

電位依存性 Na⁺チャネルの品質管理とストレス応答

(課題番号 16300119)

平成 16 年度～平成 18 年度
科学研究費補助金 (基盤研究 (B)) 研究成果報告書

平成 19 年 3 月

研究代表者 和田 明彦
(宮崎大学医学部教授)

電位依存性 Na⁺チャネルの品質管理とストレス応答

(課題番号 16300119)

平成 16 年度～平成 18 年度
科学研究費補助金 (基盤研究 (B)) 研究成果報告書

平成 19 年 3 月

研究代表者 和田 明彦
(宮崎大学医学部教授)

は し が き

電位依存性 Na⁺チャネルは、活動電位の発生と伝播に不可欠の細胞膜糖蛋白質であり、細胞膜の受容体・イオンチャネルの活性、細胞内シグナル伝達系を制御し、脳・神経細胞などの細胞機能を調節している。したがって、細胞膜における Na⁺チャネルの発現量や機能は、細胞の発育・分化・可塑性に見あって精緻な変動調節を受けており、このことが細胞機能を量的に規定するのみならず、細胞応答の表現型をも質的に変貌させる。他方、Na⁺チャネルの量的・質的異常は、神経・筋疾患、致死的不整脈、虚血・低酸素による細胞障害、炎症・外傷による抵抗性疼痛などの Na⁺チャネル病 (Na⁺ channelopathy) の原因となる。Na⁺チャネルは、神経保護薬、抗痙攣薬、抗不整脈薬、局所麻酔薬などが作用する標的分子である。

完成された神経回路網において、Na⁺チャネルが機能するのみならず、Na⁺チャネルの活動が、神経回路網そのものの発育を制御しているという驚くべき知見が集積してきた。たとえば、活動電位が神経軸索のミエリン化を促進し、神経軸索先端・成長円錐の伸展・退縮方向を規定している。成人の脳においても、学習・記憶などの高次機能の獲得にも、神経軸索ミエリン化の促進が関与している。

Na⁺チャネルを構成する主たる α -サブユニットには、Na_v1.1 から Na_v1.9 の 9 種類のアイソフォームが同定されている。それぞれのアイソフォームの組織発現パターンやその発現パターン異常に基づく疾患などが報告されている。しかし、それぞれのアイソフォームに特異的な機能に関しては、確信的な情報は得られていない。Na_v1.7 は、副腎髄質クロマフィン細胞、自律神経系の交感神経節や後根神経節などに広く分布している。他の α -サブユニットに先駆けて、Na_v1.7 の知覚神経系における生理機能が明かにされた。2004 年以降、Na_v1.7 の変異型が、ヒト疾患 erythralgia, paroxysmal extreme pain syndrome, channelopathy-associated insensitivity to pain の抵抗性疼痛の原因であることが報告された。疼痛治療薬の分子標的として、Na_v1.7 の発現・機能制御機構の解明が期待されている。

私達が研究に用いている副腎髄質クロマフィン細胞においては、Na_v1.7 の発現量・機能は、インスリン受容体シグナリング、ニコチン受容体シグナリングなどと相互に密接に影響していることを報告してきた。本研究課題においては、これらの点をさらに解析し、Na⁺チャネルと Na_v1.7 に関する新規知見を総説として纏めた。

研究組織

研究代表者：和田 明彦（宮崎大学医学部教授）

研究分担者：小林 英幸（宮崎大学医学部助教授）

研究分担者：柳田 俊彦（宮崎大学医学部助手）

研究分担者：横尾 宏毅（宮崎大学医学部助手）

交付決定額（配分額）

（金額単位：千円）

	直接経費	間接経費	合計
平成16年度	4,100	0	4,100
平成17年度	4,700	0	4,700
平成18年度	4,000	0	4,000
総計	12,800	0	12,800

研究発表

（1）学会誌等

（2）口頭発表

（3）出版物

研究発表

(1) 学会誌等

- 1) Wada A., Wanke E., Gullo F., Schiavon E.: Voltage-dependent Na_v1.7 sodium channels: multiple roles in adrenal chromaffin cells and peripheral nervous system. *Acta Physiological (Oxford)* in press.
- 2) Wada A.: Roles of voltage-dependent sodium channels in neuronal development, pain, and neurodegeneration. *Journal of Pharmacological Sciences*, 102:253-268, 2006.
- 3) Sugano T., Yanagita T., Yokoo H., Satoh S., Kobayashi H., Wada A.: Enhancement of insulin-induced PI3K/Akt/GSK-3 β and ERK signaling by neuronal nicotinic receptor/PKC- α /ERK pathway: up-regulation of IRS-1/-2 mRNA and protein in adrenal chromaffin cells. *Journal of Neurochemistry*, 98:20-33, 2006.
- 4) Nemoto T., Yokoo H., Satoh S., Yanagita T., Sugano T., Yoshikawa N., Maruta T., Kobayashi H., Wada A.: Constitutive activity of glycogen synthase kinase-3 β : positive regulation of steady-state levels of insulin receptor substrates-1 and -2 in adrenal chromaffin cells. *Brain Research*, 1110:1-12, 2006.
- 5) Kobayashi H., Yokoo H., Yanagita T., Satoh S., Kis B., Deli M., Niwa M., Wada A.: Induction of aquaporin 1 by dexamethasone in lipid rafts in immortalized brain microvascular endothelial cells. *Brain Research*, 1123:12-19, 2006.
- 6) Uezono Y., Toyohira Y., Yanagihara N., Wada A., Taniyama K.: Inhibition by selenium compounds of catecholamine secretion due to inhibition of Ca²⁺ influx in cultured bovine adrenal chromaffin cells. *Journal of Pharmacological Sciences*, 101:223-229, 2006.
- 7) Wada A., Yokoo H., Yanagita T., Kobayashi H.: New twist on neuronal insulin receptor signaling in health, disease, and therapeutics. *Journal of Pharmacological Sciences*, 99:128-143, 2005.
- 8) Wada A., Yokoo H., Yanagita T., Kobayashi H.: Lithium: potential therapeutics against acute brain injuries and chronic neurodegenerative diseases. *Journal of Pharmacological Sciences*, 99:307-321, 2005.

- 9) 横尾宏毅, 菅野 孝, 佐藤伸矢, 柳田俊彦, 小林英幸, 和田明彦: インスリン受容体シグナル伝達分子の発現調節機構. 日本薬理学雑誌, 125:141-146, 2005.
- 10) Ohkura M., Tanaka N., Kobayashi H., Wada A., Nakai J., Yamamoto R.: Insulin induces internalization of the 5HT_{2A} receptor expressed in HEK293 cells. *European Journal of Pharmacology*, 518:18-21, 2005.
- 11) Uchikawa Y., Okano M., Sawada A., Asada Y., Kobayashi H., Wada A., Nao-i N., Ohkura M., Tanaka N., Yamamoto R.: Relaxant effect of adrenomedullin on bovine isolated iris sphincter muscle under resting conditions. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 32:675-680, 2005.
- 12) Cao Y. N., Kuwasako K., Kato J., Yanagita T., Tsuruda T., Kawano J., Nagoshi Y., Chen A. F., Wada A., Suganuma T., Eto T., Kitamura K.: Beyond vasodilation: the antioxidant effect of adrenomedullin in Dahl salt-sensitive rat aorta. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 332:866-872, 2005.
- 13) Wada A., Yanagita T., Yokoo H., Kobayashi H.: Regulation of cell surface expression of voltage-dependent Na_v1.7 sodium channels: mRNA stability and posttranscriptional control in adrenal chromaffin cells. *Frontiers in Bioscience*, 9:1954-1966, 2004.
- 14) 和田明彦: アドレノメデュリン 薬理作用と生理作用 副腎髄質交感神経に対する作用. *日本臨床*, 62:252-255, 2004.
- 15) Kobayashi H., Itoh S., Yanagita T., Yokoo H., Sugano T., Wada A.: Expression of adrenomedullin and proadrenomedullin N-terminal 20 peptide in PC12 cells after exposure to nerve growth factor. *Neuroscience*, 125:973-980, 2004.
- 16) Kobayashi H., Yanagita T., Yokoo H., Wada A.: Molecular mechanisms and drug development in aquaporin water channel diseases: aquaporins in the brain. *Journal of Pharmacological Sciences*, 96:264-270, 2004.

(2) 口頭発表

国際学会

- 1) Yanagita T., Yokoo H., Kobayashi H., Saitoh T., Yamamoto R., Shiraishi S., Wada A.: Regulation of cell surface expression of insulin receptor in bovine adrenal chromaffin cells. 13th International Symposium of Chromaffin Cell Biology, 2006, 1, La Palma, Canary Islands, Spain.
- 2) Satoh S., Yanagita T., Sugano T., Nemoto T., Yoshikawa N., Maruta T., Yokoo H., Kobayashi H., Wada A.: Up- and down-regulation of insulin receptor signaling molecules by intracellular signals and therapeutic drugs in adrenal chromaffin cells. The 21st Century COE Program 2006 COE International Symposium of University of Miyazaki, Physiologically Active Peptides Controlling Biological Systems, 2006, 8, Miyazaki, Japan.
- 3) Kobayashi H., Yanagita T., Yokoo H., Satoh S., Maruta T., Yoshikawa N., Nemoto T., Wada A.: Expression of long and short amino terminal forms of agrin in rat cerebral microvessels. Society for Neuroscience 36th Annual Meeting, 2006, 10, Atlanta, Georgia, USA.

国内学会

- 1) 柳田俊彦, 横尾宏毅, 根本隆行, 佐藤伸矢, 小林英幸, 和田明彦: 神経新生、神経保護因子としてのインスリンシグナリング:インスリンによる Na⁺チャネルの発現調節機構. 第 79 回日本薬理学会年会シンポジウム, 生理活性ペプチドの新しい役割と創薬, 2006, 3, 横浜.
- 2) 柳田俊彦, 斎藤智和, 吉川教恵, 佐藤伸矢, 横尾宏毅, 小林英幸, 根本隆行, 丸田豊明, 和田明彦: Heat shock protein 90 による insulin-like growth factor-I 受容体の 2 量体化と品質管理. 第 79 回日本薬理学会年会, 2006, 3, 横浜.
- 3) 横尾宏毅, 根本隆行, 柳田俊彦, 佐藤伸矢, 吉川教恵, 丸田豊明, 小林英幸, 和田明彦: Glycogen synthase kinase-3 β 活性によるインスリン受容体の細胞膜での発現調節. 第 79 回日本薬理学会年会, 2006, 3, 横浜.
- 4) 小林英幸, 劉 曉強, 横尾宏毅, 柳田俊彦, 直井信久, 和田明彦: 網膜ミラー細胞のアクアポリン発現に対するリポポリサッカライドの影響. 第 79 回日本薬理学会年会, 2006, 3, 横浜.
- 5) 佐藤伸矢, 柳田俊彦, 吉川教恵, 丸田豊明, 根本隆行, 横尾宏毅, 小林英幸, 和田明彦: カルシニューリンによる insulin receptor substrate-2 の発現調節機構. 第 79 回日本薬理学会年会, 2006, 3, 横浜.
- 6) 吉川教恵, 柳田俊彦, 佐藤伸矢, 丸田豊明, 根本隆行, 横尾宏毅, 小林英幸, 和田明彦: Heat Shock Protein 90 による insulin receptor substrate-1/-2 発現の正と負の調節. 第 79 回日本薬理学会年会, 2006, 3, 横浜.
- 7) 根本隆行, 横尾宏毅, 佐藤伸矢, 柳田俊彦, 吉川教恵, 丸田豊明, 小林英幸, 和田明彦: Glycogen synthase kinase-3 β 活性による insulin receptor substrate-1/-2 の発現調節. 第 79 回日本薬理学会年会, 2006, 3, 横浜.
- 8) 横尾宏毅, 柳田俊彦, 根本隆行, 佐藤伸矢, 小林英幸, 和田明彦: 神経障害治療への新戦略: インスリン受容体シグナル伝達分子の発現調節. 第 115 回日本薬理学会関東部会, 第 34 回薬物活性シンポジウム, 2006, 9, 高崎.
- 9) 佐藤伸矢, 柳田俊彦, 根本隆行, 吉川教恵, 丸田豊明, 横尾宏毅, 小林英幸, 和田明彦: 免疫抑制薬サイクロスポリン A, FK506 によるインスリン/IGF-I シグナリングへの影響. 第 59 回日本薬理学会西南部会, 2006, 11, 那覇.

- 10) 吉川教恵, 柳田俊彦, 佐藤伸矢, 根本隆行, 丸田豊明, 横尾宏毅, 小林英幸, 和田明彦: Heat Shock Protein 90 によるインスリン受容体シグナル分子の発現調節. 第 59 回日本薬理学会西南部会, 2006, 11, 那覇.
- 11) 丸田豊明, 柳田俊彦, 松尾清隆, 上園保仁, 佐藤伸矢, 根本隆行, 吉川教恵, 横尾宏毅, 小林英幸, 谷山紘太郎, 和田明彦: リゾフォスファチジン酸の長期処置による $\text{Na}_v1.7 \text{ Na}^+$ チャンネルの細胞膜発現量増加. 第 59 回日本薬理学会西南部会, 2006, 11, 那覇.
- 12) 根本隆行, 横尾宏毅, 佐藤伸矢, 柳田俊彦, 吉川教恵, 丸田豊明, 小林英幸, 和田明彦: Glycogen synthase kinase-3 β 構成的活性: insulin receptor substrate-1/-2 発現の保持. 第 59 回日本薬理学会西南部会, 2006, 11, 那覇.
- 13) 横尾宏毅, 根本隆行, 佐藤伸矢, 柳田俊彦, 菅野 孝, 小林英幸, 和田明彦: Glycogen synthase kinase-3 β : インスリン受容体細胞膜発現正と負の調節分子スイッチとしての役割. 第 78 回日本薬理学会年会, 2005, 3, 横浜.
- 14) 柳田俊彦, 岩切智美, 菅野 孝, 佐藤伸矢, 小林英幸, 横尾宏毅, 根本隆行, 吉川教恵, 和田明彦: Glycogen synthase kinase-3 β による電位依存性 Na^+ チャンネルの発現調節: insulin-like growth factor-1、リチウム、バルプロ酸による up-regulation. 第 78 回日本薬理学会年会, 2005, 3, 横浜.
- 15) 菅野 孝, 柳田俊彦, 佐藤伸矢, 横尾宏毅, 根本隆行, 吉川教恵, 小林英幸, 和田明彦: ニコチン長期処置によるインスリン受容体シグナリングの増強メカニズム. 第 78 回日本薬理学会年会, 2005, 3, 横浜.
- 16) 小林英幸, 柳田俊彦, 横尾宏毅, 菅野 孝, 佐藤伸矢, 根本隆行, 和田明彦: 糖質コルチコイドによるラット脳微小血管のアクアポリン 1 発現の増加. 第 78 回日本薬理学会年会, 2005, 3, 横浜.
- 17) 佐藤伸矢, 柳田俊彦, 菅野 孝, 横尾宏毅, 根本隆行, 吉川教恵, 小林英幸, 和田明彦: イムノフィリン・リガンドによる insulin receptor substrate-2 の選択的な減少: calcineurin の関与. 第 78 回日本薬理学会年会, 2005, 3, 横浜.
- 18) 根本隆行, 横尾宏毅, 佐藤伸矢, 菅野 孝, 柳田俊彦, 小林英幸, 和田明彦: Glycogen synthase kinase-3: insulin receptor substrate-1/-2 発現の正と負の調節. 第 78 回日本薬理学会年会, 2005, 3, 横浜.
- 19) 小林英幸, 横尾宏毅, 柳田俊彦, 和田明彦: 脳微小血管のラフトにおけるアクアポリンの局在: 糖質コルチコイドによる増加. 日本適応医学会第 9 回学術集会, 2005, 6, 宮崎.

- 20) 柳田俊彦, 丸田豊明, 佐藤伸矢, 吉川教恵, 岩切智美, 根本隆行, 横尾宏毅, 小林英幸, 和田明彦: リチウムによる電位依存性 Na⁺チャネルの細胞膜発現増加. 第 58 回日本薬理学会西南部会, 2005, 11, 長崎.
- 21) 横尾宏毅, 柳田俊彦, 根本隆行, 佐藤伸矢, 小林英幸, 吉川教恵, 丸田豊明, 和田明彦: Glycogen synthase kinase-3 β 活性によるインスリン受容体細胞膜発現の調節: リチウムによる検討. 第 58 回日本薬理学会西南部会, 2005, 11, 長崎.
- 22) 佐藤伸矢, 柳田俊彦, 根本隆行, 吉川教恵, 丸田豊明, 横尾宏毅, 小林英幸, 和田明彦: カルシニューリンによる insulin receptor substrate-2 の発現調節機構. 第 58 回日本薬理学会西南部会, 2005, 11, 長崎.
- 23) 吉川教恵, 柳田俊彦, 佐藤伸矢, 根本隆行, 丸田豊明, 横尾宏毅, 小林英幸, 和田明彦: Heat shock protein 90 による insulin receptor substrate-1/-2 の発現調節. 第 58 回日本薬理学会西南部会, 2005, 11, 長崎.
- 24) 根本隆行, 横尾宏毅, 佐藤伸矢, 柳田俊彦, 吉川教恵, 丸田豊明, 小林英幸, 和田明彦: Glycogen synthase kinase-3 β 構成的活性による insulin receptor substrate-1/-2 (IRS-1/-2)発現の保持. 第 58 回日本薬理学会西南部会, 2005, 11, 長崎.
- 25) 横尾宏毅, 菅野 孝, 佐藤伸矢, 柳田俊彦, 小林英幸, 和田明彦: インスリン受容体シグナル伝達分子の発現調節機構. 第 77 回日本薬理学会年会シンポジウム, 2004, 3, 大阪.
- 26) 柳田俊彦, 齋藤智和, 小林英幸, 横尾宏毅, 菅野 孝, 和田 明彦: シヤペロンによる受容体タイロシン・カイネースの二量体化と品質管理. 第 77 回日本薬理学会年会シンポジウム, 2004, 3, 大阪.
- 27) 小林英幸, 南 慎一, 柳田俊彦, 横尾宏毅, 和田明彦: 脳微小血管のアクアポリンの発現制御: アストロサイトとの相互作用と低酸素. 第 77 回日本薬理学会年会シンポジウム, 2004, 3, 大阪.
- 28) 柳田俊彦, 小林英幸, 横尾宏毅, 菅野 孝, 和田明彦: ERK の構成的活性化による電位依存性 Na⁺チャネルの細胞膜発現の negative regulation. 第 77 回日本薬理学会年会, 2004, 3, 大阪.
- 29) 菅野 孝, 柳田俊彦, 佐藤伸矢, 横尾宏毅, 小林英幸, 和田明彦: インスリン受容体シグナリング: ニコチン受容体による調節. 第 77 回日本薬理学会年会, 2004, 3, 大阪.

- 30) 佐藤伸矢, 横尾宏毅, 菅野 孝, 柳田俊彦, 小林英幸, 和田明彦: グリコゲン合成酵素カイナーの構成的な活性によるインスリン受容体とインスリン受容体基質-1 および-2 の発現調節. 第 77 回日本薬理学会年会, 2004, 3, 大阪.
- 31) 柳田俊彦, 岩切智美, 菅野 孝, 佐藤伸矢, 横尾宏毅, 根本隆行, 小林英幸, 和田明彦: Insulin-like growth factor-I は, Glycogen synthase kinase-3 β を介して電位依存性 Na⁺チャネルの細胞膜発現を増加させる. 第 57 回日本薬理学会西南部会, 2004, 11, 福岡.
- 32) 横尾宏毅, 根本隆行, 柳田俊彦, 菅野 孝, 佐藤伸矢, 小林英幸, 和田明彦: Glycogen synthase kinase-3 β : インスリン受容体細胞膜発現の正と負の調節. 第 57 回日本薬理学会西南部会, 2004, 11, 福岡.
- 33) 佐藤伸矢, 柳田俊彦, 菅野 孝, 横尾宏毅, 小林英幸, 白石成二, 根本隆行, 和田明彦: イムノファイリン・リガンドによる insulin receptor substrate-2 の down-regulation: カルシニューリンの関与. 第 57 回日本薬理学会西南部会, 2004, 11, 福岡.
- 34) 菅野 孝, 柳田俊彦, 佐藤伸矢, 横尾宏毅, 小林英幸, 吉川教恵, 根本隆行, 和田明彦: ニコチン長期処置: インスリン受容体の細胞生存シグナリングの増強メカニズム. 第 57 回日本薬理学会西南部会, 2004, 11, 福岡.
- 35) 根本隆行, 横尾宏毅, 佐藤伸矢, 菅野 孝, 柳田俊彦, 小林英幸, 和田明彦: Glycogen synthase kinase-3 構成的活性化による insulin receptor substrate (IRS) 発現への影響. 第 57 回日本薬理学会西南部会, 2004, 11, 福岡.
- 36) 大倉正道, 田中直子, 小林英幸, 和田明彦, 中井淳一, 山本隆一: インスリンによる 5HT_{2A} 受容体の細胞膜発現調節. 第 57 回日本薬理学会西南部会, 2004, 11, 福岡.

(3) 出版物

- 1) 和田明彦: イオンチャネル (Na, K, Cl). 心臓ナビゲーター(浅田祐士郎、江頭建輔、甲斐久史、古森公浩、佐田政隆、室原豊明). p80-83. メディカルレビュー社. 2005.