

令和元年6月13日現在

機関番号：37116
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2017～2018
課題番号：17K16950
研究課題名(和文) 鼻腔粘膜線毛上皮細胞におけるセルセンサーの解明

研究課題名(英文) Cell Sensors in Nasal Mucosal Epithelial Cells

研究代表者

大淵 豊明 (Ohbuchi, Toyooki)

産業医科大学・医学部・講師

研究者番号：00412651

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：TRPV1の活性化により鼻腔粘膜組織から細胞外へ放出されるATPが増加し鼻腔粘膜の多列円柱上皮細胞の線毛運動の活動性が変化すること、電気生理学的にTRPV1とPannexin-1とが機能連関していることなどから、ATPはpannexin-1を経由して細胞外へ放出されている可能性が高いことを明らかとした。また、陰イオンであるATP⁻が細胞外へ放出される際に、水分子も同時に放出されていることを見出した。Pannexin-1は陰イオンバランスを介して線毛周囲の液体量の恒常性を保つ役割も担っていると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

鼻腔は呼吸時に最初に外の空気が通る臓器であるため、鼻腔を覆っている粘膜細胞は常に外気の変化に暴露される。本研究では、高い温度や辛みの受容体であるTRPV1チャネルが鼻腔粘膜細胞に発現しており、Pannexin-1チャネルと共役し、TRPV1がATPをモデュレーターとして線毛の活動性や鼻汁の分泌を変化させるという機序を明らかにした。この成果は、熱い物や辛い物を食べた際に鼻汁が過剰となる鼻炎の病態と関連しているものと考えられ、この種の鼻炎の治療に役立てられることが期待される。

研究成果の概要(英文)：We demonstrated that ATP release and ciliary beat frequency (CBF) were significantly potentiated by the heat-sensitive TRPV1 agonist capsaicin, but not by other TRP(TRPM8, TRPA1, and TRPV2) agonists. Capsaicin-induced ATP release and CBF increase were significantly inhibited by the pannexin-1 blockers carbenoxolone and probenecid. In addition, the voltage step-evoked currents in the presence of capsaicin were inhibited by the pannexin-1 blockers in single-cell patch clamping. Our results suggest the participation of TRPV1 and pannexin-1 in the physiologic functions of rat nasal mucosa. Application of capsaicin led the apical side of the cells to shrink. This capsaicin-induced local shrinkage was inhibited by co-treatment with either TRPV antagonist or pannexin-1 antagonist. Pannexin-1 in the nasal mucosa may contribute to not only ciliary beat modulation via ATP release, but also regulation of mucus blanket components via H₂O efflux.

研究分野：医歯薬学

キーワード：鼻科生理学 イオンチャネル pannexin-1 ATP TRPV1 線毛運動

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

鼻腔は呼吸の際に外気と最初に接触する臓器であり、常に外気環境の変化に暴露されている。環境変化には、花粉や細菌などの「物質」のみならず、温度や気圧などの「非物質」の素因も含まれる。花粉などによるアレルギー性鼻炎や細菌などによる鼻副鼻腔炎の病態はさかんに研究されているが、温度などの非物質性素因に対する鼻腔粘膜の感受性とそのメカニズムは十分に解明されていない。

2. 研究の目的

外気の温度が急激に変化すると鼻汁分泌が過剰となる病態がある。また、辛いものを摂取した場合に鼻汁が増加する場合がある。このような反応が即座に疾患と定義づけられるわけではないものの、鼻腔や上気道の生理反応の理解を深めることは重要である。本研究では、鼻腔の非物質性環境変化への感受性の有無とそのメカニズムの一端を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

ラットの鼻腔粘膜を採取し、(1) 組織を培養して温度感受性を有するイオンチャネル/受容体のアゴニスト/アンタゴニストを加えた場合の ATP 放出量 (濃度) と細胞の形態の変化を測定した。(2) 組織を単離して単一鼻腔粘膜上皮細胞を獲得し、パッチクランプ法を用いて電気生理学的特性を記録した。(3) 新鮮組織に温度感受性を有するイオンチャネル/受容体のアゴニスト/アンタゴニストを加えた場合の線毛運動の活動性を、高感度ハイスピードカメラを用いて記録・解析した。

4. 研究成果

われわれはこれまでに、ラットおよびヒトの鼻腔粘膜上皮細胞に ATP を細胞外へ放出する機能を有する pannexin-1 が発現していることを報告している。鼻腔以外の臓器を形成する細胞において、pannexin-1 は種々の膜タンパクと共役して作用し ATP を放出することが知られている。最初に、鼻腔粘膜で温度受容体と pannexin-1 が共役して作用している可能性を考慮し、温度感受性を有する代表的な Transient Receptor Potential (TRP) のアゴニストを投与し、採取した鼻腔粘膜からの ATP 放出量の変化を測定した。低温受容体である TRPA1 と TRPM8、および著しい高温を受容する TRPV2 のアゴニストを加えた場合、鼻腔粘膜組織からの ATP 放出量は変化しなかった。一方、軽度～中等度の高温受容体で、辛みの受容体でもある TRPV1 のアゴニスト (カプサイシン) を投与した場合、鼻腔粘膜からの ATP 放出量は有意に増加した。実験後に組織のバイアピリティーを確認し、細胞死による ATP 増加ではないことを確認した。カプサイシン投与による ATP 増加は TRPV アンタゴニストである Ruthenium Red (RR) および pannexin-1 アンタゴニストであるカルベノキソロン (CBX)、プロベネシドにより有意に抑制された。これらの結果により、鼻腔粘膜上皮細胞で TRPV1 と pannexin-1 が共役して作用しており、TRPV1 の刺激によって pannexin-1 を介する ATP 放出が増加することが示唆された。単離した鼻腔細胞からパッチクランプ法を用いて、カプサイシン依存性の外向き電流が CBX やプロベネシド存在下で有意に減少することが示され、TRPV1 と pannexin-1 の機能連関を裏付けた(図 1)。

高感度ハイスピードカメラを用いて線毛運動を直接観察したところ、カプサイシン投与によって線毛運動の頻度 (Hz) は有意に増加し、この増加は CBX やプロベネシドを同時投与した場合にはみられなかった(図 2)。以上より、カプサイシンによって活性化された TRPV1 は pannexin-1

の活性化を惹起し、ATP の細胞外への放出を増加させ、細胞外に放出された ATP が線毛運動の頻度増加に寄与すると考えられた。

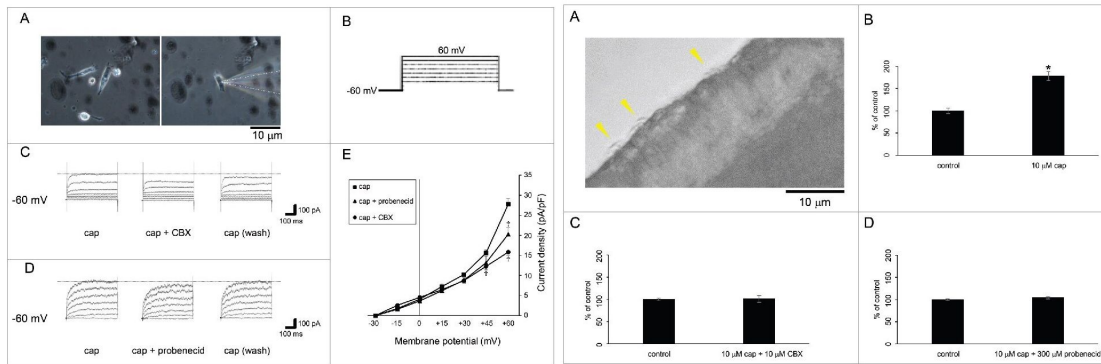


図 1

図 2

さらに、単一鼻腔粘膜上皮細胞にカプサイシンを投与した場合、細胞の apical side の収縮が観察された。この際、細胞の側壁側と基底側には形態学的に変化はみられなかった。この apical side の収縮は、RR および CBX 存在下では観察されなかった(図 3)。陰イオンである ATP は水分子も同時に細胞外へ放出するものと考えられ、in vivo において、線毛運動の効率を高める作用も有しているものと解釈された。

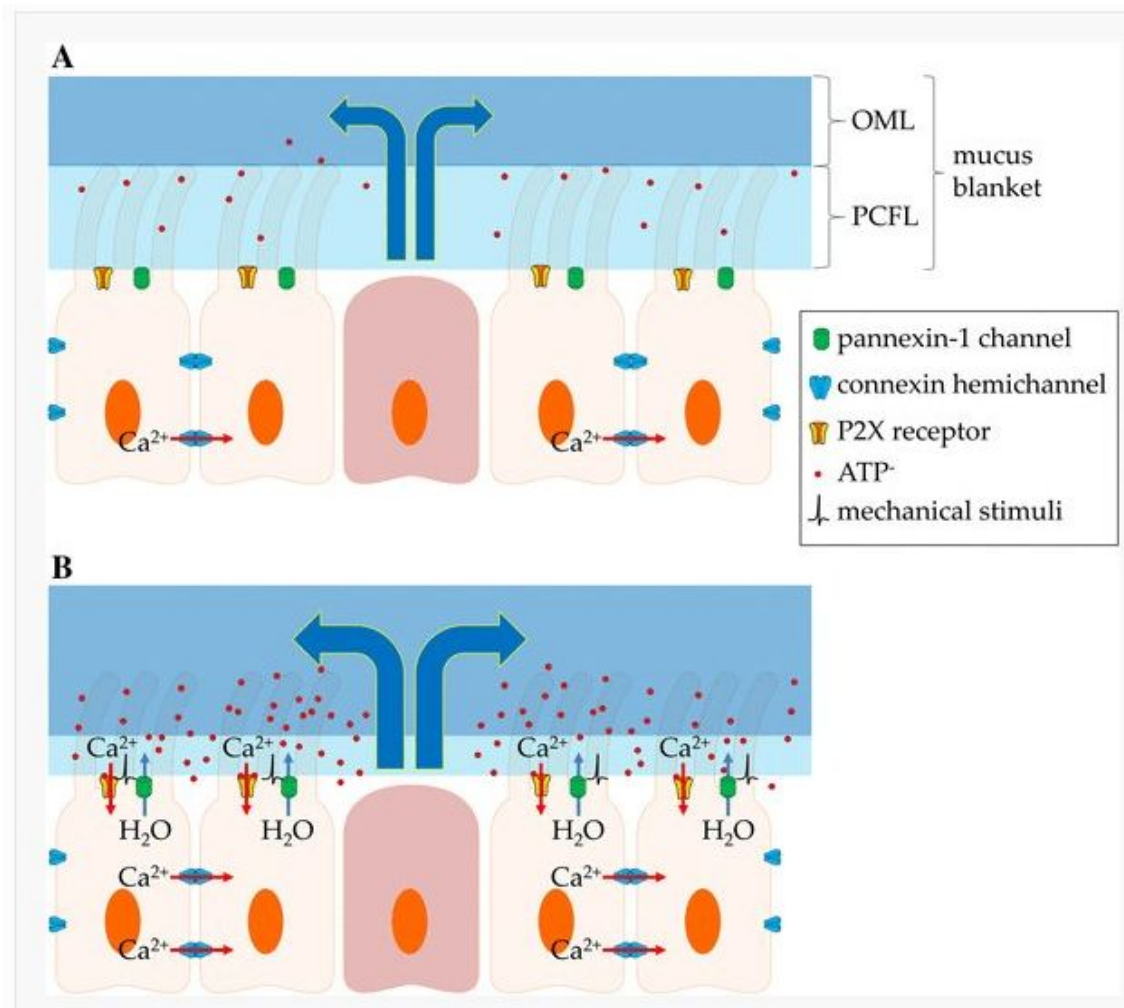


図 3

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2件)

- (1) Ohbuchi T, Suzuki H. Synchronized roles of pannexin and connexin in nasal mucosal epithelia. Eur Arch Oto-Rhino-Laryngol 2018; 275:1657-1661. (査読有)
- (2) Ohbuchi T, Do BH, Koizumi H, Takeuchi S, Ueta Y, Suzuki H. Possible contribution of pannexin-1 to capsaicin-induced ATP release in rat nasal columnar epithelial cells. Channels 2017; 11:274-280. (査読有)

〔学会発表〕(計 3件)

- (1) The relationship between subjective pitch matched tinnitus loudness and tinnitus handicap inventory in patients with chronic tinnitus. Ohbuchi T, Do BH, Kitamura T, Wakasugi T, Ito Y, Suzuki H.
55th Inner Ear Biology Workshop (国際学会.) 2018年9月6日~8日. Berlin
- (2) 鼻科生理学における Pannexin-1 . 大淵豊明、上田陽一、鈴木秀明 .
第95回日本生理学会総会 . 2018年3月28日~30日 . 香川 .
- (3) 鼻腔粘膜単一円柱線毛上皮細胞におけるセルセンシング機構の解明 . 大淵豊明 . 第27回病態生理学会大会 . 2017年8月18日~20日 . 東京 .

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年 :

国内外の別 :

○取得状況 (計 0件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年 :

国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等 なし

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：なし

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：なし

ローマ字氏名：