

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：34431

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592319

研究課題名(和文) 神経節内における細胞間異常接合が引き起こす三叉神経痛発生メカニズムの研究

研究課題名(英文) The study of the trigeminal neuralgia occurrence mechanism which an aberrant joining between cells in the ganglion causes

研究代表者

早崎 華 (HAYASAKI, HANA)

関西福祉科学大学・保健医療学部・准教授

研究者番号：90257866

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：三叉神経痛に關与する可能性のある三叉神経節でのGABA systemについて検討した。我々はGABABR1とGABABR2サブユニットと補助サブユニットKCTD12とKCTD16の異なる発現をラット三叉神経節(TG)で発見した。三叉脊髄核尾側(Sp5C)と三叉神経節において免疫共沈降分析とimmunohistochemistryを用いたSp5Cを含むTGと脳幹でのGABABR1、GABABR2、KCTD12とKCTD16の相互作用が明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：We investigated GABA system with the trigeminal ganglion with the possibility to contribute to trigeminal neuralgia. We found heterogeneous expressions of GABABR1 and GABABR2 subunits and auxiliary subunits KCTD12 and KCTD16 in the rat trigeminal ganglion (TG). The spinal trigeminal nucleus caudalis (Sp5C) is a critical relay site for processing nociceptive afferent input from the orofacial area and for its modulation by neuroplastic changes. Axons originating from TG carry information from facial and cranial nociception into brainstem. After entering brainstem, forming the spinal trigeminal tract and terminate in Sp5C. In this study, interactions of GABABR1, GABABR2, KCTD12 and KCTD16 in TG and brainstem including Sp5C using co-immunoprecipitation assay and immunohistochemistry.

研究分野：神経解剖学

キーワード：GABA 三叉神経節 satellite cell 三叉神経痛 KCTD GABA受容体

様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

三叉神経節は頭頸部の痛覚を司る神経として知られている。

三叉神経節では神経細胞体周囲にグリア細胞の一種である衛星細胞が取り巻いている。三叉神経痛の様な慢性的な痛みは神経節内でのこれらの細胞の異所接合が原因である可能性がある。

2. 研究の目的

三叉神経節は、先頭の頸部の痛覚を制御している神経系として知られている。

慢性的な三叉神経痛により隣接する細胞間に異所性が起こりそれが神経の異常興奮を引き起こす原因になってるのではないかと考えた。これまでの結果から三叉神経節での神経伝達制御は、グリア細胞の部類である satellite cell 神経細胞間で GABA を介しており痛み制御において重要な役割をはたしていると考えられる、このため GABA system を解明する事により三叉神経痛発症のメカニズムの基礎データとする。

3. 研究の方法

実験動物:ラット。免疫組織法、免疫細胞法、免疫沈降法、パッチクランプ法、細胞分画法、Western 法。

4. 研究成果

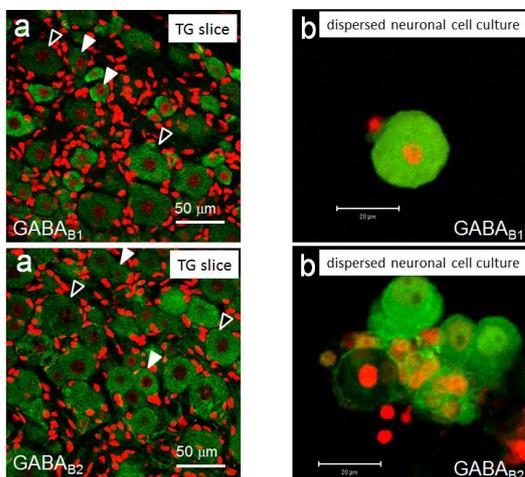
GABA_B 受容体は、 γ -アミノ酪酸 (GABA) (主な抑制性神経伝達物質) のための G タンパク質結合型受容体である。

GABA_B 受容体は GABABR1 と GABABR2 サブユニットまたは GABABR2 だけで形成されて、脳でほとんどすべての神経単位で表される。

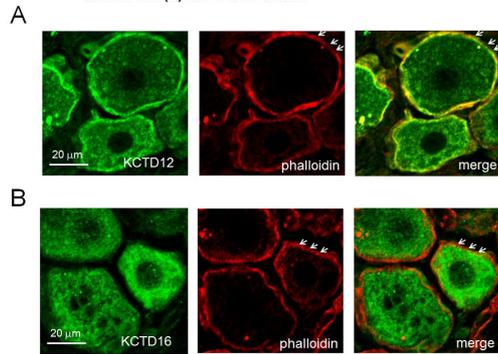
KCTD タンパク質は、受容体反応の薬理学的特徴とカイネティクスに影響を及ぼす GABA_B 受容体の補助サブユニットである。

我々は GABABR1 と GABABR2 サブユニットと補助サブユニット KCTD12 と KCTD16 の異質な発現を免疫組織化学法と免疫細胞法と patch クランプ法にてラット三叉神経節 (TG) で確認した。

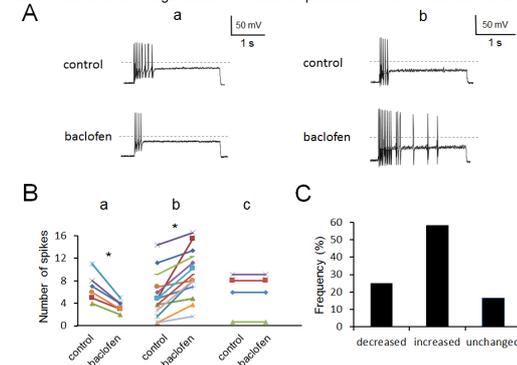
Expression of GABA_{B1} and GABA_{B2} in TG



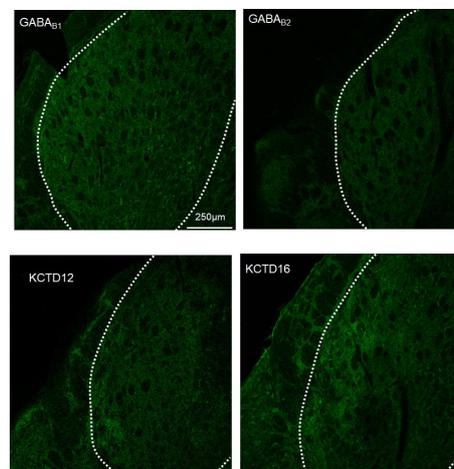
Co-immunochemical staining for KCTD12 or KCTD16 protein and F-actin proteins in TG slice. F-actin was co-immunostained by phalloidin with (A) KCTD12 and (B) KCTD16 in TG slice.



Effect of baclofen on the generation of the action potentials in the TG neuronal cells.



三叉脊髄核尾側 (Sp5C) は、orofacial な領域から、そして、neuroplastic な変化によるその変調のために侵害受容心入力を処理することの重要な中継器場所である。TG から生じている軸索は、脳幹に顔のおよび頭蓋痛覚から、情報をもたらす。脳幹に入ることの後、三叉神経脊髄路を形成する、そして、Sp5C で終わりなさい。本研究で、免疫共沈降分析と immunohistochemistry を用いた Sp5C を含む TG と脳幹の GABABR1、GABABR2、KCTD12 と KCTD16 の相互作用を確認した。



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)

〔雑誌論文〕(計 14 件)

①Yoritsune E1, Furuse M, Kuwabara H, Miyata T, Nonoguchi N, Kawabata S, Hayasaki H, Kuroiwa T, Ono K, Shibayama Y, Miyatake SI.(2014) Inflammation as well as angiogenesis may participate in the pathophysiology of brain radiation necrosis. *J Radiat Res*.pp 1-9 doi:10.1093/jrr/rru017

Furukawa, T., Yamada, J., Akita, T., Matsushima, Y., Yanagawa, Y. and Fukuda, A. Roles of taurine-mediated tonic GABAA-receptor activation in radial migration of neurons in the developing cerebral cortex. *Front Cell Neurosci* 8:88, 2014.

Uchida, T., Furukawa, T., Iwata, S., Yanagawa, Y. and Fukuda, A. Selective loss of parvalbumin-positive GABAergic interneurons in the cerebral cortex of maternally stressed Gad1-heterozygous mouse offspring. *Transl Psychiatry* 4 e371, 2014.

Wang, T., Kumada, T., Morishima, T., Iwata, S., Kaneko, T., Yanagawa, Y., Yoshida, S. and Fukuda, A. Accumulation of GABAergic neurons, causing a focal ambient GABA gradient, and downregulation of KCC2 are induced during microgyrus formation in a mouse model of polymicrogyria. *Cereb Cortex* 24:1088-1101, 2014.

Guo JH, Chen H, Ruan YC, Zhang XL, Zhang XH, Fok KL, Tsang LL, Yu MK, Huang WQ, Sun X, Chung YW, Jiang X, Sohma Y. *Chan HC (2014) Glucose-induced electrical activities and insulin secretion in pancreatic islet β -cells are modulated by CFTR. *Nat Commun.* 15;5: 4420. doi: 10.1038/ncomms5420.

Egawa, K., Yamada, J., Furukawa, T., Yanagawa, Y. and Fukuda, A. Cl⁻ homeodynamics in gap-junction-coupled astrocytic networks on activation of GABAergic synapses. *J Physiol* 591: 3901-3917, 2013.

Wei, B., Kumada, T., Furukawa, T., Inoue, K., Watanabe, M., Sato, K. and Fukuda, A. Pre- and post-synaptic switches of GABA actions associated with Cl⁻ homeostatic changes are induced in the

spinal nucleus of the trigeminal nerve in a rat model of trigeminal neuropathic pain. *Neuroscience* 228: 334-348, 2013.

Iwata, S., Wakita, M., Shin, M., Fukuda, A. and Akaike, N. Modulation of allopregnanolone on excitatory transmitters release from single glutamatergic terminal. *Brain Res Bull* 93: 39-46, 2013.

Sohma Y., Yu YC#, Takimoto S, Miyauchi T, Yasui M (#co-first authors) (2013) Direct Visualization and Quantitative Analysis of Water Diffusion in Complex Biological Tissues using CARS Microscopy. *Sci. Rep.* 3, 2745; DOI:10.1038/srep02745

Turker I, Yu CC, Chang PC, Chen Z, Sohma Y., Lin SF, Chen PS, *Ai T (2013) Amiodarone inhibits apamin-sensitive potassium currents. *PLoS One.* 29;8(7): e70450.

Hayasaki H., Sohma Y., Kanbara K., Otsuki Y. Heterogenous GABA(B) receptor-mediated pathways are involved in the local GABAergic system of the rat trigeminal ganglion: possible involvement of KCTD proteins.

Neuroscience. ;218:344-58. doi: 10.1016/

Inoue, K., Furukawa, T., Kumada, T., Yamada, J., Wang, T., Inoue, R. and Fukuda, A. Taurine inhibits the K⁺-Cl⁻ cotransporter KCC2 to regulate embryonic Cl⁻ homeostasis via the with-no-lysine (WNK) protein kinase signaling pathway. *J Biol Chem* 287:20839-20850, 2012.

Hirata, T., Kumada, T., Kawasaki, T., Furukawa, T., Aiba, A., Conquet, F., Saga, Y. and Fukuda, A. Guidepost neurons for the lateral olfactory tract: Expression of metabotropic glutamate receptor 1 and innervation by glutamatergic olfactory bulb axons. *Dev Neurobiol* 72:1559-1576, 2012.

Jih KY, Sohma Y., Li M, *Hwang TC. (2012) Identification of a novel post- hydrolytic state in CFTR gating *J. Gen. Physiol.* 139: 359 – 370

〔学会発表〕(計 4 件)

①第5回保健医療学会学術集会ヒト血漿中アミロイド前駆体 APP770 の検出

-アルツハイマー型認知症の早期発見への試み-早崎華 山本真紀 富安幸恵 広川慶裕
渡辺克哉 渡辺正仁 H26 11月

第 37 回日本神経科学大会 Expression and interaction of GABAB receptors and KCTD proteins in rat trigeminal ganglion and spinal trigeminal nucleus caudalis. H. Hayasaki, Y. Otsuki, Y. Sohma H26 9月

第 118 回日本解剖学会総会 ラット三叉神経節における GABAB レセプター応答の不均一性における KCTD サブユニットの寄与(高松 2013 年 3 月 30 日)H.Hayasaki, Y. Sohma, Y. Otsuki

第 35 回日本神経科学大会 2012 年 09 月 18 日 Heterogeneous GABAB function underlied by KCTD Proteins in Rat Trigeminal Ganglion 名古屋国際会議場(愛知県) H.Hayasaki, Y. Sohma, Y. Otsuki

〔図書〕(計 1 件)

2013 年 PT OT ST のための解剖学 廣川書店

6. 研究組織

(1)研究代表者

早崎華 (Hayasaki Hana)

関西福祉科学大学・保健医療学部・准教授・

研究者番号：90257866

(2)研究分担者

福田敦夫 (Fukuda Astuo)

浜松医科大・医学部・教授・

研究者番号：50254272

(3)連携研究者

相馬義郎 (Sohma Yoshiro)

慶応大学・医学部・准教授・

研究者番号：60268183