の発症に寄与している。