

令和 5 年 5 月 19 日現在

機関番号：33920

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08873

研究課題名(和文) 糖尿病性多発神経障害の病態におけるATP感受性Kチャネルの役割の解明

研究課題名(英文) The roles of ATP-sensitive potassium channels in diabetic polyneuropathy

研究代表者

加藤 義郎 (Yoshiro, Kato)

愛知医科大学・医学部・教授

研究者番号：40513429

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ATP感受性カリウムチャネルの末梢神経系における生理的作用を評価した。同チャネルを末梢神経系特異的に欠損するマウスにおいて神経伝導検査および知覚機能検査を用いて末梢神経機能の変化を経時的に評価した。その結果、経時的に感覚神経機能が低下することを明らかにした。また、感覚神経機能低下を来したマウスにおいて透過型電子顕微鏡検査を用いて超微形態学的変化を評価したところ、神経線維数における変化を認めた。これらの所見に依り同チャネルが末梢神経系の恒常性維持に重要な役割を果たすことおよび同チャネルの機能不全が糖尿病性多発神経障害と同様の病態を惹起することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病性多発神経障害は高頻度に認められる糖尿病性合併症である。糖尿病の病初期より発症するにもかかわらず、その病態は詳らかではない。本研究では、糖尿病性多発神経障害の病態解明の一助となるべき知見を新たに発見した。この成果により、糖尿病性多発神経障害の発症および病態進展を予防できる治療法の開発が見込まれ、糖尿病性多発神経障害を基礎疾患とする糖尿病性足病変の予防につながることも期待できる。このことは、糖尿病に苦しめられるヒトの幸福度向上をもたらし、ヒト社会全体の幸福度向上に寄与することが予見される。

研究成果の概要(英文)：The physiological effects of ATP-sensitive potassium channels in the peripheral nervous system were evaluated. Using mice with specific defects of these channels in the peripheral nervous system, nerve conduction study and sensory function tests were performed to evaluate changes in peripheral nerve function over time. The results revealed a gradual decline in sensory nerve function. Furthermore, we observed morphological changes, such as the number of nerve fibers, in mice with reduced sensory nerve function using transmission electron microscopy. These findings indicate that these channels play an important role in the homeostasis of the peripheral nervous system and that their dysfunction causes a pathology similar to diabetic polyneuropathy.

研究分野：糖尿病学

キーワード：糖尿病性神経障害

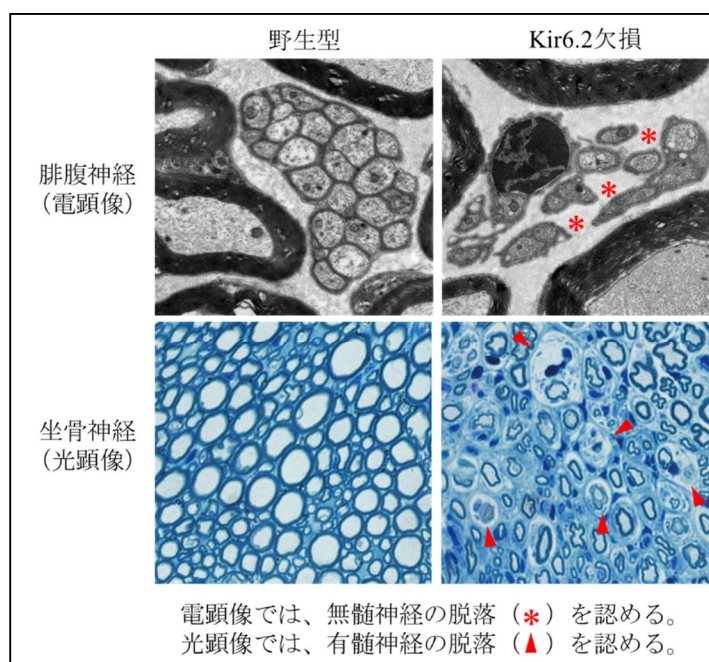
1. 研究開始当初の背景

糖尿病の罹病期間が10年経過すると約50%の患者にDPNが認められる(Pop-Busui R, Diab Care, 2017)。DPNは自発痛・知覚低下などの感覚障害に加え、足壊疽・切断といった生命予後悪化をもたらす病態を招く。DPNの発症・進展機序としては、高血糖に伴う代謝障害と血流障害が重要であると考えられているが、DPNの成因にアプローチする治療法は確立されておらず、有効な治療法の確立のためには、発症機序のさらなる解明が必要な段階である。

我々は新たな標的としてKATPCに注目した。KATPCは、SU受容体タンパクと内向き整流Kチャンネル(Kir)タンパクのヘテロ8量体より構成され、膵細胞においてはグルコース誘発性インスリン分泌(GSIS)の中心的役割を担っている。GSISの機序の概略であるが、膵細胞において、細胞外グルコース濃度上昇が細胞膜上のグルコーストランスポーターを介して感知され、細胞内でのATP産生亢進によりKATPCが閉鎖し、細胞膜電位の脱分極を経て細胞内Ca²⁺濃度が上昇し、インスリン分泌顆粒の細胞膜への移動・細胞外への分泌を促すことでインスリン分泌を起こす。SU薬の薬理機序は、このGSISの機序の後半部分を利用する、すなわち、SU受容体に結合することでKATPCを閉鎖し、以降のインスリン分泌機序を進行させる。この機序を介してSU薬は強力な血糖降下作用を発揮することより、現在、臨床現場で広く使用されている。一方、KATPC閉鎖薬であるSU薬とは逆にKATPC開口薬であるnicorandilおよびdiazoxideもまた臨床応用されており、このうちnicorandilについては血管拡張作用による狭心症への適応の他、心筋保護作用を有することより循環器疾患領域で広く使用されている。

神経系に関する知見としては、KATPCは中枢神経系にも広く分布し、グルコースを介した神経電気生理学的活動の制御、摂食行動の変化、および全身の代謝状態の変化に寄与していることが知られている(Jordan S, Cell Mol Life Sci 2010; Tovar S, Cell Metabolism 2013)。

一方で、KATPCの末梢神経系における生理的役割は不明であり、我々はグルコース応答性のkey playerであるKATPCがDPNの病態に関与すると仮説を立てた上で、プロジェクトの第1段階として、これまでにKATPCの末梢神経系における役割を解明してきた。その結果、Kirの一つKir6.2タンパクの欠損マウス、すなわちKATPC閉鎖モデルマウスにおいて、末梢神経系の機能異常および変性が生じることを証明した(右図)(Nakai-Shimoda H, iScience, 2021)。しかしながら、全身性KATPC欠損マウスは幼少期に易痙攣性を呈することより、頻発する痙攣による中枢神経系の損傷が末梢神経障害



の表現型に影響を与えた可能性が否定しきれない状況であった。

2. 研究の目的

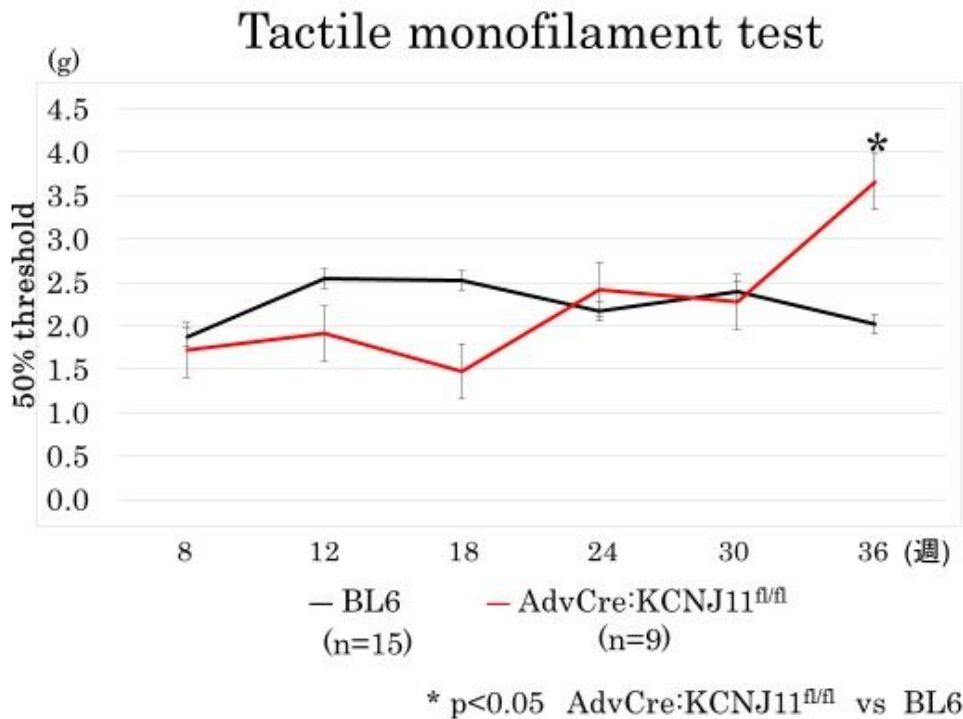
上記の状況を鑑み、プロジェクトの第 2 段階として、本研究では末梢神経系特異的 Kir6.2 欠損 (pKir6.2KO) マウスを作成し、KATP C が末梢神経系の恒常性維持に寄与するかを検証することとした。

3. 研究の方法

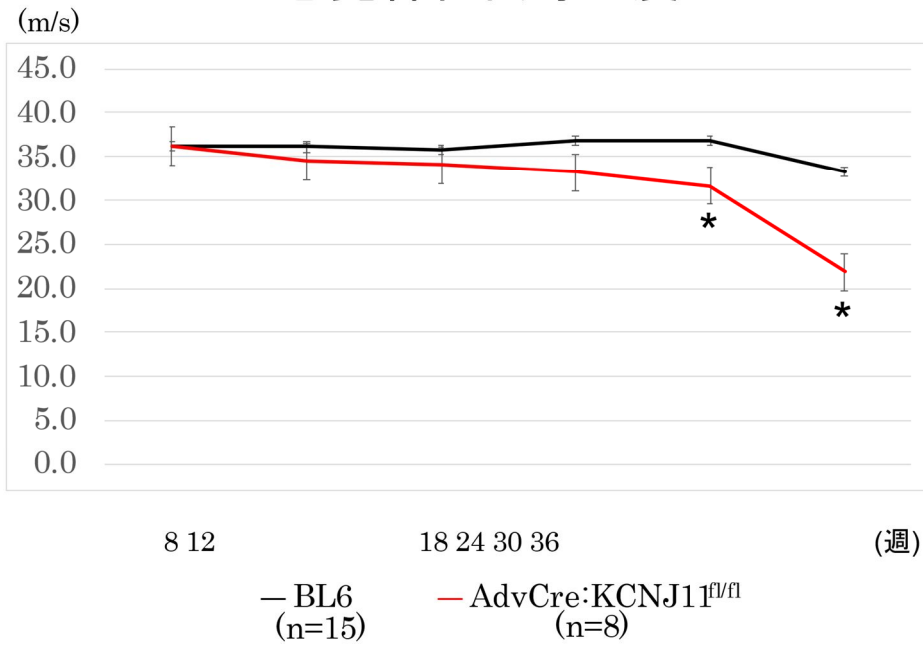
末梢神経系特異的 Cre recombinase 発現マウス (Advillin-Cre マウス) と Kir6.2 floxed マウスを交配し、pKir6.2KO マウスを作出した。約 1 年をかけて pKir6.2KO マウスにおける末梢神経機能を経時的に 8 週齢から 36 週齢まで 4~8 週間隔で評価した。評価項目は、熱応答閾値検査、Monofilament 触覚閾値検査、下肢神経伝導検査とした。病理学的検討として、足底の表皮内神経線維密度、脊髄・後根神経節 (DRG)・坐骨神経・腓腹神経 (近位/遠位) の形態学的所見 (含む透過型電子顕微鏡観察) を評価した。

4. 研究成果

pKir6.2KO マウスにおける末梢神経系の機能及び病理学的変化を評価したところ、いったん正常に発達した末梢神経系が、加齢に伴い野生型マウスよりも早期に末梢神経機能が低下することが明らかとなった (下に触覚閾値検査および感覚神経伝導速度の変遷を示す)。この結果、ATP 応答性 K チャネルが末梢神経系の恒常性維持に重要な役割を果たすことが示唆された。現在、得られた組織を元に病理形態学的解析を実施中である。



感覚神経伝導速度



* p<0.05 AdvCre:KCNJ11^{fl/fl} vs BL6

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 水野 翼, 茂木 幹雄, 姫野 龍仁, 速水 智英, 浅野 紗恵子, 下田 博美, 山田 祐一郎, 三浦 絵美梨, 森下 啓明, 近藤 正樹, 恒川 新, 加藤 義郎, 中村 二郎, 大西 正文, 神谷 英紀 |
| 2. 発表標題 末梢神経系におけるグルコース応答性ATP感受性Kチャネルの生理的役割の解明 |
| 3. 学会等名 第65回日本糖尿病学会年次学術集会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 茂木 幹雄, 姫野 龍仁, 速水 智英, 浅野 紗恵子, 下田 博美, 山田 祐一郎, 三浦 絵美梨, 森下 啓明, 近藤 正樹, 恒川 新, 加藤 義郎, 中村 二郎, 大西 正文, 神谷 英紀 |
| 2. 発表標題 末梢神経系特異的Kcnj11欠損マウスは末梢神経機能低下を呈する |
| 3. 学会等名 第66回日本糖尿病学会年次学術集会 |
| 4. 発表年 2023年 |

〔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 | 成瀬 桂子 (Naruse Keiko) (30387576) | 愛知学院大学・歯学部・教授 (33902) | |
| 研究分担者 | 加藤 宏一 (Kato Koichi) (40319322) | 愛知学院大学・薬学部・教授 (33902) | |

6. 研究組織（つづき）

| | 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 | 姫野 龍仁 (Himeno Tatsuhiro) (60753762) | 愛知医科大学・医学部・准教授 (33920) | |
| 研究分担者 | 神谷 英紀 (Kamiya Hideki) (70542679) | 愛知医科大学・医学部・教授 (33920) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
| | |