

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K07275

研究課題名（和文）新規冷受容分子TREKと女性ホルモンに着目した女性の冷えのメカニズムの解明

研究課題名（英文）Investigation of the mechanism of 'hie' in women, focusing on female hormones and TREK channels, new cold receptors

研究代表者

内田 有希 (Uchida, Yuki)

昭和大学・医学部・助教

研究者番号：50634002

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）：女性の冷えのメカニズムを女性ホルモンと新規冷受容分子TREKに着目して明らかにすることを目的とした。卵巣摘出ラットにおいて、エストロゲン（E2）はTREK作動薬（オスタルチン）投与時の体温上昇を促進した。TREK作動薬は尾部皮膚からの熱放散を抑制し、エストロゲンはその作用を強める傾向がみられた。E2は脊髄後根神経節のTREK1 mRNAなどを上昇させ、TREK作動薬は感覚神経の興奮を促進した。一方、卵巣摘出ラットにおいて、プロゲステロンはTREK作動薬投与時の体温調節反応に影響しなかった。女性でプロゲステロンではなくE2がTREK1を介し、冷えを感じやすくし、体温を上げることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

TREK作動薬オスタルチンは、ベトナムに自生するパラミニヤトリメラという植物の根に含まれる成分であり、この植物は伝統医学において癌治療に用いられている（10.1002/cbdv.201600498）。本研究では、雌性動物におけるオスタルチンの体温上昇作用を初めて明らかにした。この結果は、薬理的な観点から学術的な重要性を持つと考えられる。さらに、エストロゲンによってTREKチャネルがターゲットとされる更年期の体温調節異常や若年女性の冷えに関する治療薬の開発に貢献する可能性があり、社会的意義があると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study is to investigate the mechanism of 'hie' in women, focusing on female hormones and TREK channels, which are new cold receptors. Estrogen (E2) facilitated the increase of body temperature induced by TREK agonists in ovariectomized rats. TREK agonists suppressed heat dissipation from the tail, and E2 tended to facilitate this effect. E2 increased TREK1 mRNA expression. TREK agonists facilitated the excitation of sensory neurons. In contrast, progesterone did not affect the thermoregulatory responses induced by TREK agonists. These results indicate that E2, not progesterone, may increase cold sensitivity and raise body temperature via TREK channels.

研究分野：温熱生理学

キーワード：TREK エストロゲン プロゲステロン オスタルチン 体温調節 冷え症 代謝

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

女性の冷えのメカニズムを女性ホルモンと末梢冷受容分子 (TRPM8、TRPA1) の観点から検討してきた。エストロゲン (E2) が TRPM8 作動薬メントール刺激時の体温上昇を減弱させることを報告した (引用文献)。また、若年女性で足のメントール塗布時、E2 濃度の高い早期卵胞期に皮膚温が低下したことから、E2 は TRPM8 を介し、寒冷時体温調節に影響することが示唆された (引用文献)。しかし、足の物理的局所冷却時は、早期卵胞期で皮膚血流量が増加するという逆の結果となった (引用文献)。この原因は、E2 が TRPM8 に加え、新規冷受容分子 TREK に影響した為であると推測した。TREK は TRP 発見の 10 年後の 1999 年に同定された新規冷受容分子である。TREK2 はマイルドな寒冷刺激で活性化される (引用文献)。E2 は TREK を介し女性の体温調節に影響を及ぼした可能性がある。

2. 研究の目的

本研究では、女性ホルモンの E2 及びプロゲステロン (P4) の TREK を介した体温調節反応について、雌ラットと若年女性において検証する。雌ラットでは、体温調節行動の解析に、申請者が発見した新たな行動指標 (尾隠し行動: 寒冷時、ラットが体幹下に熱放散器官の尾部を隠す行動) を用い (引用文献)、自然な体温調節行動を定量化した。

3. 研究の方法

概要: E2 の TREK を介した体温調節反応への影響を調べる為、卵巣摘出ラットに vehicle または E2 留置する 2 群を設け、作動薬を投与し、脳の cFos 免疫陽性細胞、脊髄後根神経節の TREK 蛋白発現について解析する (実験 1)、同様に P4 の影響を解析する (実験 2)、若年女性において月経周期が TREK を介した温熱的不快感と体温調節への影響を調べる為、右足に作動薬を塗布し、足背、足指の皮膚温、皮膚血流量、鼓膜温、血圧、温熱感覚、温熱的快適感について、月経期、早期卵胞期、黄体期で比較する (実験 3)。

(1) 実験 1: E2 の TREK1 を介した体温調節反応への影響の解析

9 週齢ウィスター雌ラットの卵巣摘出後、E2 (22.3 mg) 含有 (E2(+)) 群、非含有シリコンチューブ (E2(-)) 群を背側皮下に留置し、腹腔内に体温・活動量測定用口ガー (ナノタグ®、キッセイコムテック) を挿入した。回復後、環境温 27 °C 下、実験日当日 10:00 に TREK 作動薬 (オスタルチン、4.2 µg) または vehicle を腹腔投与し、12:00 まで体温、活動量、尾部皮膚温 (サーモグラフィ)、体温調節行動 (尾隠し行動)、酸素消費量、二酸化炭素排泄量 (呼吸ガス代謝モニター) を計測した。実験後、血液、脊髄後根神経節を採取し、血漿カテコラミン、トリヨードチロニン、チロキシン濃度を計測した。脊髄後根神経節の RNA-seq 後、TREK1, TREK2, TRAAK, TRPM8, TRPV1, TRPV2, Ier5, Cdkn1a, VGF, Nos1, Esr2 の mRNA を RT-PCR で計測した。

In vitro 電気生理学実験にて、新生児ラット脊髄標本に TREK 作動薬 (500µM、15 分) を投与し、脊髄後根電気刺激による前根反射電位を計測した。

In vitro カルシウムイメージングにて、脊髄後根神経節に TREK 作動薬を投与し、神経細胞の活動を計測した。

(2) 実験 2: P4 の TREK を介した体温調節反応への影響の解析

9 週齢ウィスター雌ラットの卵巣摘出後、P4 含有 (P4(+)) 群、非含有シリコンチューブ (P4(-)) 群を背側皮下に留置し、腹腔内に体温・活動量測定用口ガーを挿入した。実験 1 と同様に TREK 作動薬を投与し、体温、活動量、尾部皮膚温、尾隠し行動を計測した。実験後、血液、血漿カテコラミン、トリヨードチロニン、チロキシン濃度を計測した。

(3) 実験 3: 若年女性において月経周期が TREK1, 2 作動薬の足背局所塗布時の温熱的不快感と皮膚温調節へ及ぼす影響の解析

E2 の TREK を介した体温調節への影響が認められた為、人を対象に予備実験として実験 1 で使用した TREK 作動薬溶液の手背への皮膚塗布を行った。

4. 研究成果

(1) 実験 1

体温は TREK 作動薬投与時、E2(-) 群より E2(+)) 群で高く、E2(+)) 群では vehicle 投与より TREK 作動薬投与が高かった。TREK 作動薬投与時、尾部皮膚温は低下し、E2 により低下する傾向がみられた (図 1)。E2 はトリヨードチロニン濃度を上昇させた (図 2)。E2 は TREK1, VGF, Nos1 mRNA を上昇させ、TREK 作動薬は TRPM8 mRNA を上昇させた (図 3)。その他の計測項目に群間の有意差は認められなかった。なお、尾隠し行動に群間の有意差が認められなかったため、脳の cFos 免疫陽性細胞数の解析は行わなかった。

TREK 作動薬は中程度に感覚神経刺激に対する反射電位の振幅を増やした (図 4、論文投稿準備中)。

TREK 作動薬投与により脊髄後根神経節の神経細胞の活動抑制が観察された。なお、現在も実験を継続中であり、結果が変わる可能性がある。

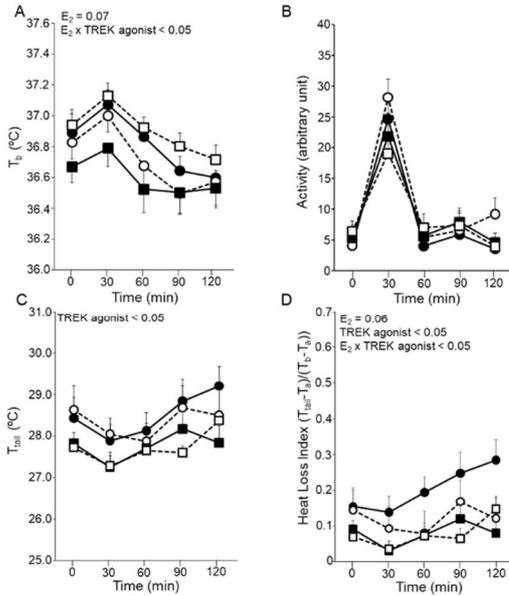


図1. 体温 (T_b , A)、活動量 (Activity, B)、尾部皮膚温 (T_{tail} , C)、熱放散指標 (D)

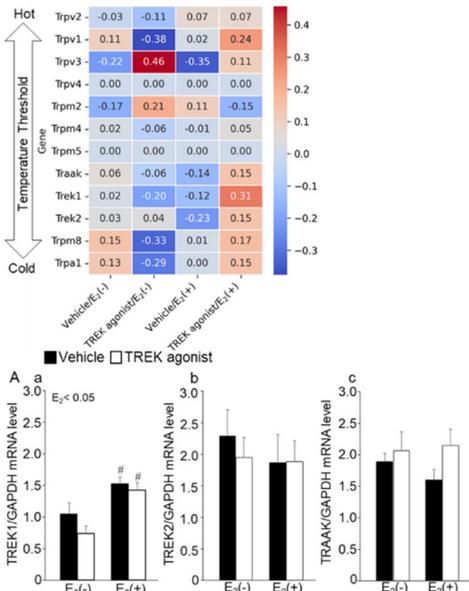


図3. RNA-seqによるラット脊髄後根神経節の発現遺伝子ヒートマップ (上段) とTREKファミリーmRNAレベル (下段)

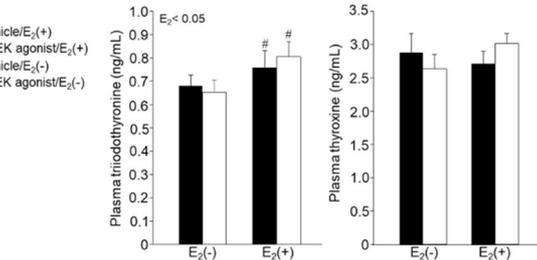


図2. 血漿トリヨードチロニン (左)、チロキシン濃度 (右)

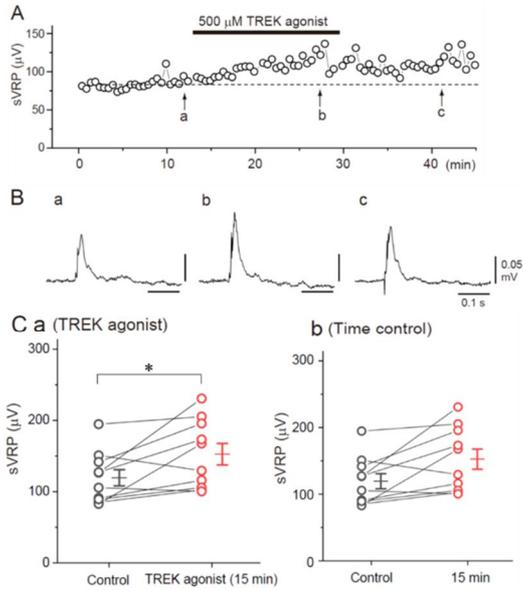


図4. *in vitro*電気生理実験におけるラット新生児脊髄標本の脊髄後根電気刺激時の前根反射電位: TREK作動薬投与時の典型例 (A)、典型例の一部 (B-a, b, c)、TREK作動薬投与群 (C-a)、タイムコントロール群 (C-b)の平均値

(2) 実験 2

P4(+)群、P4(-)群の両群において、TREK 作動薬投与は体温を上昇させた (図 5)。P4(-)群より P4(+)群で血漿ドーパミン濃度が低下した (図 6)。その他の計測項目に群間差は認められなかった。P4 の TREK を介した体温調節への影響は認められなかった (論文投稿中)。なお、尾隠し行動に群間の有意差が認められなかったため、脳の cFos 免疫陽性細胞数の解析は行われなかった。

(3) 実験 3

予備実験において、TREK 作動薬溶液塗布時、寒冷感覚、寒冷不快感は申告されなかった (男性 1 名、女性 1 名、計 2 名)。そのため、薬剤の経皮投与で寒冷感覚を誘導できないと判断した。よって、静脈投与、皮下注射など他の投与方法の検討が必要となった。しかし、これらの方法は被験者への侵襲性が高く、安全性を確保できないため、本実験の実施を断念した。

(1) ~ (3)の結果から、TREK 作動薬による感覚神経の興奮と E2 による TREK1 発現の増加は、末梢の寒冷感受性を促進する可能性がある。また、TREK 作動薬と E2 の尾部皮膚温低下による熱放散抑制は、TREK 投与時の E2 による体温上昇の要因と考えられる。女性で P4 ではなく E2 が TREK1 を介し、冷えを感じやすくし、体温を上げることが示唆された。

当初の仮説通り、E2 は TRPM8 と TREK の両方に影響し、女性の体温調節に影響すると考えられた。本研究では、実験 3 が実施できなかったため、ヒト実験の結果を比較することはできなかった。しかし、卵巣摘出ラットにおいて、E2 投与は TREK 刺激時の尾部皮膚温低下を促進

する傾向がみられたことから、TRPM8 及び TREK 刺激による熱放散抑制作用が明らかとなった。さらに、E2 はその作用を促進する傾向があった。そうであるなら、TRPM8 と TREK が同時に活性化されるマイルドな物理的冷却時は、皮膚血流量は低下し、皮膚温は低下すると予想される。しかし、我々の先行研究では、物理的局所冷却時は早期卵胞期で皮膚血流量が増加しており(引用文献) 矛盾する結果となった。この原因は、TRPM8、TREK を単独刺激しているためである可能性がある。今後の研究で、卵巣摘出ラットにおいて TRPM8 及び TREK 作動薬の共投与を行い、体温調節反応を検証する必要がある。

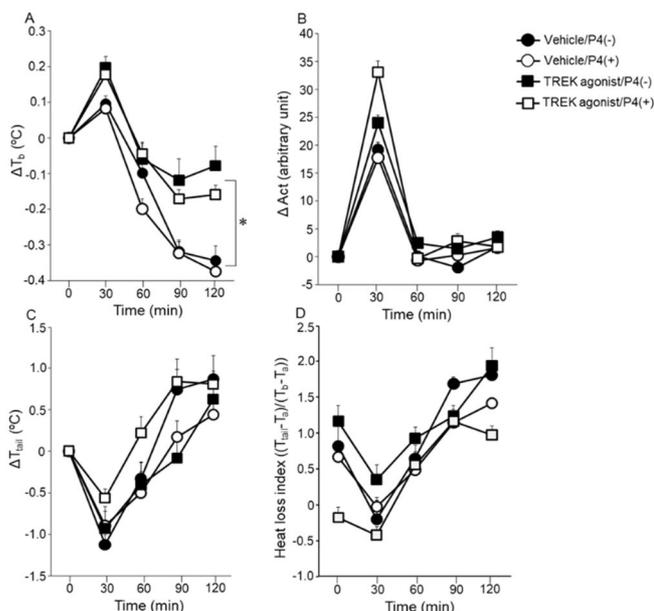


図5. 体温変化量 (ΔT_b , A)、活動量変化量 (ΔAct , B)、尾部皮膚温 (ΔT_{tail} , C)、熱放散指標 (D)

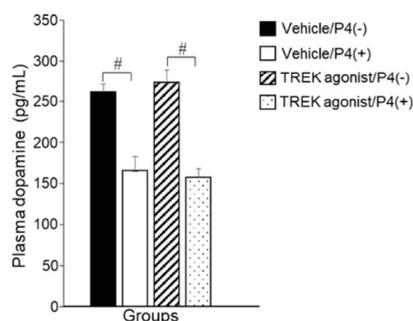


図6. 血漿ドーパミン濃度

< 引用文献 >

Yuki Uchida, Koyuki Atsumi, Shinji Hirano, Nao Koyanagi. Estradiol administration suppresses body temperature elevation induced by application of menthol to ovariectomized rats. *Journal of Thermal Biology*, Vol. 78, 281-289, 2018.

Yuki Uchida, Chinami Tsunekawa, Izumi Sato, Keiko Morimoto. Effect of the menstrual cycle phase on foot skin temperature during menthol application in young women. *Journal of Thermal Biology*, Vol. 85, 102401, 2019.

Yuki Uchida, Koyuki Atsumi, Akira Takamata, Keiko Morimoto. The effect of menstrual cycle phase on foot skin temperature during mild local cooling in young women. *The Journal of Physiological Sciences*, Vol. 69 No.1, 151-157, 2019.

J Antonio Lamas, Lola Rueda-Ruzafa, Salvador Herrera-Pérez. Ion Channels and Thermosensitivity: TRP, TREK, or Both? *Int J Mol Sci*. Vol. 20(10):2371, 2019.

Yuki Uchida, Ken Tokizawa, Mayumi Nakamura, Cheng-Hsien Lin, Kei Nagashima. Tail position affects the body temperature of rats during cold exposure in a low-energy state. *Journal of Comparative Physiology - A* Vol.198, No 2: 89-95, 2012.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 内田有希, 上條翔太郎, 鮫島勇毅, 細沼雅弘, 本間元康, 政岡ゆり, 泉崎雅彦	4. 巻 65(1)
2. 論文標題 冷受容分子を介した女性ホルモンの体温調節作用 - ヒトと動物の基礎研究 -	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 繊維製品消費科学	6. 最初と最後の頁 19-24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11419/senshoshi.65.1_19	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yuki Uchida, Masahiko Izumizaki.	4. 巻 108
2. 論文標題 The use of wearable devices for predicting biphasic basal body temperature to estimate the date of ovulation in women.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Thermal Biology	6. 最初と最後の頁 103290
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jtherbio.2022.103290	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 -
1. 著者名 Yuki Uchida, Shotaro Kamijo, Motoyasu Honma, Yuri Masaoka, Yuki Samejima, Masahiko Izumizaki.	4. 巻 60
2. 論文標題 Thermoregulatory responses and their central mechanism during cold stress in women.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 自律神経	6. 最初と最後の頁 131-135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.32272/ans.60.3_131	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yuki Uchida, Masahiko Izumizaki	4. 巻 113
2. 論文標題 Modulation of autonomic and behavioral thermoregulation at various ambient temperatures by acyl and des-acyl ghrelin	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Thermal Biology	6. 最初と最後の頁 103543
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jtherbio.2023.103543	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 -

1. 著者名 Yumika Kokudai, Motoyasu Honma, Yuri Masaoka, Masaki Yoshida, Haruko Sugiyama, Akira Yoshikawa, Nobuyoshi Koiwa, Satomi Kubota, Natsuko Iizuka, Sayaka Wada, Shotaro Kamiyo, Yuki Uchida, Satoshi Yano, Masahiro Ida, Kenjiro Ono, Masahiko Izumizaki	4. 巻 22(75)
2. 論文標題 Cascade process mediated by left hippocampus and left superior frontal gyrus affects relationship between aging and cognitive dysfunction	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Neuroscience	6. 最初と最後の頁 75-75
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12868-021-00680	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yuki Uchida, Masahiko Izumizaki	4. 巻 100(103029)
2. 論文標題 Effect of menstrual cycle and female hormones on TRP and TREK channels in modifying thermosensitivity and physiological functions in women	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Thermal Biology	6. 最初と最後の頁 103029
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jtherbio.2021.103029	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 -

1. 著者名 Yuki Uchida, Izumi Sato, Koyuki Atsumi, and Chinami Tsunekawa	4. 巻 67(2)
2. 論文標題 UCP1 and TRPM8 expression in the brown fat did not affect the restriction of menthol-induced hyperthermia by estradiol in ovariectomized rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Nutritional Science and Vitaminology	6. 最初と最後の頁 130-134
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3177/jnsv.67.130	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yuki Uchida, Chinami Tsunekawa, Izumi Sato	4. 巻 737
2. 論文標題 Systemic acyl-ghrelin increases tail skin temperature in rats without affecting their thermoregulatory behavior in a cold environment.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 135306
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2020.135306	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16件（うち招待講演 6件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yuki Uchida, Shotaro Kamijo, Masahiko Izumizaki
2. 発表標題 Effect of estradiol on thermoregulatory responses in ovariectomized rats administrated TREK agonist
3. 学会等名 The 39th Congress of the International Union of Physiological Sciences (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuki Uchida, Shotaro Kamijo, Motoyasu Honma, Yuri Masaoka, Masahiko Izumizaki
2. 発表標題 Effect of estradiol on thermoregulatory responses in ovariectomized rats administrated TREK agonist
3. 学会等名 Neuro2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 内田有希, 泉崎雅彦
2. 発表標題 エストロゲンは新規冷受容分子TREK作動薬投与卵巣摘出ラットにおいて体温を上昇させる
3. 学会等名 第61回日本生気象学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 内田有希, 上條翔太郎, 鮫島勇毅, 本間元康, 政岡ゆり, 泉崎雅彦
2. 発表標題 TREK作動薬投与卵巣摘出ラットにおけるエストラジオールの体温調節作用
3. 学会等名 第17回環境生理学プレコンgres
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yuki Uchida, Yuki Samejima, Masahiko Izumizaki
2. 発表標題 Effect of progesterone on thermoregulatory responses in ovariectomized rats administrated TREK agonist」
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 内田有希, 上條翔太郎, 本間元康, 政岡ゆり, 鮫島勇毅, 泉崎雅彦
2. 発表標題 女性の寒冷ストレス時の体温調節反応とその中枢メカニズム
3. 学会等名 第75回日本自律神経学会総会 基礎のシンポジウム ストレスと中枢自律神経応答 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 内田有希, 上條翔太郎, 本間元康, 政岡ゆり, 鮫島勇毅, 泉崎雅彦
2. 発表標題 ヒトと動物の基礎研究から考える女性の冷え
3. 学会等名 Biothermology Workshop 2022 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 内田有希, 泉崎雅彦
2. 発表標題 卵巣摘出ラットにおけるエストラジオールのメントール誘導性体温上昇の抑制作用 褐色脂肪組織のUCP1, TRPM8発現に着目して
3. 学会等名 第60回日本生気象学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内田有希、上條翔太郎、泉崎雅彦
2. 発表標題 エストラジオールがTREK作動薬投与卵巢摘出ラットの体温調節反応に与える影響
3. 学会等名 第48回自律神経生理研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuki Uchida
2. 発表標題 Estrogenic modulation in thermoregulation via cold receptors
3. 学会等名 第74回日本自律神経学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuki Uchida, Shotaro Kamijo, Masahiko Izumizaki
2. 発表標題 Effect of estradiol on thermoregulatory responses in ovariectomized rats administrated TREK agonist
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuki Uchida, Chinami Tsunekawa, Izumi Sato
2. 発表標題 Systemic acyl-ghrelin increases tail skin temperature in rats without affecting their thermoregulatory behavior in a cold environment
3. 学会等名 第43回日本生物学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 内田有希
2. 発表標題 ミントの成分メントールによる褐色脂肪活性化に対するエストラジオールの作用
3. 学会等名 第91回日本動物学会大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuki Uchida, Izumi Sato, Chinami Tsunekawa
2. 発表標題 Mechanisms involved in the inhibitory action of estradiol to menthol-induced body temperature elevation in ovariectomized rats
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 内田有希
2. 発表標題 理系女性研究者に聞く 女性の健康に関わるホルモンの研究を通して
3. 学会等名 奈良ソニタクラブ・ローズデー～コロナ禍を超えて奈良の女性の活躍を考える～（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 内田有希
2. 発表標題 温度環境と女性の体温調節
3. 学会等名 第59回日本生気象学会大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 永島計、内田有希ら	4. 発行年 2021年
2. 出版社 杏林書院	5. 総ページ数 179
3. 書名 体温の「なぜ？」がわかる生理学-からだで感じる・考える・理解する-	

〔産業財産権〕

〔その他〕

昭和大学医学部生理学講座生体調節機能学部門 https://www.showa-u.ac.jp/education/med/major/physio-2.html Yuki Uchida, PhD website https://sites.google.com/site/yukiuchidaphd/

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

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