

痛覚伝達における Na チャネルの機能解析について

技術センター 医学部等部門
医学科技術班 柿村 順一

1. はじめに

2005年11月30日に開催された技術センター研修会において発表した内容は、学術雑誌に投稿する予定の内容を含んでいる。そこで、本稿ではこれまでに得られた知見および、現在着目している電位依存性ナトリウムチャネル（以下、Na チャネル）の機能を解析する上で感じたことなどについて著述する。

2. 背景

神経細胞にはさまざまな電位依存性チャネルが発現している。それらのうち Na⁺イオンを選択的に通過させるのが Na チャネルである。Na チャネルは細胞内電位の上昇に応答して開口し、細胞外の Na⁺イオンが細胞内に移動する。これにより活動電位が発生し、「興奮」している状態となる。そして、この興奮が伝播されることにより、様々な情報が伝達される¹⁾。触覚・痛覚などといった皮膚感覚情報は、まず後根神経節に細胞体を持つ一次知覚神経が受容し、中枢神経系に伝達している。

一次知覚神経は軸索の直径により、太いほうから A β , A δ , C 繊維ニューロンに分類され、通常は A δ および C 繊維ニューロンが痛みの伝達を担っている。特に C 繊維ニューロンは神経因性疼痛など、難治性の慢性痛に強く関与していることが知られている²⁾。これらの痛覚を伝達するニューロンには他の部位の神経細胞に発現している Na チャネルも発現しているが、さらに Nav1.8, Nav1.9 といった二つのサブタイプも発現している。これらのチャネルは一次知覚神経に特異的に発現している¹⁾。そのため、Nav1.8 と Nav1.9 の性質・機能を解析することにより、病的な慢性疼痛の発現および伝達のメカニズム、そして治療の糸口が見

つかるのではないかと考え、実験・解析を行っている。

3. 解析について

創薬のターゲットとしてイオンチャネルを見た場合、効果部位の多様性、細胞状態に依存した効果が期待できる点などが特徴として挙げられる。事実、イオンチャネルをターゲットとする薬物は、数は比較的少ないが、優れたものがこれまでに創生されている³⁾。前述の通り、Nav1.8 と Nav1.9 の二つのサブタイプは組織特異性が高いため、これらのチャネルは難治性疼痛治療薬の創薬ターゲットとしてのポテンシャルが高いものと考えられる。Na チャネルの解析を進めていく上で、生理的条件下における閾値や開口率などのカイネティクスの解析は言うまでもなく重要な検討課題である。そしてさらに治療のターゲットとしての解析を行うには、各種薬物や生理活性物質の作用を検討することも必要不可欠である。

Nav1.8 と Nav1.9 は共にフグ毒テトロドトキシンに対して強い抵抗性を示す¹⁾。そのため、細胞外液にテトロドトキシンを添加しておくことにより、他のテトロドトキシン感受性 Na チャネルを介する電流を除去して記録することができる。これらのチャネルの解析を進めていく上で明らかになってきたのが、Nav1.9 電流の一過性増大（キンドリング）である。これは実験開始時から、一定のテストパルスを与えて経時的に Nav1.9 電流のピーク値を計測した際に認められる現象である。ガラス電極内の細胞内液に使用する陰イオンはフッ素（以下、F 電極）、グルタミン酸、メタンスルホン酸、塩素（以下、Cl 電極）などさまざまなものがあるが、どの細胞内液を使用しても電流量の変化が認められた。特に変化が大きかった

のが F 電極を用いた群であった (Fig. 1). 一方, Nav1.8 電流ではこのような現象は認められなかった⁴⁾.

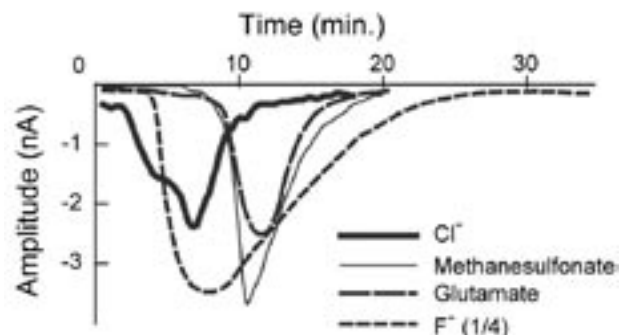


Fig. 1 Nav1.9 電流の経時的変化. 各種電極を用い, Nav1.9 電流のピーク値の経時的に記録した. F 電極を用いた例のピーク電流値は 1/4 に圧縮している.

これは薬理学的な解析を行う上では非常に大きな障害である. つまり「コントロール値とするべき電流値が一定しない」ということに他ならない. 様々な薬物や生理活性物質を投与し, その効果を検討しようとしても, 実際にその薬物等の効果を観察できているのか, 元々の性質としての電流値変化を見ているのか判断しかねると言う問題が発生してしまう.

現段階では, 1) Cl 電極を用いる際にはアデノシン 3 リン酸 (ATP) を添加する事により, キンドリングを有意に抑制しうること, 2) 細胞内液に 1 価のイオンのみを透過させるイオノフォアを形成するナスタチンを添加した場合, 安定した電流記録が可能である⁴⁾ことを見出している. この方法を用いることにより, 安定して Nav1.9 電流を記録することができるので, 薬理学的な検討も可能となる.

実験を行っていく上で, 条件設定は地味な仕事

であるが, この上なく重要な仕事といっても過言ではない. F 電極はシールも容易であり, 長時間にわたって維持できるため, 実験を行うには非常に魅力的な手法である. しかし, 前述の通り, Nav1.9 電流を対象とした実験には適さない場合もある.

現在, Nav1.8 電流および Nav1.9 電流に対する種々の生理活性物質の効果を検討しているが, この実験に限らず, 実験の条件設定の重要性を改めて思い知らされている次第である.

謝辞

実験遂行にあたり, ご指導を賜りました大学院医歯薬学総合研究科 創生医科学専攻 病態探求医科学講座 神経生理学 緒方宣邦教授に, 厚く御礼を申し上げます. また, 多大なるご協力をいただきました同講座の大学院生 鄭泰星様, 松富智哉様, 中本千泉様に深く感謝いたします.

参考文献

- 1) Ogata N. and Ohishi Y. (2002) Molecular diversity of structure and function of the voltage-gated Na⁺ channels. *Jpn. J. Pharmacol.*, **88**: 365-377.
- 2) Millian M. J. (1999) The introduction of pain: an integrative review. *Prog. Neurobiol.*, **57**: 1-164.
- 3) 金子周司 (2005) イオンチャネル創薬の現状・特徴・課題. *日本薬理学雑誌*, **126**: 306-310.
- 4) Maruyama H., Yamamoto M., Matsutomi T., Zheng T., Nakata Y., Wood J.N., and Ogata N. (2004) Electrophysiological characterization of the tetrodotoxin-resistant Na⁺ channel, Nav1.9, in mouse dorsal root ganglion neurons. *Pflugers Arch.-Eur. J. Physiol.*, **449**: 76-87.