

ショウジョウバエ侵害受容におけるストレスと下行性抑制機構の関係性

橋本 佳成 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 本庄 賢 (筑波大学 生命環境系)

《背景》

痛みは我々ヒトにとって、危険な刺激から身体を保護するために重要な感覚である。しかし、本来無害な刺激から痛みを感じる状況は、我々の社会生活を脅かす、重大な健康問題となり得る。国際疼痛学会の調査によれば、世界人口のおよそ 20% が慢性痛に苦しんでいる¹⁾。つまり、痛みは私達にとって、身近で重要な問題である。

下行性疼痛抑制機構は、脳からの下行性シグナルにより脊髄での侵害受容シグナルを抑制する哺乳類の疼痛制御において重要な役割を果たす経路である。この下行性抑制機構の機能異常は慢性疼痛疾患の原因の一つであると指摘されており、また下行性抑制機構の機能異常にはストレスが関与することが指摘されているものの、その詳しいメカニズムについてはよくわかっていない²⁾。下行性抑制機構は複数の脳領域からの入力により制御される複雑な神経経路であり、哺乳類の複雑な中枢神経系における下行性抑制機構の詳細な解明は、非常に挑戦的な課題と言える。

そこで本研究では、哺乳類よりも単純な神経系を持ち、かつ、遺伝学的手法を用いて組織特異的な遺伝子機能、神経機能の操作が容易なショウジョウバエにおいて、下行性抑制機構とストレスの関係性を検討した。所属研究室において、ショウジョウバエ幼虫における下行性侵害受容抑制機構として機能する可能性が高い神経ペプチド性の神経経路が見出されている。そこで本研究は、この神経ペプチド性の侵害受容抑制系に注目して、その詳細な神経経路の解明とストレスとの関係に関する調査を試みた。

《方法・材料》

1. 下行性制御に係わる神経ペプチドの発現細胞解析

ショウジョウバエの下行性侵害受容制御系とストレスとの関係性を検討するにあたり、まずはじめに GAL4/UAS システムと抗体染色を併用し、この下行性侵害受容制御系に関わる神経ペプチドの詳細な発現部位の特定を実施した。GAL4/UAS システムとは、組織特異的なプロモーターの制御下に挿入した転写因子 GAL4 が、標的配列 UAS に結合することで、UAS 下流にある遺伝子の発現を組織特異的に誘導する遺伝子強制発現システムである(図1)。下行性制御関連神経ペプチドの遺伝子発現プロモーター領域を利用して作製された GAL4 を介して誘導された GFP と、神経ペプチドそれぞれに対する特異的な抗体を用いて二重染色を行い、中枢神経系において共染色される細胞のマッピングを実施した。

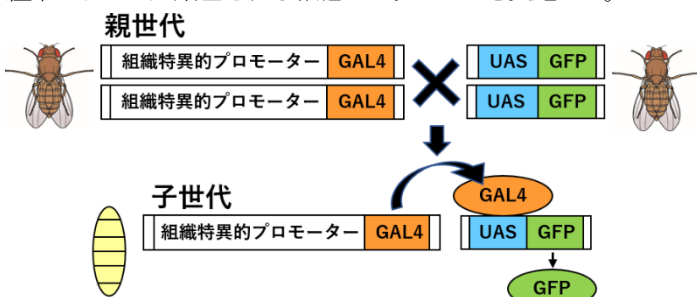


図1 GAL4/UAS システム

2. 1細胞ラベリングによる下行性制御に係わる神経ペプチド発現細胞の解析

FRT カセットフリップアウト法を用いた 1 細胞クローンの誘導により、上記の実験でマッピングした下行性制御に係わる神経ペプチド発現細胞の軸索投射パターンを詳しく解析した。組み換え酵素 FLP は、標的配列 FRT で挟まれた DNA 領域をゲノム中から除去する働きを持つ。本研究ではヒートショックプロモーター(hs) の制御下に配置した FLP と GAL4/UAS システムの併用により、GAL4 発現細胞の中でヒートショックが起きた細胞においてのみ GFP が発現するシステムを利用した(図2)。少数の細胞のみで GFP が発現するようヒートショック条件を調整し、下行性制御関連神経ペプチド発現細胞において発現した GFP シグナルをトレースすることで軸索投射先の検討を行った。

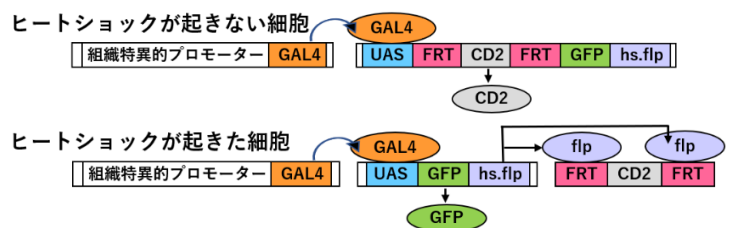


図2 FRT カセットフリップアウト法

3. 栄養ストレスと下行性制御に係わる神経ペプチドの関係解析

下行性制御とストレスの関係を調べることを目的として、栄養ストレスに曝した幼虫の下行性制御関連神経ペプチドの発現部位、発現量などに注目した発現解析を行った。

4. 栄養ストレスの侵害受容への影響の検討

栄養ストレスと下行性抑制機構の関係性を調べる一環として、ショウジョウバエ幼虫の熱侵害受容反応テスト³⁾ を利用し、栄養ストレスに曝した幼虫の侵害受容反応感度に変化が生じるかを調べた。

《結果・考察》

これまでに、下行性制御関連神経ペプチド発現細胞のマッピングおよびその投射パターンの解明に成功した。さらに、栄養ストレスに曝した幼虫において、熱侵害受容応答が大きく変化することを見出した。こうした結果を基に、現在は侵害受容に影響を与える栄養ストレス条件の詳細な検討および、栄養ストレスによる下行性制御関連神経ペプチドの発現変化について検討中である。詳細は卒業研究発表会にて示す。

《参考文献》

- 1) Treede et al. A classification of chronic pain for ICD-11. Pain. 2015;156(6):1003-7
- 2) Crofford LJ. Chronic Pain: Where the Body Meets the Brain. Trans Am Clin Climatol Assoc. 2015;126:167-183.
- 3) Tracey et al. painless, painless, a Drosophila gene essential for nociception. Cell. 2003;113(2):261-273.