

平成 30 年 6 月 6 日現在

機関番号：37111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08197

研究課題名(和文) 浸透圧感受性TRPチャネルの活性化分子機構とその生理的役割の解明

研究課題名(英文) Elucidation of activation mechanism for osmo-sensitive TRP channel and its physiological role

研究代表者

沼田 朋大 (Numata, Tomohiro)

福岡大学・医学部・講師

研究者番号：20455223

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：これまで、細胞容積調節能に関わる浸透圧刺激で活性化するイオンチャネルの活性化分子機構や生体における生理的役割の理解は、十分ではなかった。そこで、それぞれのイオンチャネルの活性化機構および生理的役割を分子レベルから組織、個体レベルまで多階層で包括的理解を目指した。研究の成果として、腎臓に多く多発性嚢胞腎の原因遺伝子PKD1, PKD2L1の活性化機構及び、物理・化学的な刺激で活性化するTRPチャネル(TRPV1, M2, M4)の生理的な役割、浸透圧変化で活性化するクロライドチャネルの水分泌機構について報告を行った。

研究成果の概要(英文)：The elucidation of the mechanism of activation of ion channels activated by osmotic stimulation is not well understood in cell volume regulation and in vivo physiological role. Therefore, we aimed at a comprehensive understanding of the activation mechanism and physiological role of each ion channel from the molecular level to the organization and individual level in multiple levels. As a result of the research, we have reported the activation mechanism of PKD2L1, a causative gene of polycystic kidney disease, and clarified the activation mechanisms of TRP channel (TRPV1, M2, M4, A1) and physiological role in vivo. We also report on the mechanism of water secretion of chloride channel activated by osmotic pressure change.

研究分野：生理学一般

キーワード：機械刺激 TRP 細胞容積調節 浸透圧 イオンチャネル 細胞死 パッチクランプ

1. 研究開始当初の背景

これまで、細胞容積調節能の生体内における役割を知るために分子レベルから個体レベルまでの多階層において包括的な理解を目指してきた。そのきっかけとして、申請者は細胞容積調節能を細胞レベルで理解するため、浸透圧刺激で活性化するイオンチャネルの分子同定、活性化機構とその生理的役割の解明を目指し研究を展開してきた[沼田ら, 2009 生化学, Okada et al, 2009 J. Physiol.(London)]. 細胞容積調節機構において細胞膨張と細胞縮小の細胞容積を感知するイオンチャネルの分子実体は不明であった。しかし、低浸透圧刺激の細胞膨張を感知して調節性細胞容積減少(RVD)を惹起するためのトリガーとして働く膜伸展感受性カチオンチャネルは、機能解析と siRNA を用いた分子スクリーニングにより Transient Receptor Potential(TRP)M7 が本チャネル形成することを明らかにした[Numata et al, 2007 Am. J. Physiol. Cell Physiol.]. 一方で、高浸透圧刺激による細胞縮小を感知して調節性細胞増大(RVI)を引き起こすカチオン流入経路であるイオンチャネルについての分子実体もまた不明であった。しかし、最近、機能解析によるカチオンチャネルの特徴づけと内在的に発現しているイオンチャネル分子のクローニングにより TRPM2 のスプライズバリエーション(TRPM2 C)が本チャネルを形成することを明らかにした[Numata et al, 2012 J. Physiol. (London)]. 申請者は、これらの細胞容積調節能を多階層で解明する上で細胞容積調節能に深く関わる TRPM2 および TRPM7 の分子レベルにおける活性化機構を明らかにすること、組織、個体レベルにおいてその役割を明らかにすることの2つの課題を解決する必要性が高まった。

2. 研究の目的

これまで、細胞容積調節能に関わる浸透圧刺激で活性化するイオンチャネルである TRPM2 および TRPM7 の活性化分子機構や生体における生理的役割の理解は、未だ十分ではない。そこで、それぞれのイオンチャネルの活性化機構および生理的役割を分子レベルから組織、個体レベルまで多階層で包括的理解を目指す。

3. 研究の方法

活性化分子機構の解明には、主にイオンチャネル内に変異を導入し、機能評価を行い、組織、個体における生理的役割の評価には遺伝子欠損マウスを用いた実験を行う。

4. 研究成果

これまで、細胞容積調節能に関わる浸透圧刺激で活性化するイオンチャネルの活性化分子機構や生体における生理的役割の理解は、十分ではなかった。そこで、それぞれのイオンチャネルの活性化機構および生理的役割

を分子レベルから組織、個体レベルまで多階層で包括的理解を目指した。活性化分子機構の解明には、主にイオンチャネル内に変異を導入し、機能評価を行い、組織、個体における生理的役割の評価には遺伝子欠損マウスを用いた実験を行った。主に以下の2つの課題「分子レベルにおける活性化機構の解明」、「組織、個体レベルにおける生理的役割の解明」を遂行し、本研究課題「浸透圧感受性 TRP チャネルの活性化分子機構とその生理的役割の解明」を行った。以下の細分化した課題を行った。 a. イオンチャネル内の機械刺激感受性部位候補の変異体作成および発現確認を行った。また遺伝子改変動物の mating を行い、さらに使用準備を行った。 b. 変異体機能解析、細胞容積調節能実験を行った。 c. 個体における浸透圧刺激を含む機械刺激に対する実験を行った。初年度は、実験動物準備、変異体作成、発現確認など分子、生化学的研究を中心に実験の予備実験や用いる材料の準備の実験を行った。2年度は、初年度に作成したクローンの機能解析および遺伝子欠損マウスからの単離確認および細胞容積調節能の確認を行った。3年度に個体実験および単離細胞、組織における浸透圧感知の生理的役割を明らかにした。研究の成果として、物理・化学的な刺激で活性化する TRP チャネル (TRPV1, M2, M4, PKD1, PKD2L1) と浸透圧変化で活性化するクロライドチャネルの報告を行った。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

Numata T, Sato-Numata K, Okada Y, Inoue R. Cellular mechanism for herbal medicine Junchoto to facilitate intestinal Cl⁻/water secretion that involves cAMP-dependent activation of CFTR. J Nat Med. (2018) doi: 10.1007/s11418-018-1207-9.

Cai N, Takano Y, Numata T, Inoue R, Mori Y, Murakami T, Imahori H. Strategy to attain remarkably high photoinduced charge-separation yield of donor-acceptor linked molecules in biological environment via modulating their cationic moieties. J. Phys. Chem. C, 121: 17457-17465 (2017)

Hu YP, Duan YB, Takeuchi A, Hai-Kurahara L, Ichikawa J, Hiraishi K, Numata T, Ohara H, Iribe G, Nakaya M, Mori MX, Matsuoka S, Ma G, Inoue R. Uncovering the arrhythmogenic potential of TRPM4 activation in atrial-derived HL-1 cells using novel

recording and numerical approaches. Cardiovascular Research, 113: 1243-1255 (2017)

Numata T, Tsumoto K, Yamada K, Kurokawa T, Hirose S, Nomura H, Kawano M, Kurachi Y, Inoue R, Mori Y. Integrative approach with electrophysiological and theoretical methods reveals a new role of S4 positively charged residues in PKD2L1 channel voltage-sensing. Sci Rep. 7:9760. (2017)

Miyake T, Nakamura S, Meng Z, Hamano S, Inoue K, Numata T, Takahashi N, Nagayasu K, Shirakawa H, Mori Y, Nakagawa T, Kaneko S. Distinct mechanism of cysteine oxidation-dependent activation and cold sensitization of human transient receptor potential ankyrin 1 channel by high and low oxaliplatin. Front. Physiol. (2017) 2017 Nov 1;8:878. doi: 10.3389/fphys.2017.00878. eCollection 2017.

〔学会発表〕(計 12 件)

Tomohiro Numata, Ryuji Inoue Integrative approach with electrophysiological and theoretical methods reveals an unusual voltage sensing mechanism in PKD2L1 channel 第 95 回日本生理学会大会 2018 年

Tomohiro Numata, Ryuji Inoue Involvement of Redox-Sensitive TRPM2 Channel in Cardiac Dysfunction Induced by Ischemia-Reperfusion Injury. The 39th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (国際学会) 2017 年

沼田 朋大, ベーナー フランク, 佐藤 (沼田) がお理, ハスラー ジャン, 井上 隆司 肝臓の画像を元にした組織微小領域の三次元再構築と定量的解析 第 59 回日本平滑筋学会総会 (招待講演) 2017 年

沼田 朋大, 佐藤 (沼田) がお理, 井上 隆司 慢性便秘薬「潤腸湯」の作用機序の解明 第 59 回日本平滑筋学会総会 2017 年

沼田 朋大, 佐藤 (沼田) がお理, 井上 隆司 慢性便秘薬「潤腸湯」の作用メカニズムの解明 第 68 回西日本生理学会 2017 年

高橋 貴理子, 沼田 朋大, 山浦 健, 井上 隆司 プロポフォールは敗血症時の血管炎症反応を抑制する 第 68 回西日本生理学会 2017 年

野見山 崇, 小松 志保, 沼田 朋大, 岩屋 智加予, 川波 賢子, 濱口 百合子, 田中 智子, 田邊 真紀人, 井上 隆司, 柳瀬 敏彦 SGLT2 阻害薬イプラグリフロジンは乳癌細胞増殖を抑制する 日本糖尿病学会 第 55 回九州地方会 2017 年

高橋 貴理子, 沼田 朋大, 山浦 健, 井上 隆司 プロポフォールは敗血症時の血管炎症反応を抑制する 第 64 回日本麻酔科学会 2017 年

Kiriko Takahashi, Tomohiro Numata, Ken Yamaura, Ryuji Inoue Possible involvement of Ca²⁺ in anti-inflammatory effect of propofol Anesthesiology Annual Meeting (国際学会) 2017 年

Shiho Kako-Komatsu, Takashi Nomiyama, Tomohiro Numata, Takako Kawanami, Yuriko Hamaguchi, Kiriko Takahashi, Tomoko Tanaka, Ryuji Inoue, Toshihiko Yanase SGLT2 inhibitor ipragliflozin inhibits breast cancer via membrane hyperpolarization 77th Scientific Sessions | American Diabetes Association (国際学会) 2017 年

小松志保、野見山崇、沼田朋大、川波賢子、濱口百合子、田中智子、井上隆司、柳瀬敏彦 SGLT2 阻害薬イプラグリフロジンは乳癌細胞増殖を抑制する 第 90 回日本内分泌学会学術総会 2017 年

小松 志保, 野見山 崇, 沼田 朋大, 川波 賢子, 濱口 百合子, 高橋 貴理子, 井上 隆司, 柳瀬 敏彦 SGLT2 阻害薬イプラグリフロジンは乳癌細胞増殖を抑制する 第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会 2017 年

〔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：
出願年月日：

国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.fukuoka-u.ac.jp/physiol/index-j.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

沼田 朋大 (NUMATA, Tomohiro)

福岡大学・医学部生理学講座・講師

研究者番号：20455223

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()