

令和 2 年 6 月 16 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10046

研究課題名(和文) ナトリウムチャネル異常による遺伝性疼痛症の臨床的多様性の病態解析

研究課題名(英文) Voltage gated sodium channel-related hereditary pain diseases

研究代表者

高橋 勉 (TAKAHASHI, TSUTOMU)

秋田大学・医学系研究科・教授

研究者番号：20270845

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：電位依存性Naチャネル(Nav1.7~9)が病因の新たな疼痛疾患の1つとして、著者らはSCN11Aの変異R222Hによる「小児四肢疼痛発作症」を見出した。本研究では新たにSCN11Aの変異F814C、F1146S、R225C、V1184Aと、SCN9Aの変異E44Qによる「小児四肢疼痛発作症」家系を同定した。F814CとF1146Sではknock-inマウスの後根神経線維を用いた電気生理学的解析で疼痛誘導性gain-of-functionを証明した。E44Qについては培養細胞に変異-サブユニットとサブユニットの共発現系によりE44Qの特性を電気生理学的手法によりチャネル特性を明らかとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

末梢神経疼痛伝達に関する電位依存型Naチャネル(VGSC)は遺伝性疼痛疾患の原因であり、その研究の進歩により臨床診断例が増えている。国内で「小児四肢疼痛発作症」というVGSCのNav1.9の変異R222Hが原因の小児期のみ疼痛発作を繰り返す新規疾患が同定された。本研究では本症の原因となる新たなNav1.9の変異の同定とその電気生理学的特性の解析、また、Nav1.7の変異もその原因となり得ることを電気生理学的な特性とともに明らかにしたことから「小児四肢疼痛発作症」の病因的多様性が明らかになった。現在治療法はないが、今後のチャネルをターゲットした治療薬への発展の可能性も示した。

研究成果の概要(英文)：Mutations in the voltage gated sodium channels, Nav1.7-9, cause some pain related disorders including loss of pain, painful SFN, and familial episodic pain. We previously identified a novel disease entity of episodic limb pain disease (ELPD) caused by the R222H in the SCN11A gene encoding Nav1.9. This disease is characterized by intolerable pain episodes, which recurrent only during childhood. In this research, four new mutations of the Nav1.9, R225C, F814C, F1146S, and V1184A, and a mutation of the Nav1.7, E44Q, were identified in the Japanese patients with ELPD. Electrophysiological investigations using DRG neurons from knock-in mouse models harboring the F814C and F1146S mutations showed increased resting membrane potentials and firing frequency of the action potentials by high input-current stimulus. An electrophysiological investigation indicated gain-of-function attributes of the newly described E44Q mutation at the channel levels, showing the genetic variety in ELPD.

研究分野：小児科学、先天代謝異常症

キーワード：ナトリウムチャネル 小児四肢疼痛発作症 パッチクランプ法 ボルテージクランプ法 カレントクランプ法 Nav1.9 SCN11A

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

遺伝性疼痛疾患の原因解明が進み病因遺伝子の発見と電気生理学的な病因解明が成されている。電位依存性 Na⁺チャンネルは α サブユニットから構成されるが、サブユニット (Nav1.1 ~ Nav1.9) のうち Nav1.7 は感覚神経線維、Nav1.8、Nav1.9 は小型侵害受容ニューロンに存在し疼痛発症に關与する。Nav1.7 異常による先天性無痛症が初めて報告されて以降、Nav1.7 が關与する四肢疼痛症、小径神経線維ニューロパシー、Nav1.8 が關与する神経症や Brugata 症候群、そして、最近、Nav1.9 が關与する先天性無痛症、家族性発作性疼痛症が海外より報告された。これらの報告は Nav1.7、Nav1.8、Nav1.9 はヒトの疼痛制御に強く關与していることを示している。さらに、申請者らは 2016 年に Nav1.9 をコードする SCN11A 遺伝子の 2 つの機能獲得型の変異 (R222H、R222S) が、小児期 (乳児期から思春期) に四肢に発作性の疼痛を繰り返して起こす新規疾患「小児四肢疼痛発作症」を国内で見出した¹⁾。これらの遺伝性疼痛疾患では、何故、機能獲得型変異が「無痛症と疼痛症」の違った臨床型をもたらす機序や、何故、機能獲得型変異が「若年発症と成人後期発症」の発症時期の違う疼痛症を引起すか、など解明されていない点が多い。また、現在これらの Na⁺チャンネルをターゲットとした新たな疼痛治療薬の開発が世界的に進められている。

2. 研究の目的

3 つの電位依存性 Na⁺チャンネル (Nav1.7、Nav1.8、Nav1.9) は、遺伝性疼痛疾患の原因であるが、機能獲得型変異が 3 つの臨床型 1)先天性無痛症、2)乳児発症疼痛症：小児四肢疼痛発作症、3)成人後期発症疼痛症：疼痛性 small fiber neuropathy、の異なる臨床型を引起すかを、電気生理学解析、薬剤応答性、細胞内の蛋白輸送・局在の調節機構、以上 3 つの方法で解析して、分子病態と解明することを目的とした。

3. 研究の方法

3 つの臨床型 1)先天性無痛症、2)乳児発症疼痛症：小児四肢疼痛発作症、3)成人後期発症疼痛症：疼痛性 small fiber neuropathy、の原因となる既報あるいは新規の遺伝子変異を有する Na⁺チャンネルを培養細胞に発現して、チャンネル特性に關してパッチクランプ法を用いて電気生理学的に解析する。また、遺伝子変異を有する knock-in マウスを作成して後根神経線維を用いた電気生理学的解析で解析する。その他として、薬剤応答性や細胞内輸送・局在の調節に關しても解析する。

4. 研究成果

国内の新たな小児期遺伝性疼痛症の解析から、Nav1.9 (SCN11A 遺伝子) について新たな変異 F814C、F1146S、R225C、V1184A を有する家系を同定した。2 つの変異 (F814C と F1146S) については knock-in マウスを作成して後根神経線維を用いた電気生理学的解析 (カレントクランプ法) で疼痛誘導性 gain-of-function を証明し、「小児四肢疼痛発作症」の遺伝子変異の多様性を明らかとした²⁾。さらに小児四肢疼痛発作症の家系に、Nav1.7 (SCN9A 遺伝子) の新たな E44Q を見出した。本変異に關しては、培養細胞 HEK に対して サブユニット GFP 融合発現プラスミドとサブユニット発現プラスミドの共発現系を作成して変異 Na⁺チャンネル Nav1.7 (E44Q) の特性を電気生理学的手法 (ボルテージクランプ法) にてそのチャンネル特性を明らかとした。

<引用文献>

- 1) Okuda H, Noguchi A, Kobayashi H, Kondo D, Harada KH, Youssefian S, Shioi H, Kabata R, Domon Y, Kubota K, Kitano Y, Takayama Y, Hitomi T, Ohno K, Saito Y, Asano T, Tominaga M, Takahashi T, Koizumi A. Infantile Pain Episodes Associated with Novel Nav1.9 Mutations in Familial Episodic Pain Syndrome in Japanese Families. PLoS One. 2016, 11: e0154827.
- 2) Kabata R, Okuda H, Noguchi A, Kondo D, Fujiwara M, Hata K, Kato Y, Ishikawa K, Tanaka M, Sekine Y, Hishikawa N, Mizukami T, Ito J, Akasaka M, Sakurai K, Yoshida T, Minoura H, Hayashi T, Inoshita K, Matsuyama M, Kinjo N, Cao Y, Inoue S, Kobayashi H, Harada KH, Youssefian S, Takahashi T, Koizumi A. Familial episodic limb pain in kindreds with novel Nav1.9 mutations. PLoS One. 2018; 13(12): e0208516.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kabata R, Okuda H, Noguchi A, Kondo D, Fujiwara M, Hata K, Kato Y, Ishikawa K, Tanaka M, Sekine Y, Hishikawa N, Mizukami T, Ito J, Akasaka M, Sakurai K, Yoshida T, Minoura H, Hayashi T, Inoshita K, Matsuyama M, Kinjo N, Cao Y, Inoue S, Kobayashi H, Harada KH, Youssefian S, Takahashi T, Koizumi A	4. 巻 13
2. 論文標題 Familial episodic limb pain in kindreds with novel Nav1.9 mutations	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0208516
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0208516	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究分担者	小泉 昭夫 (KOIZUMI AKIO) (50124574)	京都大学・医学研究科・名誉教授 (14301)	
研究分担者	尾野 恭一 (ONO KYOICHI) (70185635)	秋田大学・医学系研究科・教授 (11401)	