



FACT SHEETS

# Human Cells and Tissue in Pre-clinical Studies: Human DRG

## 前臨床試験におけるヒト細胞と組織:ヒト後根神経節(DRG)

2022 痛みの知識を実践に生かす

GLOBAL YEAR

痛みは、侵害刺激に反応して最も一般的に生じる感覚的および情動的な経験であり、侵害受容器をもつ末梢感覚神経細胞集団は、侵害刺激によって活性化される一番目の神経細胞である。感覚神経細胞の細胞体は、三叉神経節(TG)または後根神経節(DRG)に存在し、両側に位置し、脳幹または脊柱に隣接している。これらの偽単極神経細胞は、皮膚や内臓などの標的器官を神経支配する末梢枝と、脳幹または脊髄後角で終わる中枢枝を持っている[4]。感覚神経細胞は非常に不均一であり、複数の亜集団があり、それぞれが非侵害受容性および侵害受容性刺激に対する一連の応答特性を持っている。侵害受容性神経細胞は、急性組織損傷の存在を知らせるだけでなく、多くの慢性疼痛状態に関連する持続痛および過敏性において重要な役割を果たしているようである。したがって、侵害受容器をもつ一次神経細胞内およびその神経細胞を介した信号伝達の分子的小および細胞的基盤を理解することは、痛みの効果的かつ安全な治療法の開発に不可欠である。

痛みを研究するための実験プラットフォーム

ヒトのボランティアに対していくつかの痛みの研究を実施することは倫理的に許容されるが、これらの研究は、検証できる内容は限定的で、一般的に健康なヒトを対象とし、機序を明らかにするように設計された実験的介入に適していることは少ない。その結果、侵害受容と痛みの機序の理解は、主に動物モデル一般、特にマウスとラットの研究から導き出されてきた[23]。多くの病態生理学的機序は齧歯類とヒトの間で同様だが、解剖学的、分子的、細胞的レベルでの重要な違いが、いくつかの鎮痛薬候補の橋渡しの失敗に寄与している可能性が非常に高い。これらの基本的なギャップは、ヒトの神経系組織を使用することで埋められ始めている。ヒトの神経系組織の使用は、侵害受容の分子のおよび細胞的基盤と、ヒトにおけるその調節機序の理解を向上させる可能性がある。それらはまた、高い費用のかかる臨床試験に着手する前に、治療標的および薬物を橋渡しする価値を検証するための細胞プラットフォームとしても機能する[26]。したがって、この報告書ではヒト後根神経節(DRG)細胞の研究に焦点を当てる。

## 侵害受容器、受容体、イオンチャネル、および痛み

必然的に、侵害受容器は通常静止しており、侵害刺激に対する反応は制限されている。ただし、侵害受容器をもつ神経細胞は感作される可能性がある。感作は、自発的活動の出現、活性化閾値の低下、および/または神経損傷、組織炎症、代謝障害または遺伝性障害を含むさまざまな条件下での同じ刺激に対する反応性の増加に特徴づけられ、慢性疼痛に寄与する可能性がある[5]。侵害受容神経細胞の神経終末に見られる特殊な受容体は、侵害刺激によって活性化され、電位依存性イオンチャネルの興奮によって生成される活動電位が神経電気インパルスとして伝えられる。これらの活動電位は、末梢から脊髄に伝導し、そこで神経伝達物質が軸索末端から放出される。その後、信号は脊髄神経細胞に伝達され、次に脳中枢に伝達され、そこで信号は痛みとして認識される[4]。豊富なエビデンスにより、感作がシグナル伝達から伝達物質放出までのステップのいずれかでの変化に起因するとする考えが支持されている。治療開発の障壁の1つは、感作の根底にある神経細胞のプロセスが、傷害の種類、傷害部位、傷害後の時間、性別、過去の病歴、および動物モデルとヒトの間で起こりうる種の違いを含む遺伝要因によって異なるようであることである。したがって、ヒト侵害受容器の興奮性とその感作の分子基盤を理解することは、痛みの治療のための新しくより効果的な薬の開発にとって重要である。

## 痛みのメカニズムを解明するための探索におけるヒト DRG 神経細胞

侵害受容の分子的小および細胞的基盤について知られていることの多くは、齧歯類の DRG 神経細胞の研究から得られた。ヒト DRG 神経細胞の初期の研究では、生存可能なヒト組織が不足しているため、通常、限定的な数の DRG 神経細胞を使用していた[2; 8; 36]。このような状況は、臓器提供者からのヒト組織を回復させることの改善や迅速な剖検、および分子小および機能研究のために培養神経細胞を分離および維持する方法の改善によって変化してきている[6; 12; 37]。ヒト DRG の使用により、齧歯類モデルにおける刺激に対する侵害受容器応答の基本的な機序が維持されていることが確認されたが、次に説明するように、齧歯類の研究で確立された概念に反する重要な違いも明らかになった。

## DRG 神経細胞のトランスクリプトームと細胞組成における種特異的な違い

洗練された形態学的小および機能的分析を通じて、齧歯類 DRG 神経細胞のいくつかの亜集団が特定の感覚モダリティに関連付けられている。最近では、新しいシーケンス技術の出現により、単一細胞レベルでの研究が可能になり、DRG トランスクリプトームの詳細な解析により、マウスと霊長類の特定の感覚モダリティに關与する DRG 神経細胞の亜集団の同一性が確認された[14; 30; 35; 41]。ただし、人間の DRG 神経細胞のモダリティ固有の感覚神経細胞亜集団の区分は、いくつかの潜在的に重要な点でモデル種と一致していない[18; 20; 25; 27; 31; 32]。例えば、ヒトの侵害受容器は、マウスの神経細胞で報告されているペプチド作動性侵害受容器と非ペプチド作動性侵害受容器の明確な分離を欠いており、カプサイシン(唐辛子の辛み成分)によっても活性化される熱受容体 TRPV1 の発現は、齧歯類の DRG 神経細胞よりもヒトにより広く見られる[31-33]。同じ細胞型の区分がヒト DRG で完全に共通していないため、これらの発見は、マウスの DRG 神経細胞の遺伝的に定義された亜集団の操作についての機能実験の結果を解釈する際に慎重になる必要がある。ヒト DRG に関するこのような性質を特徴付ける研究からの結果が蓄積されてきているため、これらの情報を他の種のデータと統合して、治療標的を治療薬に変換する能力を向上させる必要がある。

## イオンチャネルと受容体の特性における種固有の違い

痛みの新しい治療法の開発に直結することとして、ヒトの DRG 研究から、鎮痛薬開発の標的であるイオンチャネルと鎮痛薬の開発標的となる受容体について独自の特性を示すことが示されている。齧歯類小およびヒト DRG 神経細胞の神経細胞発火を調節するイオンチャネル小および受容体の発現は高度に共通しているが、チャ

ネルおよび受容体の生物物理学的および薬理学的特性には種特異的な違いがある[8; 10; 12; 13; 16; 29; 36; 40]。

齧歯類の DRG 神経細胞は、ヒトの DRG 神経細胞と比較して活動電位生成の閾値が低い[6; 12]。この理由として、2 つの種からのイオンチャネルの相対的な存在量または生物物理学的特性の相違が示唆されている。Hartung, et al. [13] は、脊髄後角の一次シナプスでの神経伝達物質放出に重要な役割を果たす、電位依存性高閾値活性化型カルシウムチャネルの大きさと生物物理学的特性の種特異的な違いを指摘した。Zhang, et al. [40] は、選択的ナトリウムチャネル遮断薬テトロドトキシンに対するヒト DRG 神経細胞のナトリウム電流の感度が齧歯類 DRG 神経細胞の感度よりも低いことを観察した。ヒト DRG のこれらの研究は知識の基盤を確立するために価値があるが、ヒト DRG 神経細胞を研究する様々な研究機関によって報告された結果が完全に一貫していないことがある。例えば、テトロドトキシン抵抗性ナトリウム電流の生物物理学的特性が挙げられる[12 ; 40]。興味深いことに、これら 2 つの研究で報告された結果の最も顕著な違いは、ラット DRG 神経細胞のテトロドトキシン抵抗性電流の生物物理学的特性に関連しており、報告された結果に記録された感覚神経細胞の不均一性が潜在的に影響していることが強調されている。別の例としては、ヒト DRG 神経細胞のイオンチャネル型アセチルコリン受容体の生物物理学的および薬理学的特性の違いがあり、これはマウスまたはラットのいずれかで観察されたものと異なる[39]。この種特異的な違いは、これらの受容体のアゴニストが最終的に痛みの治療のための臨床試験で失敗した理由を説明するかもしれない[9; 11; 24; 28]。

電位依存性チャネルおよびイオンチャネル型受容体に加えて、G タンパク質共役型受容体(GPCR)も潜在的な鎮痛薬の標的として検討されてきた。いくつかの研究では、齧歯類とヒトの DRG の間で、オピオイド、カンナビノイド、およびその他の代謝型受容体の機能的および解剖学的な違いを示している[1; 3; 7; 18; 19]。GPCR のリガンド依存性活性化に続いて、細胞内セカンドメッセンジャーシグナル伝達機序とシグナル誘導遺伝子発現の共通性の程度を分析することは、新しい鎮痛薬の機能的橋渡しを検証したり、種を超えた侵害受容体の調節機構の新しい機序を明らかにするために重要な手段となる可能性がある。

ヒト DRG 神経細胞の可用性と使用が拡大し、独立した研究グループによってより多くのデータが収集されるにつれて、ヒト DRG の独自性の範囲がより明確となる。しかし、チャネルと受容体の発現と特性における種特異的な違いが、侵害受容の分子のおよび細胞的基盤についての私たちの見解を再形成していることは間違いのない事実である[17]。

## この知識を臨床での実践に橋渡しするための限界と機会

ヒト DRG 神経細胞の研究からのデータセットはまだ数が限られており、この組織の入手はまだ広く利用可能ではない。ほとんどの場合、この組織は、死に至るようなイベントを経験した臓器提供者、または外科的切除または迅速な剖検からのみ入手可能であり、したがって、これらの神経細胞を「正常」とみなすことは議論の余地がある。確かに臓器提供者は、臓器移植に対する危険性がないように感染症、疾患、および癌がないことで選択されており、これらは慢性疼痛の原因となることが多い。しかし、慢性疼痛患者からの DRG 神経細胞の研究が発表されており [15; 21]、そして痛みについて診断されていない被験者から収集された神経細胞由来のデータとの比較は有益である。重要なこととして、既存のデータセットは、侵害刺激に応じた個人間の変動に寄与する可能性のあるいくつかの要因(生物学的および歴史的差異の両方を含む、いくつかの容易に識別可能なものといくつかの未知のもの)に基づくドナー間の不均一性を考慮するのに十分な情報を含んでいない。したがって、ドナーの生活歴に関する広範な情報の収集を含む、ヒト DRG 神経細胞を使用したより広範な研究の追加が必要である。これは、より多くの組織が日常的に提供され、広く普及するようになったときにのみ行うことができる。

イオンチャネルの特性と薬理学における種固有の違いも、疼痛治療のための新しい治療法の開発に役立つ可能性がある。たとえば、Walker, et al. [38]は、疼痛治療薬の開発の主要な標的であるヒト Nav1.7 チャネルが霊長類と非霊長類の Nav チャネル間で異なり、神経毒サキトシンへの耐性が 200 倍以上異なることや神経毒性への抵抗性の違いを説明する細胞外口外側の 2 つの残基の違いを特定した。この情報に基づいて、サキトキシンの誘導体が、疼痛治療薬としての臨床試験用の Nav1.7 選択的遮断薬として開発された [22; 34]。

全体として、イオンチャネルと受容体の特性における種の違いは、これらの神経細胞の異なる神経発火特性と薬物に対するそれらの応答性の違いを引き起こすと予想され、新しい薬物が適切なヒト細胞を標的として検証されることが不可欠である。さらに、痛みの機序に基づく治療法を開発するためには、ヒト DRG 神経細胞のサブセットと特定の感覚モダリティとの機能に基づく関連付けが必要である。ヒト神経細胞の入手数の増加とそれらの特性評価の継続的な向上により、動物モデルからの発見の橋渡し研究の効率を向上させ、加えて、動物モデルの研究からは予想できなかった新しい標的の同定を実現できる可能性がある。

## REFERENCES

[1] Anand P, Yiangou Y, Anand U, Mukerji G, Sinisi M, Fox M, McQuillan A, Quick T, Korchev YE, Hein P. Nociceptin/orphanin FQ receptor expression in clinical pain disorders and functional effects in cultured neurons. *Pain* 2016;157(9):1960-1969.

[2] Anand U, Otto WR, Casula MA, Day NC, Davis JB, Bountra C, Birch R, Anand P. The effect of neurotrophic factors on morphology, TRPV1 expression and capsaicin responses of cultured human DRG sensory neurons. *Neurosci Lett* 2006;399(1-2):51-56.

[3] Anand U, Otto WR, Sanchez-Herrera D, Facer P, Yiangou Y, Korchev Y, Birch R, Benham C, Bountra C, Chessell IP, Anand P. Cannabinoid receptor CB2 localisation and agonist-mediated inhibition of capsaicin responses in human sensory neurons. *Pain* 2008;138(3):667-680.

[4] Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D. Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell* 2009;139(2):267-284.

[5] Costigan M, Scholz J, Woolf CJ. Neuropathic Pain: A Maladaptive Response of the Nervous System to Damage. *Annu Rev Neurosci* 2009;32:1-32.

[6] Davidson S, Copits BA, Zhang J, Page G, Ghetti A, Gereau RWt. Human sensory neurons: Membrane properties and sensitization by inflammatory mediators. *Pain* 2014;155(9):1861-1870.

[7] Davidson S, Golden JP, Copits BA, Ray PR, Vogt SK, Valtcheva MV, Schmidt RE, Ghetti A, Price TJ, Gereau RWt. Group II mGluRs suppress hyperexcitability in mouse and human nociceptors. *Pain* 2016;157(9):2081-2088.

[8] Dib-Hajj SD, Tyrrell L, Cummins TR, Black JA, Wood PM, Waxman SG. Two tetrodotoxin-resistant sodium channels in

human dorsal root ganglion neurons. *FEBS Lett* 1999;462(1-2):117-120.

[9] Dutta S, Hosmane BS, Awni WM. Population analyses of efficacy and safety of ABT-594 in subjects with diabetic peripheral neuropathic pain. *AAPS J* 2012;14(2):168-175.

[10] Giblin JP, Etayo I, Castellanos A, Andres-Bilbe A, Gasull X. Anionic Phospholipids Bind to and Modulate the Activity of Human TRESK Background K(+) Channel. *Mol Neurobiol* 2019;56(4):2524-2541.

[11] Gilron I, Coderre TJ. Emerging drugs in neuropathic pain. *Expert Opin Emerg Drugs* 2007;12(1):113-126.

[12] Han C, Estacion M, Huang J, Vasylyev DV, Zhao P, Dib-Hajj S, Waxman SG. Human Nav1.8: enhanced persistent and ramp currents contribute to distinct firing properties of human DRG neurons. *J Neurophysiol* 2015;113(9):3172-3185.

[13] Hartung JE, Moy JK, Loeza-Alcocer E, Nagarajan V, Jostock R, Christoph T, Schroeder W, Gold MS. Voltage gated calcium channels in human dorsal root ganglion neurons. *Pain* 2021(doi: 10.1097/j.pain.0000000000002465.).

[14] Kupari J, Usoskin D, Parisien M, Lou D, Hu Y, Fatt M, Lonnerberg P, Spangberg M, Eriksson B, Barkas N, Kharchenko PV, Lore K, Khoury S, Diatchenko L, Ernfors P. Single cell transcriptomics of primate sensory neurons identifies cell types associated with chronic pain. *Nat Commun* 2021;12(1):1510.

[15] Li Y, North RY, Rhines LD, Tatsui CE, Rao G, Edwards DD, Cassidy RM, Harrison DS, Johansson CA, Zhang H, Dougherty PM. DRG Voltage-Gated Sodium Channel 1.7 Is Upregulated in Paclitaxel-Induced Neuropathy in Rats and in Humans with Neuropathic Pain. *J Neurosci* 2018;38(5):1124-1136.

[16] Liu C, Au JD, Zou HL, Cotten JF, Yost CS. Potent activation of the human tandem pore domain K channel TRESK with clinical concentrations of volatile anesthetics. *Anesth Analg* 2004;99(6):1715-1722.

[17] Middleton SJ, Barry AM, Comini M, Li Y, Ray PR, Shiers S, Themistocleous AC, Uhelski ML, Yang X, Dougherty PM, Price TJ, Bennett DL. Studying human nociceptors: from fundamentals to clinic. *Brain* 2021;144(5):1312-1335.

[18] Moy JK, Hartung JE, Duque MG, Friedman R, Nagarajan V, Loeza-Alcocer E, Koerber HR, Christoph T, Schroder W, Gold MS. Distribution of functional opioid receptors in human dorsal root ganglion neurons. *Pain* 2020;161(7):1636-1649.

[19] Nadeau SE. Opioids for chronic noncancer pain: To prescribe or not to prescribe-What is the question? *Neurology* 2015;85(7):646-651.

[20] Nguyen NQ, von Buchholtz LJ, Reker AN, Ryba NJP, Davidson S. Single-nucleus transcriptomic analysis of human dorsal root ganglion neurons. *eLife* 2021;10:e71752.

[21] North RY, Li Y, Ray P, Rhines LD, Tatsui CE, Rao G, Johansson CA, Zhang H, Kim YH, Zhang B, Dussor G, Kim TH, Price TJ, Dougherty PM. Electrophysiological and transcriptomic correlates of neuropathic pain in human dorsal root ganglion neurons. *Brain* 2019;142(5):1215-1226.

[22] Pajouhesh H, Beckley JT, Delwig A, Hajare HS, Luu G, Monteleone D, Zhou X, Ligutti J, Amagasu S, Moyer BD, Yeomans DC, Du Bois J, Mulcahy JV. Discovery of a selective, state-independent inhibitor of NaV1.7 by modification of guanidinium toxins. *Sci Rep* 2020;10(1):14791.

[23] Price TJ, Basbaum AI, Bresnahan J, Chambers JF, De Koninck Y, Edwards RR, Ji RR, Katz J, Kavelaars A, Levine JD, Porter L, Schechter N, Sluka KA, Terman GW, Wager TD, Yaksh TL,



Dworkin RH. Transition to chronic pain: opportunities for novel therapeutics. *Nat Rev Neurosci* 2018;19(7):383-384.

[24] Radbruch L, Elsner F. Emerging analgesics in cancer pain management. *Expert Opin Emerg Drugs* 2005;10(1):151-171.

[25] Ray P, Torck A, Quigley L, Wangzhou A, Neiman M, Rao C, Lam T, Kim JY, Kim TH, Zhang MQ, Dussor G, Price TJ. Comparative transcriptome profiling of the human and mouse dorsal root ganglia: an RNA-seq-based resource for pain and sensory neuroscience research. *Pain* 2018;159(7):1325-1345.

[26] Renthal W, Chamesian A, Curatolo M, Davidson S, Burton M, Dib-Hajj S, Dougherty PM, Ebert AD, Gereau RWt, Ghetti A, Gold MS, Hoben G, Menichella DM, Mercier P, Ray WZ, Salvemini D, Seal RP, Waxman S, Woolf CJ, Stucky CL, Price TJ. Human cells and networks of pain: Transforming pain target identification and therapeutic development. *Neuron* 2021;109(9):1426-1429.

[27] Rostock C, Schrenk-Siemens K, Pohle J, Siemens J. Human vs. Mouse Nociceptors – Similarities and Differences. *Neuroscience* 2018;387:13-27.

[28] Rowbotham MC, Duan RW, Thomas J, Nothaft W, Backonja MM. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial evaluating the efficacy and safety of ABT-594 in patients with diabetic peripheral neuropathic pain. *Pain* 2009;146(3):245-252.

[29] Serrano A, Mo G, Grant R, Pare M, O'Donnell D, Yu XH, Tomaszewski MJ, Perkins MN, Seguela P, Cao CQ. Differential expression and pharmacology of native P2X receptors in rat and primate sensory neurons. *J Neurosci* 2012;32(34):11890-11896.

[30] Sharma N, Flaherty K, Lezgiyeva K, Wagner DE, Klein AM, Ginty DD. The emergence of transcriptional identity in somatosensory neurons. *Nature* 2020;577(7790):392-398.

[31] Shiers S, Klein RM, Price TJ. Quantitative differences in neuronal subpopulations between mouse and human dorsal root ganglia demonstrated with RNAscope in situ hybridization. *Pain* 2020;161(10):2410-2424.

[32] Shiers SI, Sankaranarayanan I, Jeevakumar V, Cervantes A, Reese JC, Price TJ. Convergence of peptidergic and non-peptidergic protein markers in the human dorsal root ganglion and spinal dorsal horn. *J Comp Neurol* 2021;529(10):2771-2788.

[33] Tavares-Ferreira D, Shiers S, Ray PR, Wangzhou A, Jeevakumar V, Sankaranarayanan I, Cervantes A, Reese JC, Chamessian A, Copits BA, Dougherty PM, Gereau RW, Burton MD, Dussor G, Price TJ. Spatial transcriptomics reveals unique molecular fingerprints of human nociceptors. *bioRxiv* 2021:2021.2002.2006.430065.

[34] Thomas-Tran R, Du Bois J. Mutant cycle analysis with modified saxitoxins reveals specific interactions critical to attaining high-affinity inhibition of hNav1.7. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016;113(21):5856-5861.

[35] Usoskin D, Furlan A, Islam S, Abdo H, Lonnerberg P, Lou D, Hjerling-Leffler J, Haeggstrom J, Kharchenko O, Kharchenko PV, Linnarsson S, Ernfors P. Unbiased classification of sensory neuron types by large-scale single-cell RNA sequencing. *Nat Neurosci* 2015;18(1):145-153.

[36] Valeyev AY, Hackman JC, Wood PM, Davidoff RA. Pharmacologically novel GABA receptor in human dorsal root ganglion neurons. *J Neurophysiol* 1996;76(5):3555-3558.

[37] Valtcheva MV, Copits BA, Davidson S, Sheahan TD, Pullen MY, McCall JG, Dikranian K, Gereau RW. Surgical extraction of human dorsal root ganglia from organ donors and preparation of primary sensory neuron cultures. *Nat Protoc* 2016;11(10):1877-1888.

[38] Walker JR, Novick PA, Parsons WH, McGregor M, Zablocki J, Pande VS, Du Bois J. Marked difference in saxitoxin and tetrodotoxin affinity for the human nociceptive voltage-gated sodium channel (Nav1.7) [corrected]. Proc Natl Acad Sci U S A 2012;109(44):18102-18107.

[39] Zhang X, Hartung JE, Friedman RL, Koerber HR, Belfer I, Gold MS. Nicotine Evoked Currents in Human Primary Sensory Neurons. J Pain 2019;20(7):810-818.

[40] Zhang X, Priest BT, Belfer I, Gold MS. Voltage-gated Na<sup>+</sup> currents in human dorsal root ganglion neurons. Elife 2017;6.

[41] Zheng Y, Liu P, Bai L, Trimmer JS, Bean BP, Ginty DD. Deep Sequencing of Somatosensory Neurons Reveals Molecular Determinants of Intrinsic Physiological Properties. Neuron 2019;103(4):598-616 e597.

## AUTHORS

Sulayman D. Dib-Hajj, Robert W. Gereau 4th, Steve Davidson, Theodore J. Price, PhD, and Michael S. Gold

## Translation

Mizuho Sumitani, MD

Department of Pain and Palliative Medicine, The University of Tokyo Hospital, Tokyo, Japan



Masahiko Sumitani, MD, PhD

Department of Pain and Palliative Medicine, The University of  
Tokyo Hospital, Tokyo, Japan

Department of Pain and Palliative Medical Sciences, Faculty of  
Medicine, The University of Tokyo, Tokyo, Japan