

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：12608

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K14781

研究課題名（和文）非嗅覚組織に発現する嗅覚受容体のリガンド輸送機構の解明

研究課題名（英文）Analysis of the transport mechanism of ligands for ectopic olfactory receptors

研究代表者

永島 鮎美（Nagashima, Ayumi）

東京工業大学・生命理工学院・助教

研究者番号：20814461

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：嗅覚受容体は、鼻腔の奥に位置する嗅上皮だけでなく、非嗅覚組織にも発現する。しかし、生理的な濃度の生体内リガンドが、受容体の活性化に必要な濃度で存在するかはほとんど不明である。情報解析により、非嗅覚組織に発現する嗅覚受容体とその近傍で発現する輸送体を見出した。また、小腸頂端膜側に発現する輸送体（アクアグリセロポリン）に関し、これをコードする遺伝子が糸鱗類の祖先においてタンデム重複した後、進化の過程で輸送基質選択性が変化したことを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アクアグリセロポリンにおける水以外の輸送基質選択性を生み出す分子機構についてはほとんど明らかになっていない。本研究成果はこれを解明する手掛かりとなり、他のアクアグリセロポリンの基質選択性に関する理解も大きく前進させると想定される。将来的には、新たな輸送基質の発見や、薬剤による輸送制御などへの応用が見込まれ、比較生理学分野のみならず栄養学分野などを含めた広範な学術領域への波及効果も期待される。

研究成果の概要（英文）：Olfactory receptors are expressed not only in the olfactory epithelium but also in non-olfactory tissues. However, in most cases it is not known whether the physiological levels of the ligands are present in vivo at the concentrations required for the activation of the receptors. Through bioinformatic analysis, I found olfactory receptors expressed in non-olfactory tissues and transporters expressed in the vicinity of these receptors. For the transporter expressed on the apical membrane side of the small intestine, I showed that after the gene encoding the transporter was tandemly duplicated in the ancestor of the ray-finned fish, the substrate selectivity of the transporter changed during evolution.

研究分野：感覚生理学

キーワード：嗅覚受容体 輸送体 トランスポーター アクアグリセロポリン

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生物は、様々な刺激を通じて外部環境および内部環境を認識している。同時にその環境に対して適切な応答をし、生命活動を維持している。それらの刺激の中で化学物質は最も多様性に富んでおり、様々な情報を有すると考えられている。動物が感知する外界の化学物質のうち、匂い物質と呼ばれるものは、分子量約 300 以下の揮発性有機化合物である。動物は嗅覚によってこれを受容し、適切な応答をする。嗅覚受容体は、鼻腔の奥に位置する嗅上皮だけでなく、非嗅覚組織にも発現し、機能を発揮することが報告されている。しかし、合成香料を対象としたスクリーニングによりリガンドが明らかとなった例が多く、生理的な濃度の生体内リガンドが、受容体の活性化に必要な濃度で存在するかはほとんどが不明である。また、腎臓や腸には嗅覚受容体が複数発現することが知られている。これらにおいて発現する膜輸送体の中には、輸送基質選択性や基質選択性を決定する分子基盤が未解明なものも多く存在する。

2. 研究の目的

本研究では、腸などに高発現する輸送体の輸送基質の同定、ならびに嗅覚受容体の近傍に発現する輸送体の探索を行うことで、非嗅覚組織に発現する嗅覚受容体周辺でリガンド輸送に関与する輸送体や、嗅覚受容体の活性に影響を与える輸送体の解明を目指す。

3. 研究の方法

(1) 嗅覚受容体が発現する組織であることが知られており、吸収や排泄の場であるため様々な輸送体が発現していることから、腸や腎臓に着目し公共データベースを利用して輸送体の探索を行う。また、吸収や排泄の場であるにも関わらず、嗅覚受容体の発現に関する知見が十分でない組織に関して発現解析を行い、鼻以外で発現する嗅覚受容体と共発現する輸送体を広く探索する。公共データベースのデータでは組織全体の発現量から判断せざるを得ない。そのため、嗅覚受容体がごく一部の細胞にしか発現していない組織において、生理条件下で主として機能する輸送体を解析対象から取りこぼすことのないよう、組織全体だけでなく組織を構造に準じて分割して解析を行う。

(2) アフリカツメガエル卵母細胞は、cRNA を導入することで効率良く膜タンパク質を発現させることができるため、膜に発現する輸送体の解析に適した実験系である。そこで、この発現系を用いて輸送体の活性測定を行う。アクアグリセロポリリン (Aqp) は、水、グリセロール、尿素そして嗅覚受容体のリガンドとなりうる非イオン型の乳酸などの低分子化合物を通す輸送体であり、腸にも発現することから、まずこの解析を行う。

4. 研究成果

(1) RNA-seq 解析により、鼻以外で発現する嗅覚受容体と輸送体候補リストを得ることができた。また、解析対象とした組織の内部構造の一部で高い発現を示す輸送体が Aqp 含め複数存在することが明らかになった。この情報を基に、輸送体の活性測定のみならず、嗅覚受容体がごく一部の細胞でしか発現していない組織において、組織化学解析による検討に進むことが可能となった。

(2) 非嗅覚組織に発現する嗅覚受容体は、嗅上皮のみに発現している嗅覚受容体と比較し、生物種間における保存度が高い。しかし、輸送体に関しては種間で保存性が低く、マウスやラットをモデルとして利用できないケースがある。例えば、小腸頂端膜側に発現する Aqp10 はヒトでは機能遺伝子であるが、マウスでは欠損しており、ラットでは発現が確認できなかった。ヒト Aqp10 は水、グリセロール、尿素およびホウ酸を輸送するが、トラフグ Aqp10 パラログである Aqp10.2b は尿素およびホウ酸を輸送しない。しかし、どちらの活性が祖先型であるか、また進化の過程でいつ基質特異性が変化したのかは不明であった。そこで、肉鰭類、条鰭類の古代魚、真骨魚類の Aqp10 の輸送活性を解析した。その結

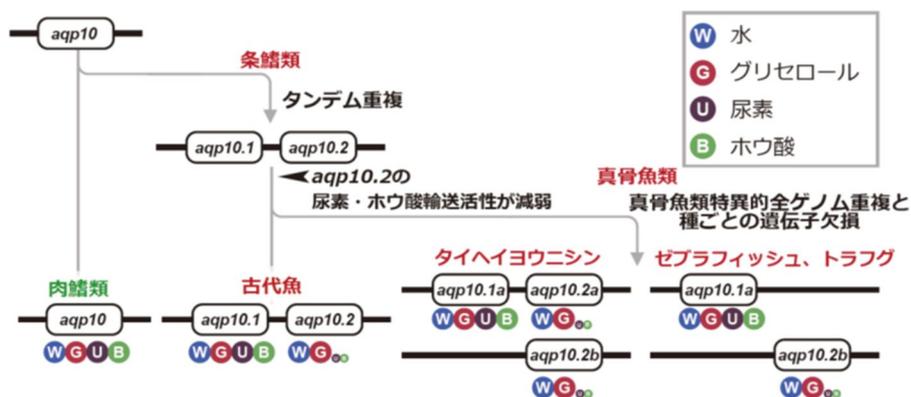


図1 aqp10 遺伝子の進化と輸送活性の変化

果、水、グリセロール、尿素およびホウ酸を輸送する活性が共通した祖先型の性質であること、また、水、グリセロールのみを輸送する活性が糸鱈類の Aqp10.2 のみに限定された性質であることを明らかにした。これらの結果から、糸鱈類 Aqp10.2 は進化の過程で尿素およびホウ酸の輸送活性を減弱させたことが示唆された[図 1]。アクアグリセロポリンにおける水以外の輸送基質選択性を生み出す分子機構についてはほとんど明らかになっておらず、配列から活性を予測することも困難である。Aqp10 に関する本成果は他のアクアグリセロポリンの基質選択性に関する理解も大きく前進させる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Imaizumi Genki, Ushio Kazutaka, Nishihara Hidenori, Braasch Ingo, Watanabe Erika, Kumagai Shiori, Furuta Tadaomi, Matsuzaki Koji, Romero Michael F, Kato Akira, Nagashima Ayumi	4. 巻 16
2. 論文標題 Functional Divergence in Solute Permeability between Ray-Finned Fish-Specific Paralogs of aqp10	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Genome Biology and Evolution	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/gbe/evad221	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 該当する
1. 著者名 Toya Motoshima, Ayumi Nagashima, Chihiro Ota, Haruka Oka, Kohei Hosono, Ingo Braasch, Hidenori Nishihara, and Akira Kato	4. 巻 55
2. 論文標題 Na ⁺ -Cl ⁻ cotransporter 2 is not fish-specific and is widely found in amphibians, non-avian reptiles, and select mammals	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Physiological Genomics	6. 最初と最後の頁 113-131
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/physiolgenomics.00143.2022	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 該当する
1. 著者名 Kazutaka Ushio, Erika Watanabe, Takehiro Kamiya, Ayumi Nagashima, Tadaomi Furuta, Genki Imaizumi, Toru Fujiwara, Michael F. Romero, Akira Kato	4. 巻 1
2. 論文標題 Boric acid transport activity of human aquaporins expressed in Xenopus oocytes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e15164
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14814/phy2.15164	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 該当する
1. 著者名 Chihiro Ota, Ayumi Nagashima, Akira Kato	4. 巻 -
2. 論文標題 Electroneutral Na ⁺ /Cl ⁻ cotransport activity of zebrafish Slc12a10.1 expressed in Xenopus oocytes	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology	6. 最初と最後の頁 -
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 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9件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 太田地洋、元島登哉、永島鮎美、Ingo Braasch、西原秀典、加藤 明
2. 発表標題 脊椎動物におけるslc12a10遺伝子の進化
3. 学会等名 第17回トランスポーター研究会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ota C, Nagashima A, Kato A
2. 発表標題 Electroneutral Na ⁺ -Cl ⁻ - cotransport activity of zebrafish Slc12a10.1 expressed in <i>Xenopus</i> oocytes
3. 学会等名 18th TOIN International Symposium on Biomedical Engineering (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ayumi Nagashima, Kazutaka Ushio, Genki Imaizumi, Hidenori Nishihara, Tadaomi Furuta, Ingo Braasch, Koji Matsuzaki, Michael F. Romero, Akira Kato
2. 発表標題 条鰭類Aqp10パラログの尿素およびホウ酸輸送における進化的な活性の減弱 / Evolutionary reduction of urea and boric acid transport activity of an Aqp10 paralog in ray-finned fishes
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 永島 鮎美、潮 和敬、今泉 元岐、西原 秀典、古田 忠臣、インゴ ブラーシュ、松崎 浩二、マイケル・F ロメロ、加藤 明
2. 発表標題 条鰭類アクアポリン10パラログの輸送基質選択における機能分岐
3. 学会等名 日本農芸化学会2024年度大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 永島鮎美、今泉 元岐、潮 和敬、Ingo Braasch、加藤 明
2. 発表標題 真骨魚類アクアポリン10bbにおける尿素・ホウ酸輸送活性の進化的な機能喪失
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 今泉 元岐、潮 和敬、永島鮎美、Ingo Braasch、加藤 明
2. 発表標題 糸鱈類Aqp10パラログの尿素およびホウ酸輸送における進化的な活性の減弱
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 Nagashima A, Motoshima T, Ota C, Braasch I, Nishihara H, Kato A
2. 発表標題 Evolution and pseudogenization of slc12a10 gene in vertebrate animals
3. 学会等名 17th TOIN International Symposium on Biomedical Engineering (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 永島鮎美、元島登哉、太田地洋、Ingo Braasch、西原秀典、加藤 明
2. 発表標題 脊椎動物におけるslc12a10遺伝子の発現と偽遺伝子化の解析
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 永島 鮎美、潮 和敬、今泉 元岐、秋元 仁、渡邊 恵理香、古田 忠臣、Michael F. Romero、加藤 明
2. 発表標題 アクアグリセロポリンAQP10の輸送基質選択に関わる分子基盤の解析 / Analysis of molecular basis underlying the substrate selectivity in an aquaglyceroporin AQP10
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>Aqp10タンパク質の尿素・ホウ酸輸送活性の減弱が生じた進化上のタイミングを同定 https://www.titech.ac.jp/news/2023/068060 The Evolutionary Timeline of Diminished Boric Acid and Urea Transportation in Aquaporin 10 https://www.titech.ac.jp/english/news/2023/068146 Tokyo Tech clarifies the evolutionary timing of diminished urea/boric acid transport activity of fish aqp10 https://sj.jst.go.jp/news/202402/n0227-01k.html 魚類に特有なNa⁺-Cl⁻ 共輸送体2遺伝子を 哺乳動物などでも発見 https://www.titech.ac.jp/news/2023/065865</p> <p>非嗅覚組織に発現する嗅覚受容体 永島 鮎美 BIO Clinica 37(2), 189-192, 2022</p>
--

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		
米国	Michigan State University	Mayo Clinic College	