

最新の痛み分子基盤 —Capsaicin 受容体を中心に—

金銅 英二

松本歯科大学大学院顎口腔機能制御学講座

Molecular Basis of Pain

EIJI KONDO

*Department of Oral & Maxillofacial Biology, Graduate School of Oral Medicine Oral
Science Course, Matsumoto Dental University*

Summary

Pain is associated with complicated psychological effects. Elusion and overcoming pain is a big challenge in Medicine. In recent years, pain research has greatly advanced, because, the structure and function of neurotransmitters and their receptors have been analyzed by molecular biology techniques. The cloning of the capsaicin receptor especially is a current topic for pain researchers (Julius et al. 1997). In this review, I collect findings on the molecular basis of pain, capsaicin, transient receptor potential super family, and trigeminal pain pathway.

はじめに

人類創世以来存在する痛みは、単なる生体の警鐘信号におさまらず、心理面や精神面さらには社会的因子をも含む複雑な心の表現でもあるとされ、痛みのメカニズム解明と痛みの克服は我々の重大な課題と言える。近年、痛み研究が大幅に進歩しそのメカニズムも次第に明らかになりつつある。その要因として神経伝達物質および神経伝達物質受容体、さらには細胞内情報伝達分子の構造や機能が分子生物学的研究の進歩により急速に解明されたからである。特に1997年、Juliusらによって唐辛子の主成分である capsaicin (カプサイシン) の受容体がクローニングされたことは痛

みの研究に大きな前進をもたらした¹⁾。今回、痛みの種類、痛みの伝達経路およびその情報伝達に関与している TRP (transient receptor potential) スーパーファミリーの capsaicin 受容体を中心にまとめる。

1. 痛みの種類

痛みは主観的なものであり、その種類は痛みの訴えの数だけ存在するといっても過言ではない。この多様な痛みを解明し理解して行くためにはある程度の分類が必要となってくる。痛みの定義としては国際疼痛学会 (International association for the study of pain : IASP) が「組織の実質的ないし潜在的傷害と関連した、あるいはこのよう

な傷害と関連して述べられる不快な感覚的、情動的体験」としている。そして、痛みは通常、急性疼痛と慢性疼痛に分類される。急性疼痛（急性痛）とは、生体の警告信号と考えられている。臨床的には侵害刺激による瞬間的な痛みや、組織損傷や炎症により数日間持続する痛みなどをさす。つまり急性痛は末梢の侵害受容器が作動している痛みである。これに対して慢性疼痛（慢性痛）は、疼痛伝導メカニズム自体が異常となり、通常の治癒経過以上の期間を超えた持続的な痛みとなる。臨床での具体的な疾患としてCRPS（complex regional pain syndrome：カウザルギー）、帯状疱疹後神経痛、幻肢痛、糖尿病性ニューロパシー、片頭痛、筋緊張性頭痛、むち打ち症、さらに顎顔面領域においては非定型顔面痛（三叉神経痛）、幻歯痛などが挙げられる。慢性痛の場合、遷延化すると知覚系のみならず感情、行動、生活にも影響を及ぼすことになる。また、慢性疼痛患者の特徴として抑うつ、不安、心気症傾向などを身体の変化に転換する身体化傾向や怒りの抑圧などが認められる。これら抑うつや不安の感情は痛み閾値を下げ痛みを増強している。現時点においては、慢性疼痛に関するメカニズムや治療法、対策などまだ確立されておらず、歯科医学教育・医学教育・看護教育などの分野でも慢性疼痛の概念が教育される段階には至っていない。

2. 痛みの伝達経路

口腔をはじめとする顎顔面領域における痛みの伝達には三叉神経が関与する。三叉神経節には痛み、触覚、温覚など一般体性感覚の伝達に関与する神経細胞が存在している（Fig. 1）。一方、咀嚼筋の筋紡錘などの深部知覚に関与する神経細胞は三叉神経中脳路核に存在している（Fig. 1）。三叉神経の中脳核は延髄の橋 Pons から三叉神経主知覚核、三叉神経脊髄路核などの神経核に入力しており、これらの中でも特に痛みは、三叉神経脊髄路核に入力されている。三叉神経脊髄路核に入力された痛み情報は二次ニューロンに伝達され、その後二次ニューロンによって投射先の視床の後内側腹側核（posteromedial ventral nucleus：VPM）に入力される。さらに視床 VPM の三次ニューロンは大脳皮質の感覚野に投射しこの部位で痛みを認知している（Fig. 1下図）。つまり、顎

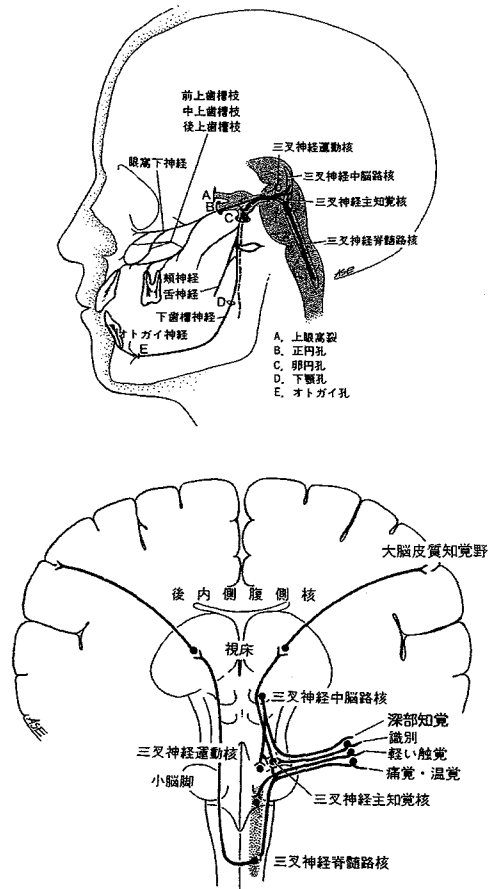


Fig.1 : Scheme of oral and maxillofacial sensory pathway

顔面領域の痛み情報は三叉神経（一次ニューロン）から二次ニューロン、三次ニューロンと高次中枢へ中継され、大脳皮質感覚野にて認知することになる。これらの中継点では、介在神経や下行性抑制系などのモジュレーション回路も存在しており複雑な神経回路網を呈しているといえる。

3. 自律神経系の関与

さらに近年、神経部分損傷などによって交感神経の知覚伝達への関与も明らかにされた。これは神経部分損傷の際、残存している知覚神経に α アドレナリン受容体が発現し（Fig. 2A）、末梢組織で交感神経終末から放出されるノルアドレナリンに対して感受性を示すようになり、この現象に伴い一次から二次ニューロンに持続的な刺激が入

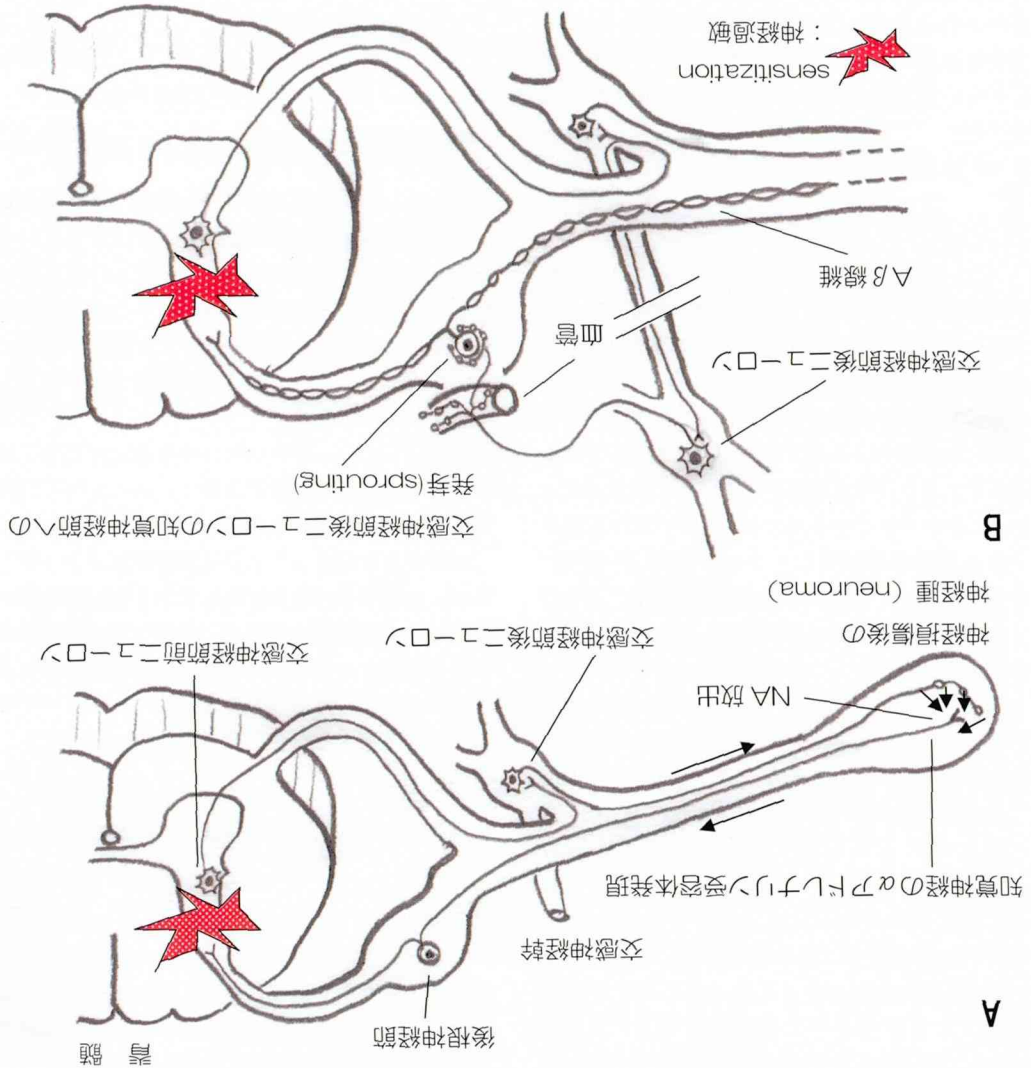


Fig.2 : Model to explain the hyperalgesia that develops in sympathetically maintained pain (SMP). In SMP, neuroma develop a-adrenergic sensitivity, such that the release of noradrenaline by the sympathetic nervous system produces spontaneous activity in the neuroma. This spontaneous activity maintains the CNS, spinal cord, in a sensitized state. Pain to light touch (allodynia) is signaled by activity in low threshold mechanoreceptors in the presence of a sensitized central pain-signaling neuron. Nerve injury or inflammation can also lead to development of ectopic activity in primary afferent fibres as well as in the dorsal root ganglion. (文献5より改変)

力されて二次ニューロン自体がsensitization (過敏状態) を惹起し、本来痛みとはならない緩やかな刺激(軽い触覚や温覚)が増強され痛みとして伝達されるアロディニア(感覚異常)という症状を呈する²³⁾。このような痛みを交感神経依存性疼痛(sympathetically maintained pain: SMP)と呼ぶ。形態学的にも神経部分損傷後の知覚神経において、二次ニューロン自体が発芽(sprouting)細胞周囲に交感神経の終末が発芽(sprouting)してくるアーク(Fig.2B)や脊髄後角において二次ニューロンの発芽(sprouting)による神経回路網の形態学的変化を示すアークも報告されている²⁴⁾。しかしながらこの形態学的アークに関して疑問視する研究グループも多い。我々は臨床において、古くから星状神経節ブロック(stellate

ganglion block: SGB) など交感神経節の局所麻酔薬による一時的な遮断 (block) をおこない慢性的な痛みを改善してきた。三叉神経痛、ヘルペス後疼痛などのニューロパチックペインには、交感神経系の知覚神経への密接な関与が示唆される。

4. 神経伝達物質・神経伝達物質受容体・細胞内情報伝達分子

先述の痛みの伝達経路における一次・二次・三次とニューロンを経由していく際、これらのシナプス間隙では神経伝達物質の放出および神経伝達物質受容体との結合、さらに神経細胞体での細胞内情報伝達分子により核内で遺伝子発現などが生じる。その細胞内変化によって蛋白合成が進み、合成された神経伝達物質がキネシンなどの軸索輸送によってシナプス終末に運ばれ小胞内で熟成された後、神経終末から次のニューロンへと放出される。

これまでに神経伝達物質としてアミン類、アミノ酸類、神経ペプチドなど多くの物質が明らかにされている。またこれら物質と細胞膜において特異的に結合する神経伝達物質受容体の存在も明らかにされている。この受容体には多くのサブタイプが存在し、機能の多様化に貢献している⁹⁾。

5. カプサイシンとカプサイシン受容体

唐辛子 (hot chilli pepper) は、元々アメリカ原生の植物で古来からアステカ人が食用にしていたものがコロンプスの新大陸発見によりヨーロッパにもたらされ、世界中に広がったとされる。カプサイシンは唐辛子の主成分であり化学構造に vanillyl (バニリル) 基を有する特徴を持つ。(Fig. 3) また、このバニリル基を有する類縁物質を vanilloid (バニロイド) と呼ぶ。

1997年、カプサイシン投与下に齧歯類後根神経節 cDNA ライブラリーを形質導入した HEK 263 細胞の細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を指標とした expression cloning 法にてカプサイシン受容体遺伝子がクローニングされた¹⁾。カプサイシン受容体の立体構造は、アミノ酸配列より 6 回膜貫通型のイオンチャンネル (Fig. 4 A) である。カプサイシン受容体は当初 vanilloid receptor 1 (VR1) と命名された。その後、ショウジョウバエ網膜の光受容

器異常変異体の原因遺伝子として *trp* 遺伝子が同定され、この遺伝子がコードするタンパク質 TRP は Ca^{2+} イオンチャンネルであることが明らかにされた。さらにその後、多数の TRP homologue がクローニングされ、これらは TRP スーパーファミリーと呼ばれた⁶⁾⁷⁾。この TRP スーパーファミリーには 6 種のサブファミリー (TRPC, TRPV, TRPM, TRPN, TRPP, TRPA) が存在する。先述のカプサイシン受容体 VR1 は TRPV に属しており、現在は TRPV1 と呼ばれている。

カプサイシンは侵害受容ニューロンを特異的に depolarize させて細胞内の Ca^{2+} 濃度の上昇をもたらす。その後の詳細な TRPV1 (VR1) の解析 (excised patch) によって外向き整流性で Ca^{2+} 透過性の高い非陽性イオンチャンネルでカプサイシンが直接チャンネル活性化をもたらすことが明らかにされた⁸⁾。さらに TRPV1 は熱刺激 (43°C 以上) によっても活性化されることや pH 低下が直接 TRPV1 を活性化することや pH 低下自体が TRPV1 活性化に直接作用することも明らかになった (Fig. 4 B)⁹⁾。43°C という温度は熱刺激を痛みとして感じる閾値に一致する。

6. 炎症とカプサイシン受容体

炎症を惹起した場合、炎症組織の pH 低下をもたらすことは既に知られている。また、炎症関連物質により炎症部位での毛細血管拡張による発赤・腫脹を惹起することも既知のことである。TRPV1 の熱刺激や pH 低下に対する応答から炎症発痛時の生体調節にカプサイシン受容体が密接に関連していることがわかる。加えて炎症関連物質自体が TRPV1 の活性を制御するデータも示されている¹⁰⁾。炎症関連物質の ATP やブラジキニンが先述の TRPV1 の温度閾値を 42°C から 35°C・32°C に低下させ、これには ATP 受容体の P2Y やブラジキニン受容体の下流に存在する細胞内情報伝達系の PKC 活性による TRPV1 のリン酸化が関与している¹¹⁾。そして、ラットの後根神経節において TRPV1 と P2Y2 の共存発現が形態学的に証明され炎症関連物質との関連を証明している。

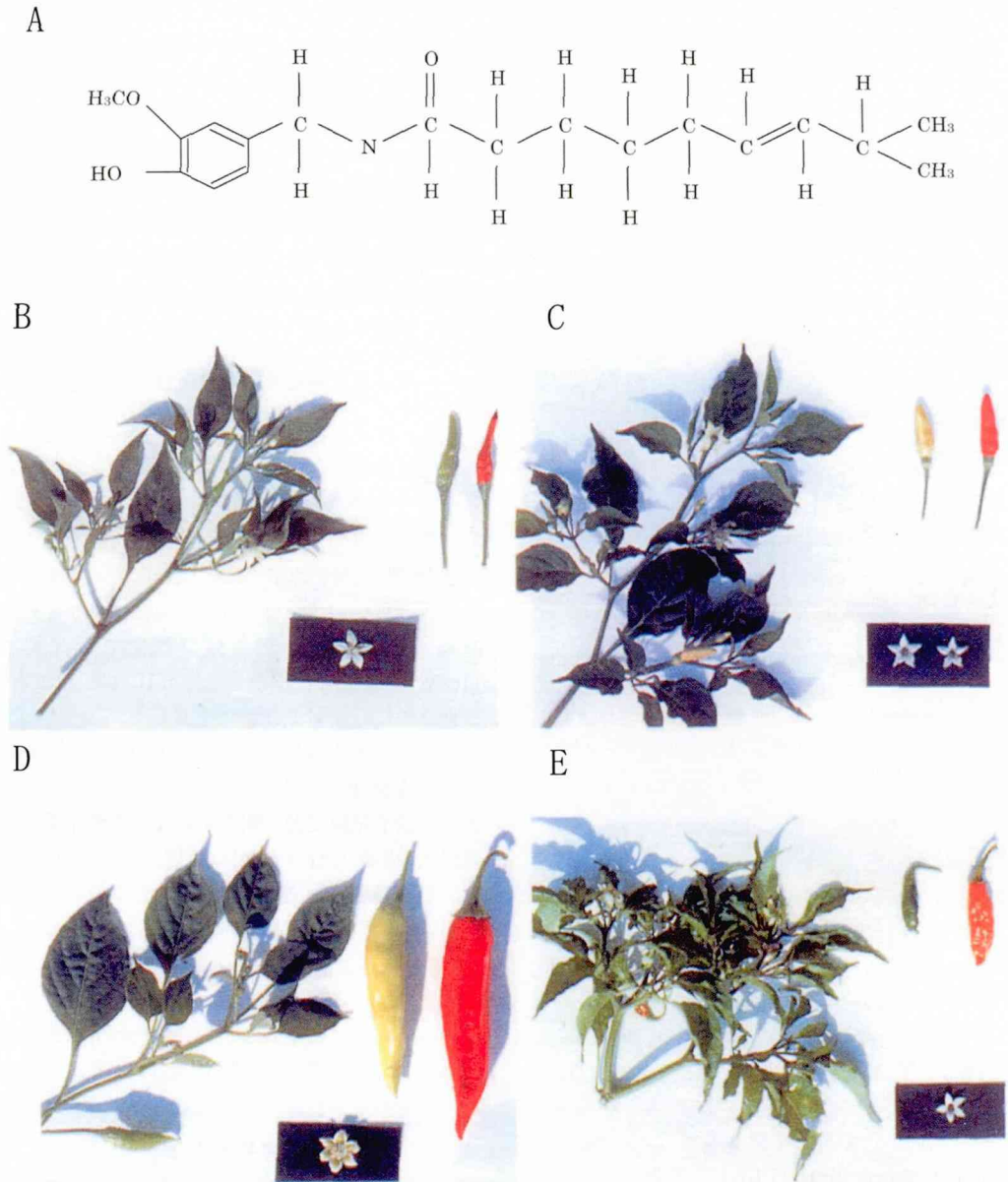


Fig.3 : A. Chemical formula of capsaicin. B. *Capsicum annuum* var. *fasciculatum* "Taka-no-tsume" C. *Capsicum frutescens* "Tabasco" D. *Capsicum pendulum* "Crystal" E. *Capsicum sinense*.

7. カプサイシン鎮痛作用

カプサイシンには痛みの惹起だけでなく鎮痛作用も有し、海外ではすでに臨床応用もされている。これは、カプサイシン長時間投与や繰り返し投与により侵害受容ニューロンが脱感作されるためで Ca^{2+} 調節やリン酸化・脱リン酸化などの関

与が示唆されてきたが、PKA による TRPV1 のリン酸化やカルモジュリン (CaM) の TRPV1 への結合が脱感作を生じることが明らかにされた¹²⁾。また、脱感作後の TRPV1 再感作化にはカルモジュリン依存性キナーゼ (CaMKII) が関与することも証明された¹³⁾。

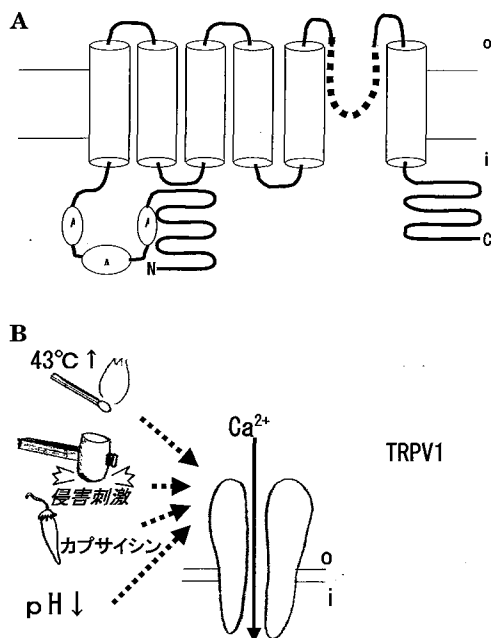


Fig.4 **A**: Predicted membrane topology and domain structure of TRPV1. Outer (o) and inner (i) plasma membrane double straight lines are indicated. **B**: Scheme of TRPV1's function.

8. TRP スーパーファミリー

TRP スーパーファミリーには6種のサブファミリー (TRPC, TRPV, TRPM, TRPN, TRPP, TRPA)が存在することは既に述べた。このうち痛みに関連していると思われるものは、TRPV2とTRPV4, TRPM8, TRPA1などである。TRPV2はTRPV1とアミノ酸レベルで50%のホモロジー (相同性) を有しており当初は vanilloid receptor-like protein 1 (VRL1) と呼ばれた。TRPV2は、カプサイシンや陽イオンに対する感受性は持たず約52℃の温度で活性化されAδ線維に発現している¹⁰。TRPV4は、低浸透圧で活性化される受容体で三叉神経節、後根神経節、視床下部などに局在する。炎症時の浸透圧変化や圧受容器としての機能も示唆されている¹⁹⁻¹⁸。TRPM8は menthol や icillin, 8~28℃の冷刺激で活性化する。TRPM8は当初 cold-and menthol-sensitive receptor 1 (CMR1) として単離された。TRPM8は外向き整流性Ca²⁺高透過性非選

択的陽イオンチャンネルで三叉神経節や後根神経節に発現していることが明らかになった¹⁹⁾²⁰⁾。また、TRPA1はANKTM1として単離され17℃以下の冷刺激で活性化することが証明された²¹⁾。その後、mustardやマリファナの成分である allyl-isothiocyanate, tetrahydrocannabinol で活性化することが明らかになった²²⁾。我々はこれまでの研究において炎症モデル動物作成時に mustard oil を投与する方法を用いており、TRPA1の関連性が強く示唆された。

9. 三叉神経系における遺伝子動態

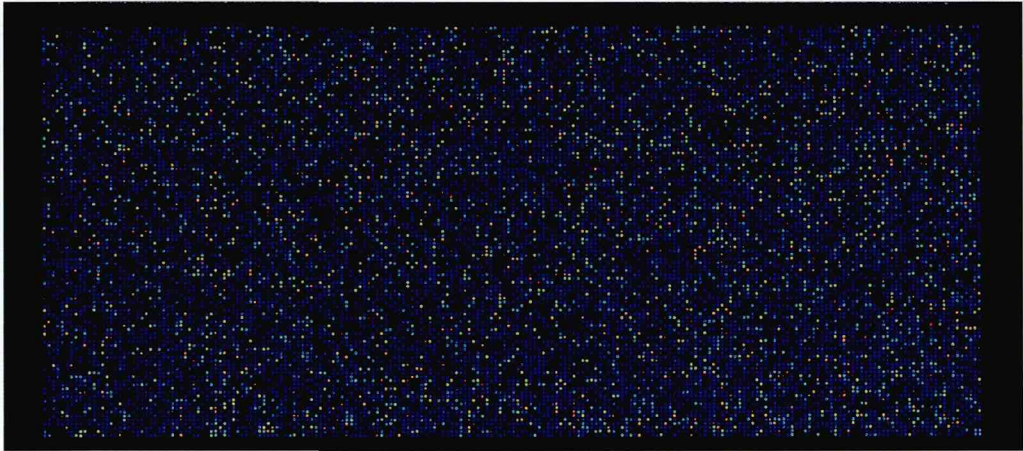
現在、我々はラット上口唇に起炎症物質を投与して三叉神経節における炎症発痛関連遺伝子の動態解析をcDNAマイクロアレイにて解析している。我々の用いた方法では20000種以上の遺伝子動態が同時に解析可能となる (Fig.5)。実際、炎症発現3日後のラット三叉神経節で約500種以上の遺伝子動態変動が確認され中でも先述のTRPV1の再感作に参与するCaMKIIやTRPV4の動態変化も証明でき特に注目している。TRPV4は浸透圧とも関連しており、TRPV4の炎症時の詳細な機能解析など推進する必要がある。今後、遺伝子発現変動が明らかになった分子群の経時変化の解析を行うと共に各種拮抗薬などの投与による神経活動電位の測定などをおこない炎症発痛関連物質の特定を推進してゆく予定である。

10. さいごに

痛み研究は、近年の分子生物学的研究の進歩によって大きな発展を遂げたことは冒頭にも述べた。しかしながら、明らかにされた痛みの分子メカニズムと実際の生体での痛み症状が完全に一致して解明されたわけではない。痛みは主観的なものであるが故にその解明にも多くの課題を残している。in vivo と in vitro の実験データ、更には行動学的なデータが一致し様々な痛みの症状に対するメカニズムが明らかになり、より有効な治療法や副作用のない有効な治療薬が開発され慢性痛に苦しむ人々が痛みから解放される日が一日も早く来ることを望んで止まない。

稿を終えるに臨み本誌説をまとめる機会を与えていただいた松本歯学編集委員の諸先生方に心か

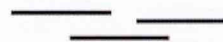
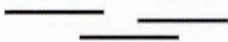
A



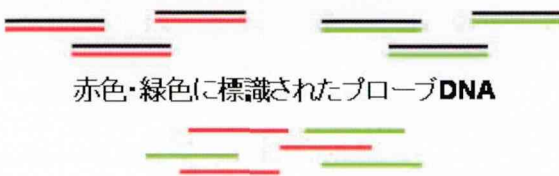
B DNAマイクロアレイによる遺伝子解析

炎症・発痛側三叉神経節
から抽出したmRNA

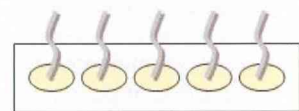
対側及び未処置動物三叉神経節
から抽出したmRNA



蛍光標識されたヌクレオチドを用いて逆転写反応
(元のmRNAと相補的なDNA鎖をつくる)

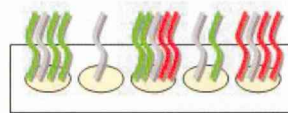


20,500遺伝子

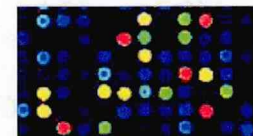


DNAチップ

ハイブリダイゼーション



蛍光パターン ● ● ● ● ●



実際の蛍光パターン

Fig.5 A : c DNA chip for c DNA micro array, can detect differential expression of mRNAs in the rat trigeminal ganglion between ipsilateral and contralateral. B : Scheme of procedure for c DNA micro array system.

ら感謝申し上げます。

文 献

- 1) Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD and Julius D (1997) The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* **389** : 816-24.
- 2) Wall PD and Melzack R (1999) Text book of pain fourth edition. : 21-31. Churchill Livingstone, Edinburgh.
- 3) Koltzenburg M (1996) Afferent mechanisms meditating pain and hyperalgesia in neuralgia. In: Janig W, Stanton-Hicks M (eds) Reflex sympathetic dystrophy - a reappraisal. IASP Hicks, Seattle : 123-50.
- 4) Wall PD and Melzack R (1999) Text book of pain fourth edition. : 165-81. Churchill Livingstone, Edinburgh.
- 5) 遠山正彌編集 (2004) 分子脳・神経機能解剖学, 初版: 13-28. 金芳堂, 東京.
- 6) Julius D and Basbaum AI (2001) Molecular mechanisms of nociception. *Nature* **413** : 203-10.
- 7) Numazaki M and Tominaga M (2003) Molecular mechanisms of nociception and thermosensation: Structures, expressions and functions of capsaicin receptor and its homologues. *Seikagaku* **75** : 359-71.
- 8) Tominaga M, Caterina MJ, Malmberg AB, Rosen TA, Gilbert H, Skinner K, Raumann BE, Basbaum AI and Julius D (1998) The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli. *Neuron* **21** : 531-43.
- 9) Tominaga M, Wada and Masu M (2001) Potentiation of capsaicin receptor activity by metabotropic ATP receptors as a possible mechanism for ATP-evoked pain and hyperalgesia. *Proc Natl Acad Sci USA* **98** : 6951-6.
- 10) Sugiura T, Tominaga M, Katsuya H and Mizumura K (2002) Bradykinin lowers the threshold temperature for heat activation of Vanilloid receptor 1. *J Neurophysiol* **88** : 544-8.
- 11) Moriyama T, Iida T, Kobayashi K, Higashi T, Fukuoka T, Tsumura H, Leon C, Suzuki N, Inoue K, Gachet C, Noguchi K and Tominaga M (2003) Possible involvement of P₂Y₂ metabotropic receptors in ATP-induced transient receptor potential vanilloid receptor 1-mediated thermal hypersensitivity. *J Neurosci* **23** : 6058-62.
- 12) Numazaki M, Tominaga T, Takeuchi K, Murayama N, Toyooka H and Tominaga M (2003) Structural determinant of TRPV1 desensitization interacts with calmodulin. *Proc Natl Acad Sci USA* **100** : 8002-6.
- 13) Jung J, Shin JS, Lee SY, Hwang SW, Koo J, Cho H and Oh U (2004) Phosphorylation of vanilloid receptors by Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase II regulates its vanilloid binding. *J Biol Chem* **279** : 7048-54.
- 14) Caterina MJ, Rosen TA, Tominaga M, Brake AJ and Julius D (1999) A capsaicin-receptor homologue with a high threshold for noxious heat. *Nature* **398** : 436-41.
- 15) Liedtke W, Choe Y, Martin-Renom MA, Bell AM, Denis CS, Sali A, Hudspeth AJ, Friedman JM and Heller S (2000) Vanilloid receptor-related osmotically activated channel (VR-OAC), a candidate vertebrate osmoreceptor. *Cell* **103** : 525-35.
- 16) Strotmann R, Harteneck C, Nunnenmacher K, Schultz G and Plant TD (2000) OTRPC4, a non-selective cation channel that confers sensitivity to extracellular osmolarity. *Nat Cell Biol* **2** : 695-702.
- 17) Guler AD, Lee H, Iida T, Shimizu I, Tominaga M and Caterina M (2002) Heat-evoked activation of the ion channel, TRPV4. *J Neurosci* **22** : 6408-14.
- 18) Watanabe H, Veriensi J, Suh SH, Benham CD, Droogmans G and Nilius B (2002) Heat-evoked activation of TRPV4 channels in a HEK 293 cell expression system and in native mouse aorta endothelial cells. *J Biol Chem* **277** : 47044-51.
- 19) McKemy DD, Neuhausser WM and Julius D (2002) Identification of a cold receptor reveals general role for TRP channels in thermosensation. *Nature* **416** : 52-8.
- 20) Peier AM, Moqrich A, Hergarden AC, Reeve AJ, Andersson DA, Story GM, Easley TJ, Dragoni I, McIntyre P, Bevan S and Patapoutian A (2002) A TRP-like channel that senses cold stimuli and menthol. *Cell* **108** : 705-15.
- 21) Story GM, Peier AM, Reeve AJ, Eid SR, Mosbacher J, Hricik TR, Earley TJ, Hergarden AC, Andersson DA, Hwang SW, McIntyre P, Jegla T, Bevan S and Patapoutian A (2003) ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures. *Cell* **112** : 819-29.
- 22) Jordt SE, Bautista DM, Chuang HH, McKemy DD, Zygmunt PM, Hogestatt ED, Meng ID and

Julius D (2004) Mustard oils and cannabinoids
excite sensory nerve fibers through the TRP

channel ANKTM 1. *Nature* **427** : 260-5.