

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：34533

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09048

研究課題名(和文) TRPとAMPK機能連関に着目した糖尿病性神経障害における疼痛過敏機序の解明

研究課題名(英文) Mechanism of pain hypersensitivity of diabetic neuropathy involving functional interaction of TRP channels and AMP kinase

研究代表者

戴 毅 (Dai, Yi)

兵庫医療大学・薬学部・教授

研究者番号：20330441

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究はまず、感覚神経細胞に発現する疼痛センサーTRPA1チャンネルの内向き電流がAMPKの活性化によって抑制する現象を突き止めた。つぎに、AMPKが活性化すると神経細胞全体におけるTRPA1の発現量が変化しないものの、細胞膜上における発現量は減少することを明らかにした。さらに、糖尿病モデルマウスにおいて、知覚神経におけるAMPK活性の低下や機械刺激に対する疼痛過敏が血糖値に依存的に発生したことや、疼痛過敏はAMPKの活性化によって軽減することを明らかにした。これらの結果は、生体におけるAMPKはTRPA1に対して負の制御を行うことを示唆し、有痛性糖尿病性神経障害の新しい発症機序を解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、感覚神経に発現している疼痛センサー(TRPA1)は、エネルギー代謝センサー(AMPK)とそのシグナルによって負の制御を受ける新しい生理現象を解明した。本研究結果は、糖尿病や肥満症など体内エネルギー代謝異常による感覚神経機能の変調(疼痛過敏など)の発症機序を示唆した。また、メトホルミン(商品名メトグルコ)など細胞AMPKシグナルをコントロールする薬剤の疼痛緩和効果が証明された。今後、これに基づく疼痛治療薬の開発や、既存AMPK薬剤の適応拡大に繋がる臨床試験が期待され、糖尿病性ニューロパチーの患者にとって希望をもたらすであろう。

研究成果の概要(英文)：In this study, we demonstrated a functional interaction between AMP activated protein kinase (AMPK) and transient receptor potential (TRP) channels in dorsal root ganglion (DRG) neurons, in which AMPK activation resulted in downregulation of membrane-associated TRPA1 and its channel activity in both short-term and long-term manner. Treatment with two AMPK activators, metformin or AICAR, inhibited TRPA1 activity in DRG neurons by decreasing the amount of membrane-associated TRPA1. Conversely, in diabetic db/db mice, AMPK activity was impaired in DRG neurons, and this was associated with a concomitant increase in membrane-associated TRPA1 and mechanical allodynia. Notably, these molecular and behavioral changes were normalized following treatment with AMPK activators. Our results identify AMPK as a previously unknown regulator of TRPA1 channels. AMPK modulation of TRPA1 could thus serve as an underlying mechanism and potential therapeutic molecular target in painful diabetic neuropathy.

研究分野：神経科学

キーワード：糖尿病性ニューロパチー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

糖尿病性神経障害(diabetic polyneuropathy: DPN)は糖尿病患者の4割が発症し、もっとも多い合併症である。有痛性の場合には糖尿病の早期から発症し、患者のQOLを低下させる要因の1つである。その発症機序は代謝因子、遺伝因子など多くの因子が関与しており、それらが相互に、あるいは相乗的に作用するものと考えられているが、疼痛過敏などの感覚障害に至るメカニズムが解明されておらず、有効な治療法が確立されていない(Mizukami, Diabetes Frontier 2015)。

AMPKは、低グルコースや低酸素状態、虚血、熱ショックなど、細胞へのATP供給を枯渇させるようなストレスに応答して活性化し、糖の取り込み・脂肪酸酸化といったエネルギー産生を促進する一方、脂肪酸合成・タンパク質合成などのエネルギー消費経路を抑制し、結果的に細胞内のエネルギーを回復させる方向へと導く。糖尿病の場合は細胞が高グルコースにさらされているため、細胞におけるAMPKの活性化が抑制されている。一次知覚神経におけるAMPK活性の低下はDPNの発症に寄与する可能性が指摘されている一方、そのメカニズム、特にTRPチャンネルとの関連が不明である。

2. 研究の目的

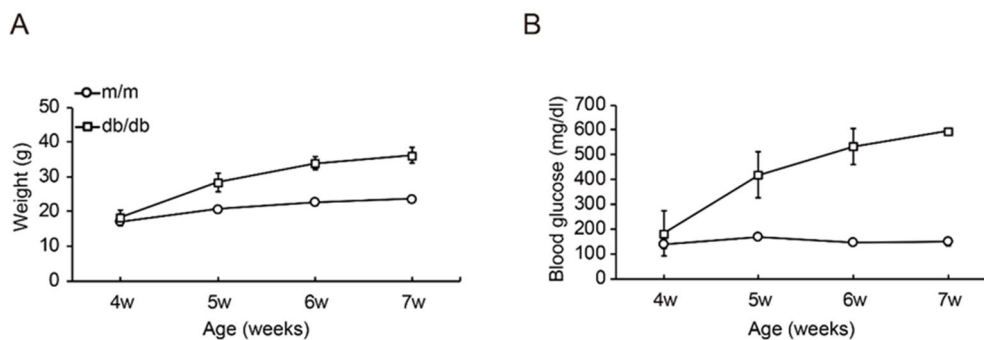
本研究はAMPKシグナルによるTRPチャンネル型受容体の機能調節に着目し、DPN疼痛過敏発症におけるAMPKの役割とその分子メカニズムを解明し、新規治療法の確立を目指す。

3. 研究の方法

- (1) DPNモデル動物を用いて、疼痛過敏・感覚異常の発生時期、血糖値の経時変化、各TRPチャンネル(疼痛関連性の高いTRPA1, TRPV1, TRPM8, TRPV4を中心に)発現・機能変化、AMPKの活性化変化(その下流シグナルを含む)を確認し、その相互関係を明らかにする。(行動薬理学実験法と組織形態学的実験法)
- (2) DPN病態モデル動物を用いて、TRPチャンネルを介したAMPKシグナルによる疼痛制御のメカニズムを細胞・分子レベルで解明する。(電気生理学、分子生物学、遺伝子工学実験法)
- (3) TRP/AMPK機能連関に基づくDPN新規治療薬の探索。(行動薬理学実験法)

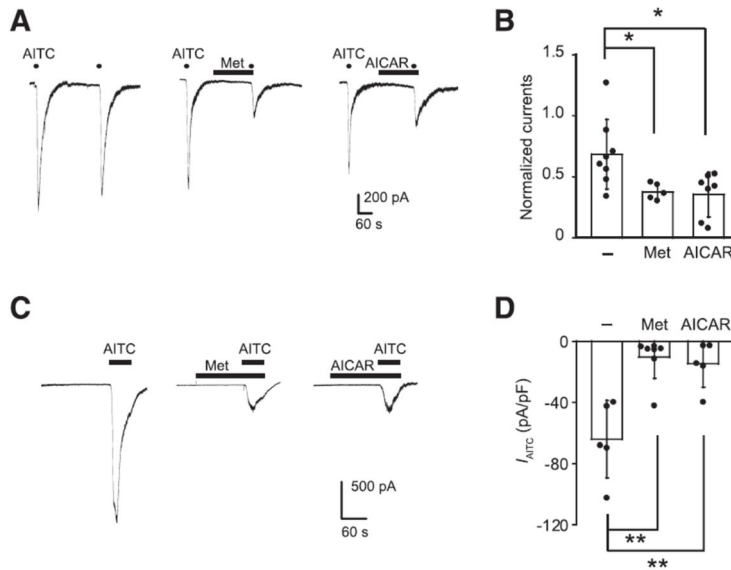
4. 研究成果

- (1) DPNモデル動物は体重と血糖値が上昇する



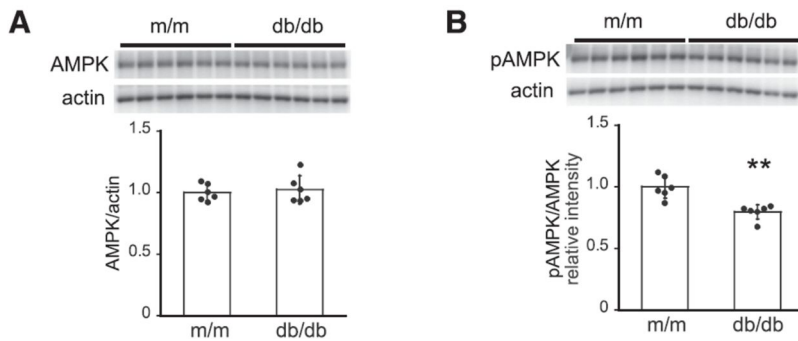
- (db/dbマウスは5週齢から体重と血糖値の上昇が見られた)

(2) AMPK の活性化は TRPA1 チャンネル機能を調節する



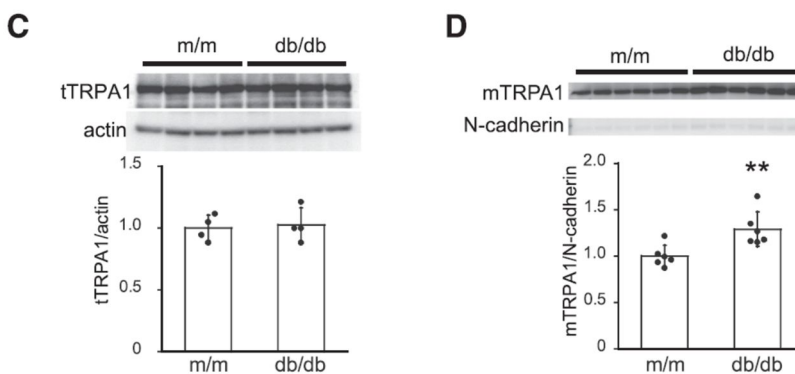
(パッチクランプ法: AMPK アゴニストである Metformin と AICAR 投与は、DRG ニューロンにおける TRPA1 電流を抑制した)

(3) DPN モデル動物 DRG ニューロンにおける AMPK の活性化が减弱する



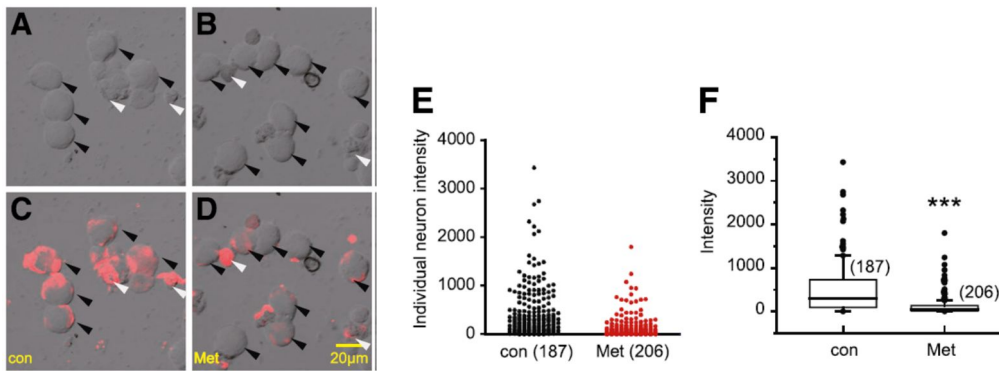
(Western Blot: db/db マウスにおけるリン酸化 AMPK の発現量は減少した)

(4) DPN モデル動物 DRG ニューロンにおける TRPA1 チャンネルの膜発現が増加する

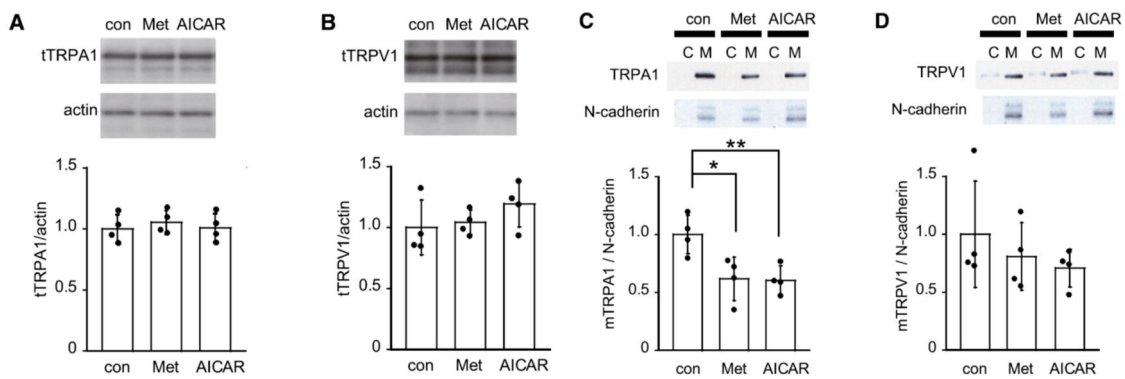


(Western Blot: db/db マウスにおける TRPA1 の膜発現量は増加した)

(5) AMPK 活性が DRG ニューロンの TRPA1 チャンネル発現を制御する (In vitro 実験)

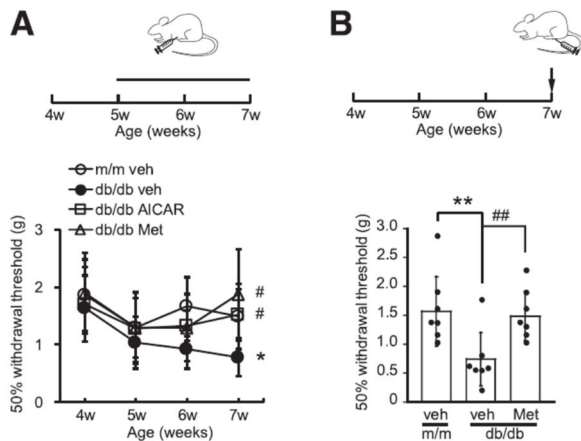


(免疫染色法: Metformin 投与は培養 DRG ニューロンの TRPA1 発現を減少させた)



(Western Blot: Metformin と AICAR 投与は培養 DRG ニューロンにおける TRPA1 の膜発現を減少させた)

(6) AMPK アゴニストが DPN モデル動物の疼痛過敏を抑制する



(疼痛行動 Von Frey テスト: AMPK 活性化薬剤の長期および短期投与は db/db マウスの疼痛行動を抑制した)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yang Yanjing, Wang Shenglan, Kobayashi Kimiko, Hao Yongbiao, Kanda Hiroto, Kondo Takashi, Kogure Yoko, Yamanaka Hiroki, Yamamoto Satoshi, Li Junxiang, Miwa Hiroto, Noguchi Koichi, Dai Yi	4. 巻 4
2. 論文標題 TRPA1-expressing lamina propria mesenchymal cells regulate colonic motility	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 e122402
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.122402	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 戴 毅	4. 巻 12
2. 論文標題 【感覚受容 最前線】皮膚感覚 TRPA1チャンネルと痛み	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clinical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1491 - 1494
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Wang Shenglan, Kobayashi Kimiko, Kogure Yoko, Yamanaka Hiroki, Yamamoto Satoshi, Yagi Hideshi, Noguchi Koichi, Dai Yi	4. 巻 67
2. 論文標題 Negative Regulation of TRPA1 by AMPK in Primary Sensory Neurons as a Potential Mechanism of Painful Diabetic Neuropathy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Diabetes	6. 最初と最後の頁 98 ~ 109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2337/db17-0503	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 2件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Yi Dai
2. 発表標題 Cellular mechanisms of TRPA1 channel modulation in primary sensory neurons
3. 学会等名 日本疼痛学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shenglan Wang, Kimiko Kobayashi, Yoko Kogure, Hiroki Yamanaka, Satoshi Yamamoto, Hideshi Yagi, Koichi Noguchi, Yi Dai.
2. 発表標題 AMPK-regulated neuronal TRPA1 plasma membrane expression in painful diabetic neuropathy
3. 学会等名 47th annual meeting of neuroscience, USA (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 王勝蘭, 小林希実子, 小暮洋子, 山中博樹, 山本悟史, 八木秀司, 野口光一, 戴 毅
2. 発表標題 一次知覚神経におけるAMPキナーゼによるTRPA1膜発現の制御
3. 学会等名 第39回日本疼痛学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 戴 毅
2. 発表標題 痛みの漢方治療とその科学的理解
3. 学会等名 第49回日本ペインクリニック学会関西地方会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 51.YANG Y, WANG S, KOBAYASHI K, KANDA H, KOGURE Y, YAMAMOTO S, YAMANAKA H, NOGUCHI K, DAI Y
2. 発表標題 , Trpa1-expressing lamina propria mesenchymal cells regulate colonic motility through prostaglandin release
3. 学会等名 Neuroscience 2019. Chicago USA; 2019. 10. 19 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究論文が、米国の権威ある医学雑誌「Diabetes」に掲載
<https://www.huhs.ac.jp/7282>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	野口 光一 (Noguchi Koichi) (10212127)	兵庫医科大学・医学部・教授 (34519)	
連携研究者	王 勝蘭 (Wang Shenglan) (50714359)	兵庫医療大学・薬学部・研究員 (34533)	
連携研究者	八木 秀司 (Yagi Hideshi) (10303372)	兵庫医科大学・医学部・教授 (34519)	
連携研究者	小暮 洋子 (Kogure Yoko) (60548684)	兵庫医療大学・薬学部・助教 (34533)	