

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：82675

研究種目：学術変革領域研究(B)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H05768

研究課題名(和文)冬眠温度受容の分子機構：温度感受性TRPチャネルの意義の解明

研究課題名(英文)Molecular mechanisms for thermosensation in hibernation: clarification of the significance of thermosensitive TRP channels

研究代表者

富永 真琴 (TOMINAGA, Makoto)

大学共同利用機関法人自然科学研究機構(新分野創成センター、アストロバイオロジーセンター、生命創成探究・生命創成探究センター・教授)

研究者番号：90260041

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 24,400,000円

研究成果の概要(和文)：種々の動物のTRPA1チャネルの温度応答を、パッチクランプ法を用いて解析した。ハムスターTRPA1、ラットTRPA1は少ない回数ではあるが冷刺激に応答したが、マウスTRPA1は冷刺激に応答しなかった。活性化温度閾値は約15度であった。ハムスター、マウス、ラット、シマリス、十三線ジリス、ヒトTRPA1はすべて熱刺激に応答した。ハムスターの熱応答が最も大きかった。活性化温度閾値は体温近傍であった。TRPA1の低温感受性に関しては議論があるが、稀にしか観察できないことが分かった。一方、種々のTRPA1が熱刺激感受性を有していることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

体温近傍の熱刺激による大きなTRPA1電流が観察されたことは、TRPA1が体温調節に関わっていることを示唆する。温度感受性TRPチャネルが脳で体温制御に関わっていることの初めての発見である。脳、特に視床下部でどのような入力情報から体温制御がなされているかは未だ明らかでなく、学術的意義は大きい。また、温度感受性TRPチャネル、特にTRPA1の機能制御によって体温制御が可能であることを意味し、体温制御の新しい方法としての社会的意義も大きい。このTRPA1を介した体温制御は、冬眠における積極的体温低下に関わる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We analyzed heat-evoked current responses of TRPA1 from various species (hamster, rat, mouse, human, squirrel) with a patch-clamp method. All the TRPA1s were activated by heat stimulus although only hamster and rat TRPA1s were occasionally activated by cold stimulus. Mouse TRPA1 was not cold sensitive. Hamster TRPA1 showed largest heat-evoked currents. Apparent temperature thresholds for heat-evoked activation of TRPA1s were in around our body temperature range. While an initial report showed rodent TRPA1 is activated by noxious cold stimulus, it is now clear that TRPA1s have an ability to detect heat stimulus. Heat sensitivity of TRPA1 might be involved in body temperature regulation especially in hibernating animals.

研究分野：分子細胞生理学

キーワード：冬眠 休眠 温度受容 温度感受性TRPチャネル 視床下部神経

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

哺乳類冬眠動物は低体温下でも産熱をせず、体温を低く保つことができる。哺乳類冬眠動物は環境温度や自身の体温をどのように感知しているのだろうか？低温を感知する能力が低下しているのか、あるいは、低温を感知しても熱産生につなげない機構が存在するものと推定される。一方、体温調節中枢である脳視床下部は電気信号に変換された温度情報を受け取るのに加えて、自身で周囲脳温を感知していると考えられている。哺乳類には6つのサブファミリー (TRPV, TRPM, TRPC, TRPML, TRPP, TRPA) に28のチャンネルがあり、そのうち11に温度感受性があるとされている。最初の温度感受性 TRPV1 は主に感覚神経で侵害性熱刺激の受容に関わっていると報告されている。マウスで侵害性熱刺激に関わっていると報告されているのは、TRPV1, TRPA1, TRPM3 である。体温近傍の温かい温度で活性化する TRPV4, TRPM2 は脳での発現が報告されており、夜間の体温低下時に TRPV4 の活性化が低下して、海馬神経細胞が過分極して神経の活動性が低下することが報告されている。また、TRPM2 は視床下部で脳温の上昇で活性化して体温低下を惹起すると報告されている。しかし、脳での温度感受性 TRP チャンネルの機能的発現解析は十分に行われていない。体温制御に関わっている可能性があるものの、十分なデータは示されていない。一方、鎮痛剤開発を目指して開発された TRPV1 阻害剤の投与によって39度を越える体温上昇が起こることは分かり、TRPV1 阻害剤の臨床応用はストップしている。また、吸入麻酔薬によって起こる悪性高熱には、リアノジン受容体の変異が関わることが明らかになっているが、TRPV1 の変異も悪性高熱を引き起こすことが最近報告されている。これらの事実は、TRPV1 機能と体温制御の関連性を示唆する。

2. 研究の目的

温度感受性 TRP チャンネルが体温制御に関わっていることを検討することを目的とする。具体的には、ハムスター、マウス、ラット、シマリス、十三線ジリス、ヒトの TRPA1 遺伝子を視床下部もしくは感覚神経から遺伝子クローニングして、その温度感受性を検討する。2003年に齧歯類 TRPA1 が侵害性冷刺激によって活性化すると報告されてから、TRPA1 の温度感受性については様々な報告があり、TRPA1 欠損マウスの解析結果でも、TRPA1 の冷刺激感受性には全く異なる報告がある。そこで、TRPA1 の温度感受性を様々な動物種で検討して明らかにするとともに、体温制御への関与を明らかにする。さらに、TRPV1 の温度感受性についての解析も行う。

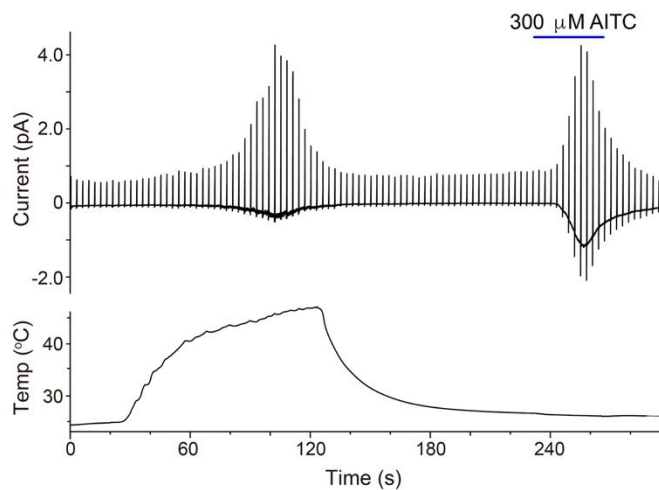
3. 研究の方法

ハムスター、マウス、ラット、シマリス、十三線ジリス、ヒトの TRPA1 遺伝子の贈与をうけるか、あるいは脳または感覚神経からクローニングする。十三線ジリスの TRPA1 遺伝子はクローニングが難しく、遺伝子合成を行う。ハムスター TRPV1 遺伝子も脳組織からクローニングする。それら TRP チャンネルを HEK293T 細胞に強制発現させて、パッチクランプ法を用いて全細胞記録法で温度 (熱刺激か冷刺激) 刺激と化学物質刺激 (AITC、カプサイシン) による活性化電流を記録する。温度刺激による電流が観察された場合には、Arrhenius plot を作成して活性化温度閾値を決定する。

4. 研究成果

ハムスター TRPA1、ラット TRPA1 は少ない回数ではあるが冷刺激に応答したが、マウス TRPA1 は冷刺激に応答しなかった (ハムスター: 236.0 ± 54.0 pA/pF at +100 mV、ラット: 222.4 ± 54.7 pA/pF at +100 mV)。活性化温度閾値は、いずれも約15度であった。ハムスター、マウス、ラット、シマリス、十三線ジリス、ヒト TRPA1 はすべて熱刺激に応答した (ハムスター: 503.7 ± 107.6 pA/pF at +100 mV、マウス: 254.6 ± 64.2 pA/pF at +100 mV、ラット: 288.4 ± 51.0 pA/pF at +100 mV、シマリス: 121.0 ± 12.0 pA/pF at +100 mV、十三線ジリス: 122.5 ± 16.9 pA/pF at +100 mV、

ヒト： 171.2 ± 18.7 pA/pF at +100 mV）。ハムスターの熱応答が最も大きかった。活性化温度閾値は、ハムスター： 37.3 ± 1.0 度、マウス： 35.5 ± 1.2 度、ラット： 38.3 ± 0.9 度で、ほぼ体温近傍であった。ハムスター視床下部から遺伝子クローニングされた TRPV1 も熱刺激で活性化することが分かった。活性化温度閾値は、 37.0 ± 1.6 度であった。TRPA1 の低温感受性に関しては議論があるが、稀にしか観察できないことが分かった。一方、種々の TRPA1 が熱刺激感受性を有していることが明らかになった。冬眠動物の温度感受性 TRP チャンネル、特に TRPA1 は体温近傍の温度で活性化して冬眠に関わる可能性が示唆された。冬眠動物であるハムスターでは大きな熱応答性電流が観察されたが、同じ冬眠動物のシマリス、十三線ジリスの TRPA1 の熱活性化電流は小さく、この TRPA1 の熱応答性が冬眠の体温調節に関わっているかどうかは不明である。また、冬眠動物である十三線ジリスの TRPV1 は熱感受性が低下していて、それが中途覚醒での急激な体温上昇が侵害刺激とならないメカニズムであると報告されたが、ハムスター TRPV1 は体温近傍の温度で活性化した。この違いが本当かを、シマリス TRPV1、十三線ジリス TRPV1 遺伝子をクローニングして検証しなければならない。多くの哺乳動物の TRPA1 が体温近傍の温度で活性化することが明らかになり、TRPA1 が体温調節に関与しているかもしれないことが明らかになったので、どのように関与しているのかを明らかにするのが次のステップだと考えられる。



ハムスター TRPA1 の熱刺激と AITC 刺激による活性化電流

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 (Otsuka) Saito Kaori, Fujita Fumitaka, Toriyama Manami, Utami Ratna Annisa, Guo Zhihan, Murakami Masato, Kato Hiroko, Suzuki Yoshiro, Okada Fumihiro, Tominaga Makoto, Ishii Ken J.	4. 巻 654
2. 論文標題 Roles of TRPM4 in immune responses in keratinocytes and identification of a novel TRPM4-activating agent	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 1～9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2023.02.062	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 Kashio Makiko, Tominaga Makoto	4. 巻 75
2. 論文標題 TRP channels in thermosensation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Current Opinion in Neurobiology	6. 最初と最後の頁 102591～102591
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.conb.2022.102591	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 2件／うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Makoto Tominaga
2. 発表標題 Structure and Function of Thermosensitive TRP Channels
3. 学会等名 Ion Channel Modulation Symposium 2022（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 富永 真琴
2. 発表標題 Structure and Function of Thermosensitive TRP Channels
3. 学会等名 2nd TRP Conference in Wakayama（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 加塩 麻紀子
2. 発表標題 熱帯および温帯を生息域とする蚊におけるTRPA1活性化温度閾値の違いを決定づけるアミノ酸の同定
3. 学会等名 第44回日本疼痛学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 富永 真琴
2. 発表標題 Interaction of TRPV3 with ANO1 or TMEM79
3. 学会等名 第19回国際シンポジウム味覚嗅覚の分子機構 (ISMNTOP2022/2023) (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

生命創成探究センター・温度生物学研究グループ (生理学研究所・細胞生理部門) Website http://www.nips.ac.jp/cs/

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