# 電位依存性ナトリウム・カリウムチャネルの神経障害性疼痛に伴う発現異常の分子機構


| メタデータ | 言語: Japanese |
| --- | --- |
| | 出版者: |
| | 公開日: 2017-12-22 |
| | キーワード (Ja): |
| | キーワード (En): |
| | 作成者: 横山, 茂, Yokoyama, Shigeru |
| | メールアドレス: |
| | 所属: |
| URL | https://doi.org/10.24517/00049440 |

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 3.0 International License.

KAKEN
2002
34
金沢大学

# 電位依存性ナトリウム・カリウムチャネルの神経障害性疼痛に伴う発現異常の分子機構

（課題番号　11680753）

平成11年度～平成14年度科学研究費補助金
基盤研究C(2)研究成果報告書

平成15年5月

研究代表者　横山　茂
（金沢大学大学院医学系研究科・助教授）

金沢大学附属図書館
0300-02139-9

KALEN
2002
34

目次

1. はしがき
2. 研究分担者
3. 研究経費（配分額）
4. 研究発表
5. 研究成果による工業所有権の出願・取得状況
6. 研究成果
巻末　出版物等の添付

---

1. はしがき

痛みは医学の根本的な課題の一つである。なかでも神経障害性疼痛は、神経組織が損傷を受けた後に発生し、交通事故、労働災害による外傷の後遺症として重要な問題となっている。また、糖尿病、帯状疱疹をはじめとする多くの疾患に伴う末梢性の痛みも同じ範疇に含められており、神経障害性疼痛に苦しむ患者の総人口は大きい。この疼痛は組織損傷の治癒後も遷延化するため、長期にわたる薬物投与と理学療法のための医療費負担も少なくない。このため、新しい治療法の確立が望まれている。

末梢感覚ニューロン障害では、障害部位及び脊髄後根神経節の細胞体において異常自発性放電活動が観察される。このことは多くの疾患で共通する疼痛・知覚異常の要因と考えられている。この自発性放電現象は旧来の電気生理学的研究に基ずいて、ナトリウム($Na^+$)チャネルとカリウム($K^+$)チャネルの相対的な活動状態の変化によるものとして説明されている。しかしながら、この発生機序をを分子生物学的あるいは生化学的に掘り下げて解析した研究は僅かであった。本研究では、損傷ニューロンで異常発現を示す電位依存性 $Na^+$、$K^+$チャネルのサブタイプの特定を試みた。

2．研究組織

研究代表者：横山　茂（金沢大学大学院医学系研究科・助教授）
研究分担者：星　直人（金沢大学大学院医学系研究科・助手）
研究分担者：東田陽博（金沢大学大学院医学系研究科・教授）

3. 研究経費（配分額）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---|---|---|---|
| 平成 11 年度 | 1,000 千円 | 0 | 1,000 千円 |
| 平成 12 年度 | 800 千円 | 0 | 800 千円 |
| 平成 13 年度 | 800 千円 | 0 | 800 千円 |
| 平成 14 年度 | 800 千円 | 0 | 800 千円 |
| 総計 | 3,400 千円 | 0 | 3,400 千円 |

4. 研究発表

<u>学会誌等</u>

Yokoyama, S., Takeda, H., and Higashida, H. (1999). Expression of Kv1.2 potassium channels in rat sensory ganglia: an immunohistochemical study. Ann. NY. Acad. Sci. 868, 454-457.

横山茂　図説　細胞膜受容体の構造分類と機能特性　日本臨床　60: 218-220 (2002)

Macica, C. M., von Hehn, C. A. A., Yang-Wang, L., Ho, C. S., Yokoyama, S., Joho, R. H., and Kaczmarek, L. K. (2003). Modulation of the Kv3.1b potassium channel isoform adjusts the fidelity of the firing pattern of auditory neurons. J. Neurosci.23, 1133-1141.

Yokoyama, S., Hasegawa, M., Shin, Y., Yamashita, J., and Higashida, H. Predominant expression of Kv1.1 and Kv1.2, voltage-gated potassium channel subunits, in primary cutaneous and muscle afferentiation of the rat. 発表予定

口頭発表

横山茂 「$Na^+$チャンネル・$K^+$チャンネルと知覚障害」 第 42 回日本神経化学会大会公開シンポジウム講演 1999 年 9 月 16 日 広島国際会議場 広島

Macica, C. M., Yokoyama, S., and Kaczmarek, L. K. (1999). Kv3.1 isoforms differ in their response to PKC and a phosphatase. Soc. Neurosci. Abstr. 25, 686.1. 1999 年 10 月 27 日 Miami, U.S.A.

Yokoyama, S., Shin, Y., and Higashida, H. (1999). Immunohistochemical localization of the Kv1.1 potassium channel subunit in rat sensory ganglia. Soc. Neurosci. Abstr. 25, 893.21. 1999年10月28日 Miami, U.S.A.

Yokoyama, S., Hasegawa, M., Shin, Y., Yamashita, J., and Higashida, H. (2000) Immunohistochemical localization of potassium channel subunits, Kv1.1 and Kv1.2, in rat primary sensory neurons. Soc. Neurosci. Abstr. 26, 156.10. 2000年10月28日 New Orleans, U.S.A.

Yokoyama, S., Hasegawa, M., Shin, Y., Yamashita, J., and Higashida, H. (2001) Immunohistochemical localization of voltage-gated potassium channel subunits, Kv1.1 and Kv1.2, in rat primary sensory neurons. Neurochem. Res. 26, 294, 1P-02. 2001年10月18日 金沢市観光会館 金沢

横山茂 「慢性疼痛の分子生物学的機序 -イオンチャネルの発現解析によるアプローチ-」 第 3 北海道機能神経外科研究会特別講演 2002 年 11 月 16 日 札幌プリンスホテル国際館パミール 札幌

出版物

東田陽博，横山茂，星直人 イオンチャネル 三輪書店 印刷中

5. 研究成果による工業所有権の出願・取得状況

特記すべきことなし

6. 研究成果

得られた知見等

研究経過・結果は以下の通りである。

① ラット膜電位依存性カリウムチャネルの構成サブユニット（Kv1.1 と Kv1.2)のアミノ酸配列にもとずく合成ペプチドをウサギに免疫し、抗血清を抗原ペプチド結合カラムクロマトグラフィーによって精製した。

② 上記抗体を用いて Kv1.1 あるいは Kv1.2 の相補 DNA を導入した COS-7 細胞で特異的な免疫染色が認められた。いずれの抗体でも、ラット小脳膜分画を用いたウエスタンブロット解析において、特異的なバンドを検出された。

③ ラット腰部脊髄後根神経節と三叉神経節を酵素抗体法によって染色したところ、Kv1.1 あるいは Kv1.2 の免疫反応性は中型から大型の神経細胞体で観察された。これらの細胞体の 50%以上はニューロフィラメント（RT97）陽性であった。ペリフェリンと同時陽性の細胞は僅かであった。

④ 脊髄後角では、Kv1.1、Kv1.2 の免疫反応性は深部 III-IV 層で顕著であった。

⑤ ヒラメ筋では、Kv1.1 および Kv1.2 の免疫反応性が螺旋状の構造物に認められ、抗ニューロフィラメント抗体にも反応性を示したことから感覚ニューロンの末梢側受容体であることが示唆された。

⑥ 下肢皮下への蛍光標識金コロイド注入後に標識される L4 後根神経節内の細胞体の一部は Kv1.1 あるいは Kv1.2 陽性であり、皮膚感覚ニューロンの少なくとも一部にこれらのチャネルが発現していることが示された。

⑦ 坐骨神経切断後の腰部脊髄後根神経節で Kv1.1 および Kv1.2 の免疫反応性の低下が認められた。

以上の結果から、Kv1.1、Kv1.2 チャネルは生理的状態で筋および皮膚に分布する非侵害性感覚受容ニューロンにおける活動電位の大きさ、頻度、伝播等を調節していると示唆された。また神経損傷後の感覚ニューロンでは、これらのチャネルの発現低下によって膜興奮性が上昇して痛覚過敏、アロディニアの一因となる可能性が推測された。

これらの結果の一部は、Yokoyama, S., Takeda, H., and Higashida, H. (1999). Expression of Kv1.2 potassium channels in rat sensory ganglia: an immunohistochemical study. Ann. NY. Acad. Sci. 868, 454-457. として発表した。また、主要部分は、Yokoyama, S., Hasegawa, M., Shin, Y., Yamashita, J., and Higashida, H. Predominant expression of Kv1.1 and Kv1.2, voltage-gated potassium channel subunits, in primary cutaneous and muscle afferentiation of the rat. として発表予定である。

今後の展開に関する展開等

Kv1.1、Kv1.2 チャネルの発現低下と神経障害性疼痛の発生との間に因果関係があることを立証する必要があると考える。今後は以下の点を検討したいと考えている。

① 神経損傷後に脊髄後角 III-IV 層に存在する Kv1.1、Kv1.2 陽性一次感覚ニューロンが、I-II 層の二次感覚ニューロンと機能的シナプスをつくるようになるのか。

② 外来性に Kv1.1、Kv1.2 チャネルのドミナント・ネガティブ型を導入することによって末梢感覚受容ニューロンの興奮の閾値を下げることができるか。さらに、このことが知覚過敏を起こすことが個体レベルで観察できるか。