

Press Release

京都大学 物質-細胞統合システム拠点 (iCeMS)

光を使って神経細胞の「痛み」感知を制御する手法を開発 —新しい鎮痛療法の可能性—

京都大学（総長：山極壽一）の村上達也 物質-細胞統合システム拠点 (iCeMS=アイセムス) 特定拠点准教授らの研究グループは、ナノメートルサイズの金粒子を使って、痛みを感知する神経細胞*1を光で活性化する手法を開発することに成功しました。この成果は、細胞機能をリモートコントロールする新しい技術としてだけでなく、神経痛・脳腫瘍などの光治療法として期待されます。

私たちが痛みを感じる時、ある種の神経細胞が活性化しています。その神経細胞の細胞膜上にある TRPV1*1 というイオンチャネルが痛みに関与する様々な刺激（熱、酸、カプサイシンなど）を感知し、カルシウムイオンなどを細胞内に流入させることで痛みを伝達します。TRPV1 は神経痛や脳腫瘍の病原として知られています。従って神経細胞の TRPV1 を望みの場所・時間で活性化できれば、身体に負担の少ない治療法になる可能性があります。その方法は知られていませんでした。

今回の研究では、ナノメートルサイズの棒状の金（金ナノロッド、以下 AuNR*2）を用いました。AuNR は私たちの体に最も影響の少ない近赤外光を吸収し、発熱したり、発光したりするなど、様々な応答性を示す物質です。そこでこの AuNR を TRPV1 近傍に輸送し、光照射による発熱作用を利用して TRPV1 を活性化することを試みました。AuNR を TRPV1 の存在する細胞膜に安全に輸送するには、慎重な AuNR 表面処理が必要です。そこで生体材料（高比重リポ蛋白質、以下 HDL*3）を独自に改変して AuNR の表面処理に利用してみると、TRPV1 を発現する細胞の細胞膜に多量の AuNR が膜ダメージを与えることなく輸送されることを発見しました。この細胞に近赤外光照射すると、細胞膜近傍でのみ温度が上昇し、TRPV1 の活性化を介してカルシウムイオンの流入がおきました。マウス脊髄から採取した痛みを感知する後根神経節細胞*4を用いても同様の結果が得られ、生理的条件下でも本手法は機能することがわかりました。

この成果は、神経細胞と物質を混ぜて光を照射するだけという簡単な操作で得られます。従って本手法は、光を使った新しい細胞工学技術としても重要ですが、生体内で TRPV1 の関与する疾患を治療する光を用いた新たな手法となる可能性があります。例えば、小さい分子に比べてナノメートルサイズの物質は投与された場所に留まる性質があること、近赤外光は高い生体透過性があることを利用して、この表面処理された AuNR を生体内局所に投与すれば、繰り返しかつ望みのタイミングで TRPV1 を光活性化し、治療効果を誘導することが期待されます。

本研究は文部科学省 科学研究費助成事業（研究代表者 村上達也、課題番号 24300162, 25104514）によって推進され、京都大学 物質-細胞統合システム拠点で行われたものです。

本成果は近日中に独オンライン科学誌「Angewandte Chemie (アンゲヴァンテ・ケミー)」で公開

される予定です。

1. 背景

ナノメートルサイズの金属物質は、その組成、サイズ、形などに応じて興味深い性質を示します。例えば酸化した鉄粒子は強い磁性を示し、その磁性が周囲の水に作用することを利用して、がん組織が造影されます。今回の研究で用いた金粒子は、特にその形に依存した多様な光応答性を示します。金は大きいと金属光沢を示しますが、ナノメートルサイズで球状になると赤色を呈し、可視光を吸収するようになります。実はこの金ナノ粒子は、教会のステンドグラスの赤色として古くから利用されています。その形を球状から棒状（AuNR）に変えると、色は赤紫色に変化します。言い換えると、金の形をナノメートルサイズで変化させると、吸収する光を可視光（約 400–700 nm）から近赤外光（約 700–2500 nm）に変化させることができます。近赤外光の中でも約 700–900 nm の波長の光は生体への影響が最も少ない（＝生体透過性が高い）ため、光治療に適しています。AuNR はこの近赤外光を吸収して、発熱します（図 1）。このように、磁場、光などの外部刺激に応答する小さい金属粒子は、診断・治療に役立ちます。

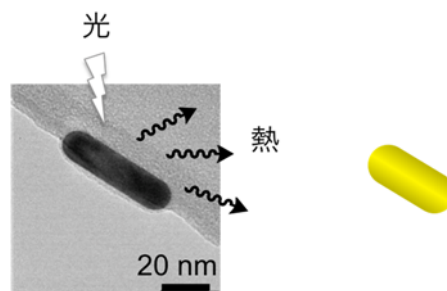


図 1. 金ナノロッド(AuNR)の電子顕微鏡像と光線温熱効果（左）と AuNR 模式図（右）

私たちの体の中には、外部刺激（熱、酸、機械刺激、浸透圧など）や化学刺激（カプサイシン、ある種の神経毒素など）を感知し、それらを痛みとして伝達する神経細胞が存在します。この伝達には神経細胞の細胞膜上に存在するイオンチャネルが担っています。TRPV1*¹は 1997 年にカプサイシン（唐辛子の辛み成分）に応答してカルシウムイオンを流入させるイオンチャネルであることが認められ、熱（43℃以上）と酸（pH 5.2 以下）でも活性化されることが明らかにされました（図 2）。TRPV1 はその後、鎮痛、がん治療などさまざまな疾患の病原になることも報告されています。特に鎮痛作用は TRPV1 の阻害・持続的活性化の両方で得られることがわかっています。従って TRPV1 を 700–900 nm の光で活性化することは、これらの新しい光治療法になる可能性があります。一方で TRPV1 が活性化する 43℃という温度は、細胞が死に始める温度でもあります。従って TRPV1 の近傍のみを加熱することが極めて重要になります。

そこで今回、TRPV1 を発現する神経細胞の細胞膜に AuNR を高度なレベルで局所的に配置することで、近赤外光を照射して TRPV1 を安全に光活性化することを目指しました。ここでは、細胞膜に局所的に配置するための AuNR の表面処理が重要なポイントになります。

2. 研究内容と成果

AuNR を細胞膜へ局在化させる最も単純な方法は、静電相互作用を利用するものです。細胞膜は負電荷を帯びていますので、AuNR 表面が正電荷を帯びれば、自発的に AuNR は細胞膜表面に輸送されることとなります。そこで正電荷を帯びた高分子としてよく知られる 3 種類の合成高分子 (PDDAC, PLL, PEI) とともに、正電荷を帯びるように改変した生体材料 (cationized HDL, 以下 catHDL) を表面修飾剤として用いました。いずれを用いた場合でも、AuNR 表面は正電荷を帯びるようになりました。HEK293T という細胞実験でよく用いられる細胞を使って、これらの表面修飾 AuNR の細胞膜局在を調べると、合成高分子で被覆した AuNR はいずれも凝集塊としてまばらに細胞膜上に存在する一方、catHDL で表面処理した AuNR はより均一に細胞膜に接着していました (図 3 左)。しかもこの均一な接着は細胞膜へダメージを与えないこともわかりました (図 3 右)。以上の結果から、catHDL で表面処理した AuNR を plasma membrane-targeted AuNR (以後、pm-AuNR) と名付けて、レーザー照射実験に用いました。

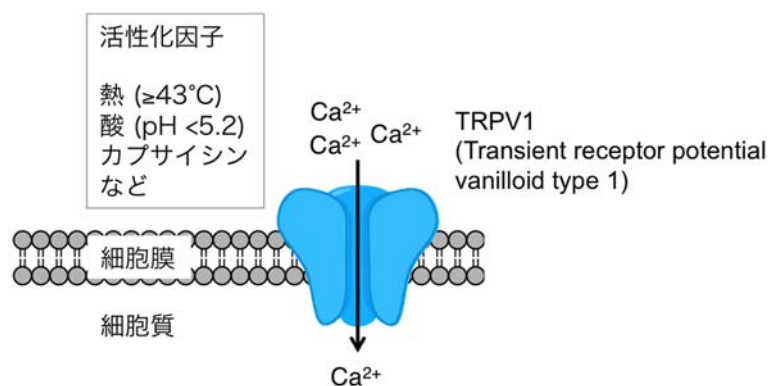


図 2. 痛み受容体 TRPV1 の構造・機能の模式図

まず、TRPV1 を人為的に発現させた HEK293T 細胞を使って実験を行いました。この細胞を pm-AuNR で 10 分間処理し、細胞を洗浄しました。そして 780 nm のレーザーを照射して pm-AuNR を加熱すると、細胞内にカルシウム流入が生じました (図 4)。TRPV1 を発現させない HEK293T 細胞を用いた場合には、カルシウム流入は起きなかったことから、pm-AuNR は TRPV1 近傍を加熱することで TRPV1 を活性化したことが明らかになりました。TRPV1 光活性化時の培養液温度はレーザー照射前後で変化せず、細胞膜局所が加熱されたことも確認されました。重要なことに、pm-AuNR の次に膜ダメージが最も少なかった PDDAC で表面処理された AuNR で同じ実験を行うと、TRPV1 の有無に関わらず、カルシウム流入が生じました。このことは、PDDAC 表面処理 AuNR では光照射で生じた熱により細胞膜に穴が空いた (=光毒性) ことを示唆しています。すなわちこれらの結果は、catHDL を用いる AuNR 表面処理が、TRPV1 光活性化の成功の鍵であることを意味しています。

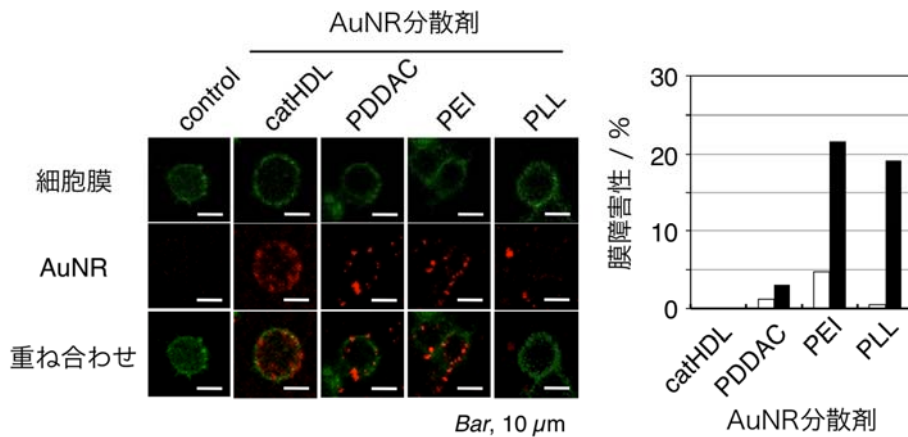


図3. 表面処理 AuNR の細胞膜接着性 (左) と膜障害性 (右)

catHDL で表面処理された AuNR (pm-AuNR)は最も効率良く細胞膜に接着する (左) 一方、その細胞膜への影響は最も少ない (右)。

次に生体においても、pm-AuNR による TRPV1 光活性化が可能か調べました。マウスから採取した後根神経節細胞*⁴に pm-AuNR を作用させて光照射・pm-AuNR 加熱すると、カルシウム流入が観察されました。さらに TRPV1 を欠損させたマウスから同神経細胞を採取して実験を行ってみると、カルシウム流入は観察されませんでした。従って pm-AuNR は天然の神経細胞の TRPV1 も安全に光活性化できることが明らかになりました。

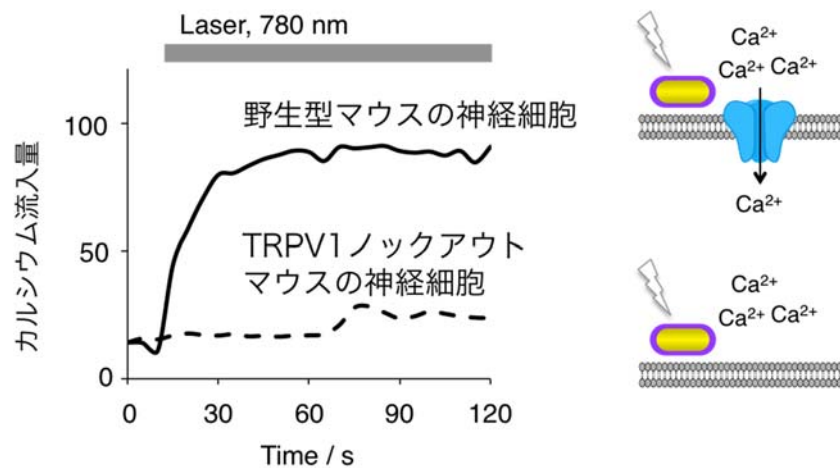


図4. pm-AuNR によるマウス神経細胞への痛みの伝達

痛みの伝達はカルシウム流入によって行われる。TRPV1 を発現する神経細胞 (野生型マウス由来) では光照射依存的にカルシウム流入が起こり (実線)、TRPV1 のない神経細胞 (TRPV1 ノックアウトマウス由来) だと光照射しても何も起こらない (破線)。

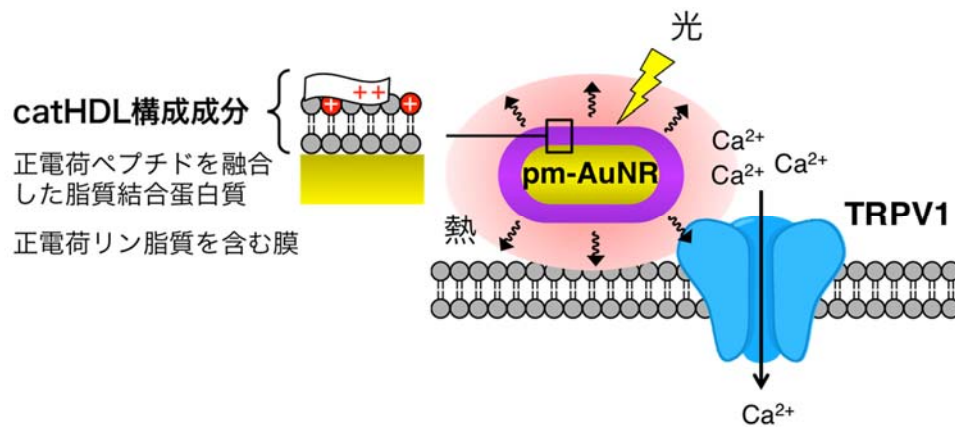


図5. 今回の研究のまとめ

3. 今後の期待

今回、本研究グループが開発した手法によって、神経細胞に人為的に「痛み」を伝達することが可能となりました。本手法は、天然の神経細胞に金粒子を作用させて光照射するだけという簡便なものです。今回用いた金粒子は、小分子化合物に比べて、局所投与部位に留まる性質があります。今後、この金粒子を疾患部位に局所投与して近赤外光照射するという新たな光治療法の開発などが期待されます。

用語解説・注釈

- ※ 1 **TRPV1** : Transient receptor potential vanilloid type 1 の略。莫大な機能的多様性を示す TRP イオンチャンネルファミリーに属し、主に脳、神経で痛み受容体として働く。
- ※ 2 **AuNR** : 1997年にYuらによって合成されたナノメートルサイズの棒状金粒子。近赤外領域に強い吸収を示し、発熱、発光など様々な光応答性を示す。
- ※ 3 **HDL** : 脂質と脂質結合タンパク質からなるナノメートルサイズの生体材料。余剰コレステロールの代謝を促進するため、善玉コレステロールとして知られる。
- ※ 4 **後根神経節細胞** : 脊髄の神経節の中にある神経細胞で、末梢からの感覚情報を中継する。特に小さいサイズの神経細胞に TRPV1 が高発現している。

論文タイトルと著者

“Thermosensitive Ion Channel Activation in Single Neuronal Cells by Using Surface-Engineered Plasmonic Nanoparticles”

Hiroataka Nakatsuji, Tomohiro Numata, Nobuhiro Morone, Shuji Kaneko, Yasuo Mori, Hiroshi Imahori, and Tatsuya Murakami*

Angewandte Chemie International Edition | DOI: