

平成 21 年 6 月 15 日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19790173
 研究課題名 (和文) 後根神経節におけるノルアドレナリン刺激 ATP 放出機構の解明
 研究課題名 (英文) Noradrenaline-stimulated ATP release from dorsal root ganglion.
 研究代表者
 菅野 武史 (KANNO TAKESHI)
 兵庫医科大学・医学部・助教
 研究者番号：20434946

研究成果の概要：

難治性の慢性疼痛である神経因性疼痛の原因物質が ATP (アデノシン三リン酸) であることが、近年の研究により示唆されている。しかしながら、この ATP がどこからどのような刺激により放出されるのかは不明であった。本研究成果により、ノルアドレナリン (交感神経から放出される神経伝達物質) 刺激によって後根神経節 (痛覚など感覚を伝える経路のひとつ) の神経細胞から ATP が放出されることが解明された。

交付額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2007年度 | 1,000,000 | 0 | 1,000,000 |
| 2008年度 | 1,800,000 | 540,000 | 2,340,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 2,800,000 | 540,000 | 3,340,000 |

研究分野：神経生理学

科研費の分科・細目：基礎医学・生理学一般

キーワード：細胞生理学 ATP 放出機構

1. 研究開始当初の背景

(1) 「神経系の一次的な損傷やその機能異常が原因となる、もしくはそれによって惹起される疼痛」(1994年、国際疼痛学会)として定義される神経因性疼痛は、長期間持続する難治性の慢性疼痛であり、その患者数は世界でおよそ2,600万人(米国で1,000万人、欧州で300万人、日本で150万人)と報告されている。

(2) 一般的な鎮痛剤として使用される非ステロイド系抗炎症薬 (NSAIDs) に抵抗性を示す神経因性疼痛の治療法として、アミトリプチリンといった三環系抗うつ薬、各種神経ブロック療法、抗てんかん薬として開発されたガバペンチンが使用され始めているが、現在のところ、有効な治療法・治療薬は未だ存在しない。

2. 研究の目的

(1) 神経因性疼痛は、交通事故などの神経線維の物理的損傷だけでなく、糖尿病やガン、帯状疱疹に付随して発症することも知られており、その発症メカニズムには不明な点が多い。

(2) 近年の研究により、ATP/ATP 受容体が神経因性疼痛の発症に深く関与していることが示唆されたが、ATP 受容体を活性化する ATP が、どこからどのような刺激によって放出されるのかは未だ謎であった。

(3) 本研究は、痛覚伝達経路のひとつである後根神経節（一次感覚神経細胞の細胞体が集合している部位）における ATP の放出起源、その機序を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) ATP 受容体を活性化するためには、ATP が細胞外に放出されなければならない。しかしながら、細胞外 ATP は ecto-ATPase（細胞外 ATP 分解酵素）によって速やかに分解されるため、細胞外 ATP を検出することは困難であった。

(2) 我々が独自に開発した ATP を検出するためのバイオセンサーを用いて、後根神経節細胞からどのような刺激により ATP が放出されるのかを検討する。

(3) ATP 放出機構を、アドレナリン受容体のブロッカーや酵素の阻害剤および RNA 干渉法を用いた遺伝子ノックダウンにより検討する。

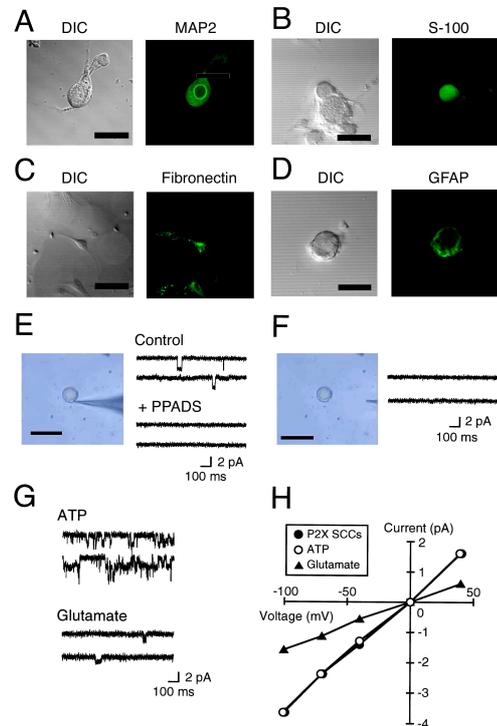
4. 研究成果

(1) 後根神経節の神経細胞には ATP 受容体のひとつである P2X 受容体が発現しているため、この細胞を単離し outside-out patch（パッチクランプ法の変法）を施行することで、ATP 放出を感知できるバイオセンサーとして開発した。

(2) 後根神経節の神経細胞（MAP2 陽性細胞）から ATP が放出されることが判明したが、ノルアドレナリン刺激によりその放出は増加した。

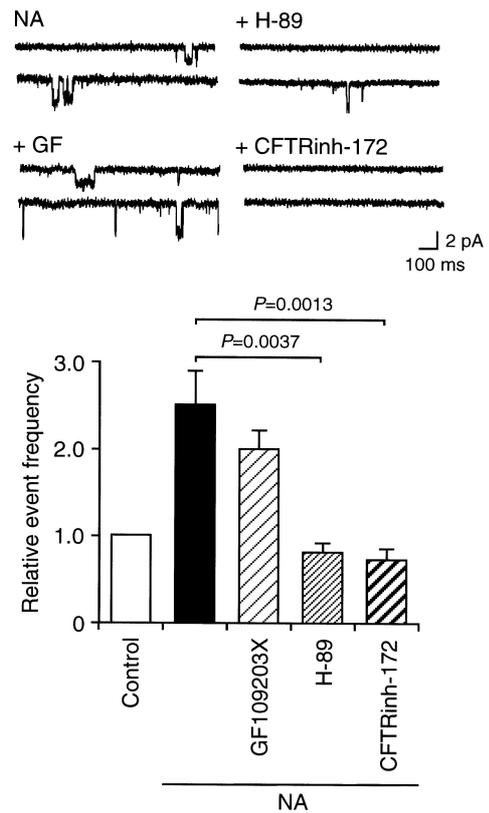
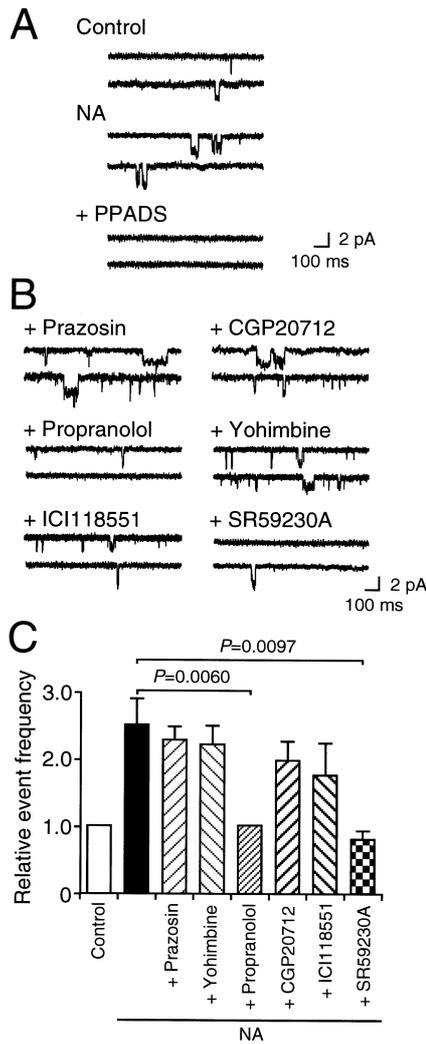
(3) 後根神経節に存在するシュワン細胞（S-100 陽性細胞）やサテライトグリア（GFAP

陽性細胞）、線維芽細胞（Fibronectin 陽性細胞）からは ATP は放出されなかった。



(4) ノルアドレナリン刺激 ATP 放出は、 α_1 アドレナリン受容体の阻害剤 Prazosin、 α_2 アドレナリン受容体の阻害剤 Yohimbine では抑制されなかったが、 β アドレナリン受容体の阻害剤 Propranolol では抑制された。また、 β_1 アドレナリン受容体の阻害剤 CGP20712、 β_2 アドレナリン受容体の阻害剤 ICI118551 では ATP 放出は抑制されなかったが、 β_3 アドレナリン受容体の阻害剤 SR59230A では有意に抑制された。

以上のことから、ノルアドレナリンは β_3 アドレナリン受容体を介して、後根神経節神経細胞からの ATP 放出を増加させることが示唆された。



(5) β_3 アドレナリン受容体の活性化によりプロテインキナーゼ A (PKA) が活性化するため、PKA の阻害剤 H-89 を投与したところ、ノルアドレナリン刺激 ATP 放出は有意に抑制されたが、プロテインキナーゼ C の阻害剤である GF109203X では抑制されなかった。

(6) ATP チャネルとして知られる囊胞性線維性膜貫通調節因子 (CFTR) の阻害剤 CFTRinh-172 でもノルアドレナリン刺激 ATP 放出は有意に抑制された。

以上のことから、ノルアドレナリンは β_3 アドレナリン受容体を活性化し、 β_3 アドレナリン受容体に共役した Gs タンパク質を介して PKA を活性化し、CFTR を通過する ATP 放出を刺激することが判明した。

(7) β_3 アドレナリン受容体の発現を siRNA (small interference RNA) を用いた RNA 干渉法によりノックダウンしたところ (ノックダウン効率率は約 70%)、ノルアドレナリン刺激 ATP 放出は有意に抑制された。

このことは、 β_3 アドレナリン受容体を標的とした、神経因性疼痛の遺伝子治療への応用として期待される。

Takeshi KANNO and Tomoyuki NISHIZAKI,
Noradrenaline stimulates ATP release
from DRG neurons, Neuroscience2007, 平成
19年11月6日, サンディエゴ (アメリカ)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

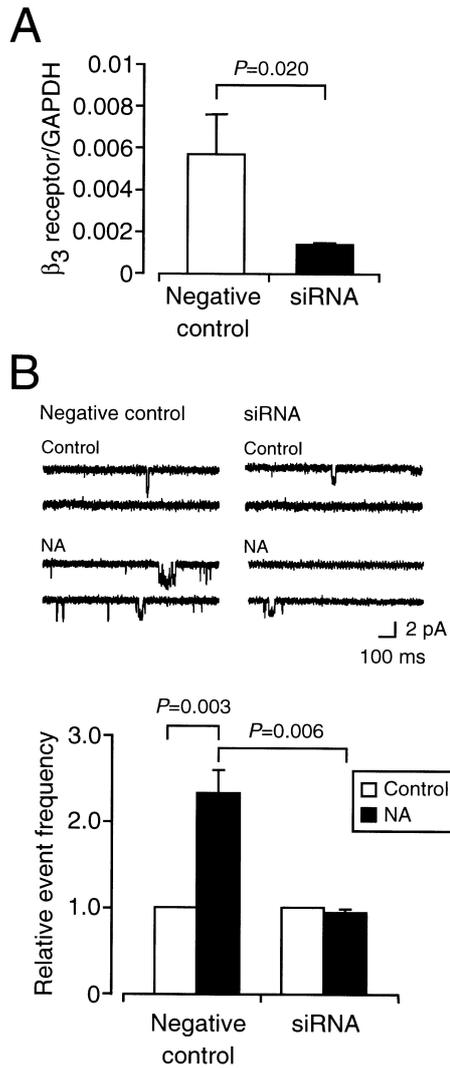
菅野 武史 (KANNO TAKESHI)
兵庫医科大学・医学部・助教
研究者番号：20434946

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし



(8) 以上のことから、後根神経節の神経細胞から放出されるATPは、β₃アドレナリン受容体→プロテインキナーゼA→囊胞性線維性膜貫通調節因子(CFTR)の経路により放出されることが判明した。

(9) 本研究成果であるATP放出機構の解明により、神経因性疼痛の治療法確立への新たな戦略基盤が形成され、神経因性疼痛の治療法開発への貢献が期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計1件)