Review Article

Chronic itch by neuron–glia interactions in the spinal dorsal horn

Makoto Tsuda

Department of Life Innovation, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University

Abstract

Itch sensation is a defense system that responds rapidly to a wide range of harmful internal and external stimuli. Recent progress in our understanding of the neuronal basis for itch sensation in the nervous systems has been made, but the mechanism underlying how itch turns into a pathological chronic state, such as atopic dermatitis, remains poorly understood. It is becoming clear that chronic itch is not simply a consequence of the continuity of acute itch signals, but rather of maladaptive function in the nervous system that is caused by long-term structural and functional alterations following skin inflammation. Recent studies have uncovered the causal role of glial cells in the spinal dorsal horn using mouse models of chronic itch including atopic dermatitis. Understanding the key roles of neuron–glia interactions may provide us with exciting insights into the mechanisms for the chronicity of itch and clues to develop novel therapeutic agents for treating chronic itch.

Keywords

Chronic itch; Spinal dorsal horn; Neuronal circuits; Astrocytes; Microglia

Received: 10 November 2018

脊髄後角の神経・グリア相互作用が作り出す慢性掻痒

津田 誠

九州大学 大学院薬学研究院 ライフイノベーション分野

はじめに

痒みは、掻きたいという欲望を起こさせる不快な感覚で、皮膚に付着・侵入する外敵を引掻き行動で除去するといった生体防御的な役割が想定されている。通常、痒みは掻痒部位への引

掻きにより軽減するが、一方、アトピー性皮膚炎などの皮膚疾患では、痒みは慢性化し、反復的な引掻きによる皮膚炎の悪化、その結果、更なる痒みを生むという悪循環に陥ってしまう。したがって、痒みの発生や伝達の仕組みの解明は、生物の生体防御機構の理解と、慢性掻痒メ

カニズムの解明および創薬シーズの発見に繋がる重要な課題である。

本稿では、痒み選択的な神経伝達機構と、アトピー性皮膚炎などに伴う慢性的な痒みの基礎研究から得られた知見の中から脊髄後角の神経・グリア相互作用による慢性搔痒メカニズムを中心に紹介する。

痒みの神経伝達経路

従来、痒みは単なる弱い痛み信号で起こると想定されてきたため、痒みの神経化学的理理解は非常に遅れている。そのような中、神経ペプチドのガストリン放出ペプチド (GRP) が痒み行動を選択的に誘発すること、GRP 受容体 (GRPR) 欠損マウスで痒み行動が減弱すること¹⁵⁾、さらに、GRPR 陽性 (GRPR⁺:以降、陽性を「+」と記載する) 脊髄後角神経をサボリンによって除去したマウスで痒み行動が抑制されることが発見された¹⁶⁾。特記すべきは、これらの欠損マウスや処置によって痛み行動には影響がなかった点である。したがって、GRPR⁺ 神経を中心とした痒み選択的な脊髄後角神経回路の存在が明らかになった (Fig.1)。また、GRP による痒みは霊長類でも認められる⁸⁾。当初、GRP は一次求心性神経より放出されるとされていたが¹⁵⁾、その後の研究からその放出源は脊髄後角介在神経であろうとされている³⁾ (Fig.1)。GRP⁺ 神経は B 型ナトリウム利尿ペプチド (Nppb) によって活性化される¹⁰⁾。GRP⁺ 神経には痒み選択的な一次求心性神経 (MrgprA3⁺) も直接入力している¹⁴⁾ (Fig.1)。一方で、GRP-GRPR シグナルを抑制的に制御する介在神経として、転写因子 Bhlhb5 で規定される神経サブセットがある¹²⁾。Bhlhb5⁺ 神経はダイノルフィン⁺と神経型一酸化窒素合成酵

素⁺ (nNOS⁺) に分類できるが、痒みの抑制には前者が関与している⁴⁾。ダイノルフィン⁺ 神経はソマトスタチン (SST) 受容体タイプ 2 を発現し、SST により過分極が起こり、痒みが誘発される^{4,7)}。SST は、Nppb⁺ 一次求心性神経と脊髄後角神経に発現する。また、抑制性神経伝達物質 GABA も痒みの制御に深くかかわる。筆者らは小胞型 GABA トランスポーター VGAT⁺ の脊髄後角抑制性介在神経を特異的に活性化することで慢性搔痒が著明に抑制されることを示した⁶⁾。さらに最近、 $\alpha 2$ と $\alpha 3$ サブユニットを含む GABA_A 受容体の活性化が痒みを効果的に抑制することが示された¹¹⁾。

通常痒みを起こさない触刺激などで起こる痒みはアロネーシスと呼ばれ、上記の神経経路とは別の経路を介している可能性が示唆されている。その候補として脊髄後角抑制性介在神経の NPY-Cre⁺ 神経が挙げられる¹⁾。この神経サブセットはニューロペプチド Y (NPY) プロモーター制御下で Cre を発現するトランスジェニックマウスから見出され、同マウスの脊髄後角 Cre 発現神経である。実際に、同神経を選択的に除去あるいは人工的に抑制することで、軽い機械刺激による痒みが誘発される。しかし、化学性の刺激による痒み、および痛みには全く影響がない。また最近、老齢マウスとドライスキンマウスでメルケル細胞が減少し、それがアロネーシスに関与することが報告された²⁾。メルケル細胞や Piezo2 の欠損によってアロネーシスが再現でき、ケモジェネティクスによるメルケル細胞の人工的刺激によりドライスキンのアロネーシスが抑制された。したがって、メルケル細胞から低閾値機械受容体を介したシグナルが、NPY-Cre⁺ 神経活動を調節している可能性がある (Fig.1)。

Fig.1 Neuronal circuits for itch and the role of astrocytes in chronic itch.

Chemical pruritogens activate that express MrgprA3⁺ and Nppb⁺ primary afferents, which in turn leads to activation of GRP⁺ dorsal horn interneurons. The released GRP acts on GRP receptors (GRPR) expressed in a subpopulation of dorsal horn interneurons. GRPR⁺ neurons are controlled by Bhlhb5⁺ inhibitory interneurons through GABA and dynorphin. SST inhibits Bhlhb5⁺ interneurons. As for mechanical itch, NPY-Cre interneurons play an inhibitory role. For alloknosis, a neuronal pathway from Merkel cells in the skin to NPY-Cre interneurons through a subset of low threshold mechanoreceptors is hypothesized to have an inhibitory role. Under chronic itch conditions, dorsal horn astrocytes are activated via STAT3- and TLR4-dependent signals. Reactive astrocytes produce and release LCN2. LCN2 may sensitize GPR-GRPR signaling. Reactive astrocytes may also influence an alloknosis pathway involving NPY-Cre⁺ dorsal horn interneurons. Astrocyte-derived itch sensitization leads to excessive scratching, worsening skin lesions, which maintains enhanced astroglial reactivity. Therefore, a neuron-glial interaction critically might contribute to the vicious cycle of itching and scratching, and to chronic itch.

慢性掻痒と脊髄後角アストロサイト

従来、グリア細胞は神経に対する単なる受動的補助細胞として認識されてきたが、筆者らは慢性疼痛モデル等を用いた基礎研究から、神経とグリア（特にアストロサイトとミクログリア）

による脊髄後角異種細胞ネットワークが感覚情報の適切な処理・統合に重要であることを世界に先駆けて示してきた⁵⁾。最近筆者らは、自然発症のアトピー性皮膚炎モデルマウスの脊髄後角において、アストロサイトが著明に活性化していることを見出した¹³⁾。アストロサイトは、

脳や脊髄におけるグリア細胞の中で数が最も多く、細胞突起でシナプスの構造を維持することに加え、神経からのシグナルを受けグリオトランスミッターを放出して神経活動を調節する(三者間シナプス)。アトピーマウスでアストロサイトが活性化する脊髄後角は、引掻き行動が多発する皮膚(顔面や上背部)の神経支配領域と一致し、アストロサイトの活性化と皮膚炎のタイムコースに相関性が認められた。炎症皮膚では、一次求心性神経C線維が表皮内侵入するが¹⁷⁾、同線維を減少させたアトピー性皮膚炎マウスではアストロサイトの活性化が抑制された¹³⁾。したがって、皮膚の炎症や物理的刺激により、表皮内侵入した神経線維が活性化し、そのシグナルでアストロサイトが活性化する可能性がある。さらに、アストロサイトの活性化には転写因子STAT3が重要な役割を担う。事実、STAT3の活性化阻害でアストロサイトの活性化と慢性掻痒が共に抑制される¹³⁾。また、アトピー性皮膚炎マウスではGRPRを介する痒みが増強するが、その現象も活性化アストロサイトを抑制することで正常化する。したがって、STAT3によって活性化したアストロサイトが脊髄後角でのGRP-GRPR痒みシナプス伝達を増強し、慢性掻痒を増悪させていることが示唆される。さらに、活性化アストロサイト由来の痒み増強因子としてリポカリン2(LCN2)を特定した¹³⁾。脊髄後角アストロサイト特異的にLCN2をノックダウンすることで痒みが有意に低下し、また、LCN2はGRPによる痒みを増強する¹³⁾。以上より、STAT3依存的にアストロサイトで発現増加するLCN2が、脊髄後角GRP-GRPRシグナルを介する痒みを増強し、慢性掻痒に重要な役割を果たしていると考えられる(Fig.1)。

脊髄後角アストロサイトとアロネーシス

ドライスキンモデルの脊髄後角でToll様受容体4(TLR4)の発現がアストロサイト選択的に増加し、TLR4の欠損や阻害によって自発的な痒みおよびアロネーシスが抑制される⁹⁾。この結果は、慢性掻痒における脊髄後角アストロサイトの役割を支持し、アストロサイトがアロネーシスにも関与している可能性を示唆している。アロネーシスは化学性の痒みとは異なる神経経路を介するため、アロネーシス経路に対するアストロサイトからの新しい調節機構が存在する可能性が予想され、大変興味深い。

慢性掻痒と脊髄後角ミクログリア

脊髄後角におけるミクログリアの形態学的活性化が複数の慢性掻痒モデルで報告されている^{18,19)}。脊髄後角ミクログリアではCX3CR1を介してp38MAPKがリン酸化され、p38MAPK阻害剤で痒みが抑制されることから、慢性掻痒におけるミクログリアの関与が示唆される。また、慢性掻痒はミノサイクリンでも抑制される^{18,19)}。しかし、慢性掻痒モデルでのミクログリアの活性化とp38MAPK阻害薬の抑制効果は、ある特定の時期のみで認められるため、ミクログリアの役割は痒みの慢性化プロセスの中で限局的なものかもしれない。また、慢性掻痒モデルにおけるミクログリアの形態学的変化においても一致した見解は得られていない^{9,13)}。

おわりに

アトピー性皮膚炎などに伴う慢性的な痒みはこれまで主に皮膚を中心に研究されてきたが、今回筆者らは、その研究の視点を中枢神経系に

向けたことで、脊髄後角アストロサイトという痒みの慢性化メカニズムにおける新しい役者を見つけることができた。この成果から、アストロサイトを標的にした治療薬の開発に繋がる可能性がある。今後、どのようにアストロサイトが活性化し痒み信号を増強するのか、また痒みはどのように伝達されるのかなど、まだまだ多くの課題が残されているが、それらを基礎研究から一つ一つ明らかにし、痒みを感じる仕組みとその慢性化のメカニズムを解明し、新しい治療薬の創製に繋げたい。

文 献

- 1) Bourane, S., Duan, B., Koch, S.C., Dalet, A., Britz, O., Garcia-Campmany, L., Kim, E., Cheng, L., Ghosh, A., Ma, Q., Goulding, M., Gate control of mechanical itch by a subpopulation of spinal cord interneurons, *Science*, 350 (2015) 550–554.
- 2) Feng, J., Luo, J., Yang, P., Du, J., Kim, B.S., Hu, H., Piezo2 channel–Merkel cell signaling modulates the conversion of touch to itch, *Science*, 360 (2018) 530–533.
- 3) Gutierrez-Mecinas, M., Watanabe, M., Todd, A.J., Expression of gastrin–releasing peptide by excitatory interneurons in the mouse superficial dorsal horn, *Mol. Pain*, 10 (2014) 79.
- 4) Huang, J., Polgar, E., Solinski, H.J., Mishra, S.K., Tseng, P.Y., Iwagaki, N., Boyle, K.A., Dickie, A.C., Kriegbaum, M.C., Wildner, H., Zeilhofer, H.U., Watanabe, M., Riddell, J.S., Todd, A.J., Hoon, M.A., Circuit dissection of the role of somatostatin in itch and pain, *Nat. Neurosci.*, (2018).
- 5) Inoue, K., Tsuda, M., Microglia in neuropathic pain: cellular and molecular mechanisms and therapeutic potential, *Nat. Rev. Neurosci.*, 19 (2018) 138–152.
- 6) Kanehisa, K., Shiratori–Hayashi, M., Koga, K., Tozaki–Saitoh, H., Kohro, Y., Takamori, K., Tsuda, M., Specific activation of inhibitory interneurons in the spinal dorsal horn suppresses repetitive scratching in mouse models of chronic itch, *J. Dermatol. Sci.* 88 (2017) 251–254.
- 7) Kardon, A.P., Polgar, E., Hachisuka, J., Snyder, L.M., Cameron, D., Savage, S., Cai, X., Karnup, S., Fan, C.R., Hemenway, G.M., Bernard, C.S., Schwartz, E.S., Nagase, H., Schwarzer, C., Watanabe, M., Furuta, T., Kaneko, T., Koerber, H.R., Todd, A.J., Ross, S.E., Dynorphin acts as a neuromodulator to inhibit itch in the dorsal horn of the spinal cord, *Neuron*, 82 (2014) 573–586.
- 8) Lee, H., Ko, M.C., Distinct functions of opioid–related peptides and gastrin–releasing peptide in regulating itch and pain in the spinal cord of primates, *Sci. Rep.*, 5 (2015) 11676.
- 9) Liu, T., Han, Q., Chen, G., Huang, Y., Zhao, L.X., Berta, T., Gao, Y.J., Ji, R.R., Toll–like receptor 4 contributes to chronic itch, allodynia, and spinal astrocyte activation in male mice, *Pain*, 157 (2016) 806–817.
- 10) Mishra, S.K., Hoon, M.A., The cells and circuitry for itch responses in mice, *Science*, 340 (2013) 968–971.
- 11) Ralvenius, W.T., Neumann, E., Pagani, M., Acuna, M.A., Wildner, H., Benke, D., Fischer, N., Rostaher, A., Schwager, S., Detmar, M., Frauenknecht, K., Aguzzi, A., Hubbs, J.L., Rudolph, U., Favrot, C., Zeilhofer, H.U., Itch suppression in mice and dogs by modulation of spinal alpha2 and alpha3GABAA receptors, *Nat. Commun.*, 9 (2018) 3230.
- 12) Ross, S.E., Mardinly, A.R., McCord, A.E., Zurawski, J., Cohen, S., Jung, C., Hu, L., Mok, S.I., Shah, A., Savner, E.M., Tolias, C., Corfas, R., Chen, S., Inquimbert, P., Xu, Y., McInnes, R.R., Rice, F.L., Corfas, G., Ma, Q., Woolf, C.J., Greenberg, M.E., Loss of inhibitory interneurons in the dorsal spinal cord and elevated itch in Bhlhb5 mutant mice, *Neuron*, 65 (2010) 886–898.
- 13) Shiratori–Hayashi, M., Koga, K., Tozaki–Saitoh, H., Kohro, Y., Toyonaga, H., Yamaguchi, C., Hasegawa, A., Nakahara, T., Hachisuka, J., Akira, S., Okano, H., Furue, M., Inoue, K., Tsuda, M., STAT3–dependent reactive astrogliosis in the spinal dorsal horn underlies chronic itch, *Nat. Med.*, 21 (2015) 927–931.
- 14) Sun, S., Xu, Q., Guo, C., Guan, Y., Liu, Q., Dong, X., Leaky Gate Model: Intensity–Dependent Coding of Pain and Itch in the Spinal Cord, *Neuron*, 93 (2017) 840–853 e845.
- 15) Sun, Y.G., Chen, Z.F., A gastrin–releasing peptide receptor mediates the itch sensation in the spinal cord, *Nature*, 448 (2007) 700–703.
- 16) Sun, Y.G., Zhao, Z.Q., Meng, X.L., Yin, J., Liu, X.Y., Chen, Z.F., Cellular basis of itch sensation, *Science*, 325 (2009) 1531–1534.

- 17) Tominaga, M., Takamori, K., Itch and nerve fibers with special reference to atopic dermatitis: therapeutic implications, *J. Dermatol.*, 41 (2014) 205–212.
- 18) Torigoe, K., Tominaga, M., Ko, K.C., Takahashi, N., Matsuda, H., Hayashi, R., Ogawa, H., Takamori, K., Intrathecal Minocycline Suppresses Itch–Related Behavior and Improves Dermatitis in a Mouse Model of Atopic Dermatitis, *J. Invest. Dermatol.*, 136 (2016) 879–881.
- 19) Zhang, Y., Yan, J., Hu, R., Sun, Y., Ma, Y., Chen, Z., Jiang, H., Microglia are involved in pruritus induced by DNFB via the CX3CR1/p38 MAPK

pathway, *Cell. Physiol. Biochem.*, 35 (2015) 1023–1033.

Address for correspondence: Makoto Tsuda
 Department of Life Innovation, Graduate School of
 Pharmaceutical Sciences, Kyushu University
 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582,
 Japan

※ 本稿は第40回日本疼痛学会（2018年7月、長崎）
 「シンポジウム3：痒みのトランスレーショナル神経生物学 ～げっ歯類からヒトまで」の講演内容を
 まとめたものである。