

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K10691

研究課題名(和文) 体温調節に対する血小板の末梢セロトニン調節機能の変化

研究課題名(英文) Changes of peripheral serotonin by platelets in accordance to control of body temperature

研究代表者

中村 磨美 (Nakamura, Mami)

滋賀医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70753763

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)：研究者らは、過去の研究で5-HT<sub>2A</sub>受容体刺激薬である25B-NBOMeを使用し、末梢セロトニンが薬剤性高体温に関与することを明らかにした。本研究では、皮膚の温感センサーであるTRPV受容体と25B-NBOMe使用時の体温変化を検証することで、この体温調節の始発となる受容体を推測した。本研究では、TRPV4受容体刺激薬/遮断薬を使用した際には高温環境に置いた時のような体温変化が起らず、TRPV4受容体は末梢セロトニン濃度変化に関連しないと推測された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

末梢セロトニンの変化とそれによる体温調節機構は、高体温を引き起こす様々な疾患の病態解明や治療に新しい視点を加えるものである。本研究で末梢セロトニン関連体温調節機構に対してTRPV4単独ではきっかりとならないことは、ポジティブな成果ではないものの、今後の同様の研究における重要な一歩であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We previously reported that peripheral serotonin plays an important role in drug-induced hyperthermia under high ambient temperature using a 5-HT<sub>2A</sub> agonist 25B-NBOMe. In this study, we tried to clarify the role of TRPV receptors on the skin which sense the temperature. As a result, 25B-NBOMe related hyperthermia was not observed under TRPV4 receptor agonist stimulation, nor vice versa, suggesting that TRPV4 is not relevant to changes in peripheral serotonin levels according to ambient temperature.

研究分野：法医学

キーワード：セロトニン TRPV受容体 温感センサー 薬剤性高体温 環境温度

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

我々は以前の課題で、高温環境下で血漿中の末梢セロトニン濃度が低下することを見出し、高温環境下で誘発される薬剤性高体温が末梢セロトニンの補充で抑制されることから、末梢セロトニンが環境温度依存性薬剤性高体温に関与していることを初めて明らかにした。しかし、高温環境下での末梢セロトニン低下の原因と制御機構は、明らかではなかった。

### 2. 研究の目的

研究開始当初、我々は末梢セロトニンの主な貯蔵器官である血小板に着目し、環境温度とその分子生物学的変化を解明しようとした。また、環境温度依存性薬剤性高体温の発現機序の始点として皮膚の TRPV 受容体の活性化が関与するか、解明しようとした。

### 3. 研究の方法

#### 【1】環境温度による血小板内外のセロトニン濃度差の検討

8週齢 SD ラットを使用する。ラットを常温環境下(23℃)または高温環境下(29℃)に3時間置いた後、心臓血採血により安楽死させる。採取した血液は、速やかに弱遠心により濃厚血小板血漿 (PRP) を、強遠心により乏血小板血漿 (PPP) を調整した。PRP 中の血小板数を血球算定盤を使用した目視により計測し、ELISA で測定したセロトニン量を血小板数で割ることで PRP 中の単位血小板当たりのセロトニン量を算出(補正 PRP セロトニン)、外気温による補正 PRP セロトニンと PPP セロトニンの比を比較した。(23℃ : n=7, 29℃ : n=4)

#### 【2】TRPV4 受容体活性/抑制による 5-HT<sub>2A</sub> アゴニスト誘発性高体温の発現検証

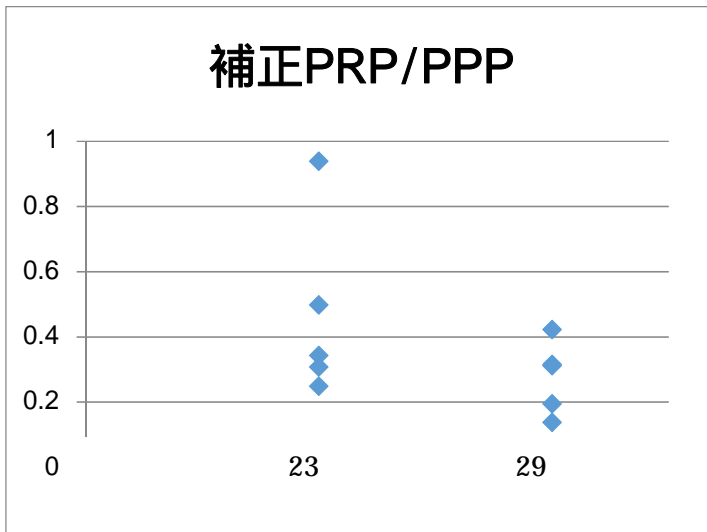
TRPV4 アゴニストである RN-1747 のプロピレングリコール溶液を調製し、剃毛したラットの背面に 1ml 塗布した後、23℃ 下で 5-HT<sub>2A</sub> アゴニストである 25B-NBOMe を腹腔内投与し、深部体温変化を測定した。同様に TRPV4 アンタゴニストである HC-067047 のプロピレングリコール溶液を剃毛したラットの背面に 1ml 塗布した後、29℃ 下で 25B-NBOMe を腹腔内投与し、深部体温変化を測定した。

### 4. 研究成果

#### 【1】環境温度による血小板内外のセロトニン濃度差の検討

この実験は、常温(23℃)または高温(29℃)環境下におかれたラットの血中においてセロトニンの血小板内外分布に差が出るかどうかを検証するために行った。研究者の前の課題において、高温環境下では末梢セロトニン濃度が低下しているとの結果が得られたが、血中の血小板が環境温度に応じてセロトニンの放出/取り込みを担っているのであれば、高温環境下では血小板内のセロトニン/血小板外のセロトニン比が増加する、と考えた。

仮説に反して高温環境下の方が常温環境下に比べて血小板内セロトニン/血小板外セロトニン比が低く、高温環境下では常温環境下に比べて血小板外セロトニンが増えるという結果になった(図1)

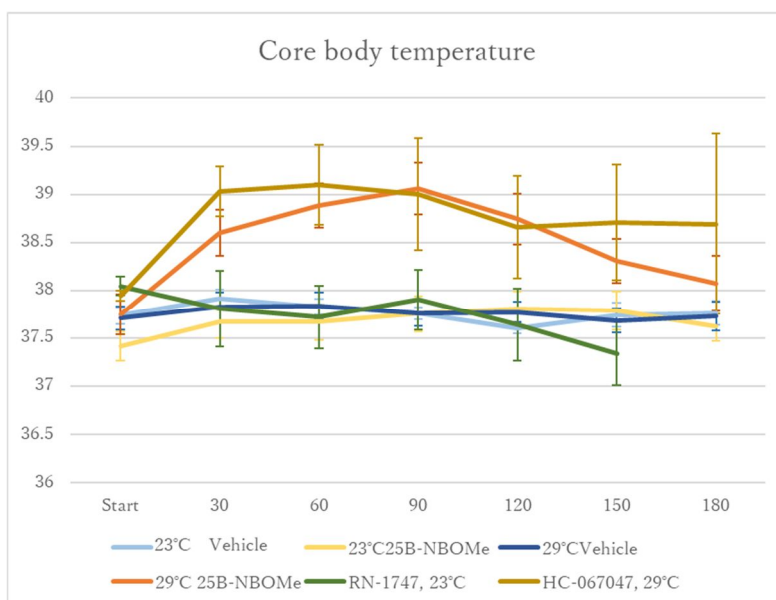


【図 1】

【2】 TRPV4 受容体活性/抑制による 5-HT<sub>2A</sub> アゴニスト誘発性高体温の発現検証

温感は、皮膚の TRPV 受容体で感知されるが、そのうち TRPV1 は 42 以上、TRPV3 は 39 前後、TRPV4 は 27 ~ 42 の温熱刺激により活性化する。前の研究では、環境温度 23 と 29 で実験し 25B-NBOMe の薬剤性高体温が発現されるかどうか分かれた。そのため、まず 27 以上で活性化する TRPV4 に着目し、実験を行った。TRPV4 刺激が環境温度依存性薬剤性高体温の発現経路の始点であった場合、TRPV4 刺激をした際は 23 環境下でも 25B-NBOMe 投与で高体温が誘発され、TRPV4 を抑制した際は 29 環境下でも 25B-NBOMe 投与で正常体温を維持すると推測した。

結果、23 環境下で TRPV4 アゴニストである RN-1747 を塗布したラットでは 25B-NBOMe 投与後に高体温が認められず、29 環境下で TRPV4 アンタゴニストである HC-067047 を塗布したラットでは 25B-NBOMe 投与後に高体温が誘発され、TRPV アゴニスト、アンタゴニストともに予測した効果は得られなかった。(図 2)



【図 2】

以上、【1】【2】ともに仮説と反対となる実験結果となった。

【1】 環境温度により末梢セロトニン濃度が減少することについて、血中の血小板機能はむしろセロトニンの減少を補完していることが推測される。末梢セロトニンの貯蔵/放出には腸管の EC 細胞も関与しており、今後は温度依存性の EC 細胞の機能に着目して研究を続けていく必要

がある。研究期間内に、腸管粘膜の免疫組織化学染色のプロトコルを検証するところまで実施できたものの、ラットを使用した環境温度変化実験を実施するまでは至らなかった。

【2】環境温度依存性の薬剤性高体温発現の始点として TRPV4 刺激を仮定したが、想定した結果を得られなかった。使用した試薬の用量、用法が不十分であった可能性の他、TRPV4 が仮説の機序に無関係である、あるいは別の何かと複合して働いている可能性が考えられる。

#### 【症例報告】

本課題の直接の成果ではないものの、研究期間中に合成カチノンである Eutylone を使用し死亡した症例を経験し、学会および論文で報告を行った。この症例に関する薬物分析および論文作成に要した費用は科研費とは異なる予算を使用したか、関連する成果として報告する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 中村磨美、新谷香	4. 巻 46
2. 論文標題 薬剤性高体温の発症リスクに対する高温環境の影響と末梢セロトニンの新しい役割	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Medical Science Digest	6. 最初と最後の頁 38-40
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura Mami, Takaso Marin, Takeda Arisa, Hitosugi Masahito	4. 巻 58
2. 論文標題 A fatal case of intoxication from a single use of eutylone: Clinical symptoms and quantitative analysis results	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Legal Medicine	6. 最初と最後の頁 102085 - 102085
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.legalmed.2022.102085	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中村磨美、東條美紗、中川季子、宇野亜加里、高相真鈴、竹田有紗、一杉正仁
2. 発表標題 合成カチノンEutyloneが検出された法医解剖事例
3. 学会等名 第43回日本中毒学会総会・学術集会
4. 発表年 2021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	新谷 香(石田香)  (Shintani-Ishida Kaori)  (50345047)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授    (24303)	

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
---------	---------