

令和元年5月30日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20233

研究課題名(和文) 鼻過敏症の病態生理におけるTRPチャンネルの役割

研究課題名(英文) The role of TRP channels in pathophysiology of nasal hyperreactivity

研究代表者

清水 裕也 (Shimizu, Yuya)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00770190

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：TRPM8は低温刺激で作動する冷覚受容チャンネルであり、本研究では各種モデルマウスの鼻組織におけるTRPM8の発現解析、機能解析を行った。アレルギー性鼻炎モデルマウス、加齢モデルマウスの三叉神経節ではTRPM8の発現が増加していることを確認した。また、両モデルマウスにTRPM8の作動物質であるメントールを点鼻すると、正常マウスよりもくしゃみの回数が増加することを確認した。鼻過敏症発症のメカニズムにTRPM8が関与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アレルギー性鼻炎患者や高齢者では寒冷刺激が誘因となりくしゃみや鼻汁などの症状を呈することがあるが、その発症機序は未解明な点が多く治療に難渋することも少なくない。本研究ではTRPM8という低温を感知するチャンネルの発現がアレルギー性鼻炎モデルマウス、加齢モデルマウスの鼻組織で増加することを確認した。また双方のモデルマウスはTRPM8の作動物質であるメントールの点鼻に対して過剰に反応し、くしゃみの回数が増加することを確認した。鼻過敏症におけるTRPM8の役割がさらに明らかとなれば難治性鼻炎に対する新たな治療の創出につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：TRPM8 is a cold sensing channel activated by cold stimulation and expressed in a subset of sensory neurons. The aim of this study was to clarify the mechanism of nasal hyperreactivity through the expression analysis and functional analysis of TRPM8 in nasal cavity. Using immunohistochemistry and real-time PCR, we found that the expression of TRPM8 increased in the trigeminal ganglia of allergic rhinitis model mice and aging model mice. In addition, behavior test revealed that both model mice sneezed more than normal mice after nasal administration of TRPM8 agonist menthol. It is suggested that TRPM8 may play an important role in pathogenesis of nasal hyperreactivity.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：鼻過敏症 TRPM8 アレルギー性鼻炎 血管運動性鼻炎

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

鼻過敏症は外界からの刺激に対して過剰な神経応答が生じ、病的な鼻閉、鼻汁過多、くしゃみ発作が出現する状態である。I型アレルギーの有無によりアレルギー性鼻炎と非アレルギー性鼻炎に大別され、後者の代表疾患である血管運動性鼻炎は高齢者に多く、既存の薬物治療に抵抗性であることが臨床上の課題となっている。鼻過敏症の病態生理のうち、アレルゲンの認識や肥満細胞からのヒスタミンの遊離機構、局所の炎症性サイトカインの産生などの免疫・生化学的な知見は研究が多いが、知覚神経の刺激受容に関する研究は比較的少なく、未解明な点が多く残されている。近年の研究により TRP (Transient Receptor Potential) チャンネルという刺激センサーとしての役割を持つイオンチャンネルが生体に発現することが明らかになってきた。TRP チャンネルにはいくつかのサブタイプが存在し、それぞれが温度や浸透圧、pH、機械刺激などによって作動する。鼻粘膜には TRPV1 や TRPM8、TRPA1 など温度受容性チャンネルが発現することが報告されているが鼻腔における役割や鼻疾患への関与などについては未解明な点が多い。

2. 研究の目的

鼻粘膜における各種 TRP チャンネルの分布と機能解析、および鼻過敏症の病態における TRP チャンネルの役割の解析を通して、鼻炎の病態生理のうち特に神経反射が関与する過程の分子メカニズムの解明を進めるとともに、これら分子メカニズムを人為的に制御することによる将来的な薬物治療の開発の可能性を探ることを目的とする。

3. 研究の方法

1) 鼻炎モデルマウスにおける TRP チャンネルの発現解析・機能解析

卵白アルブミン感作アレルギー性鼻炎モデルマウスとコントロールマウスの頭部組織の薄切切片を作成し、鼻粘膜及び鼻腔の一次感覚ニューロンの神経細胞体が存在する三叉神経節における TRP チャンネルの発現を免疫染色により評価する。同様にそれぞれのマウスより鼻粘膜、三叉神経節を摘出し、各組織における TRP チャンネルの発現を PCR により評価する。また、それぞれのマウスに対して TRP チャンネルのアゴニスト (= 作動物質) を点鼻した際のくしゃみ回数を測定する。

2) 加齢マウスにおける TRP チャンネルの発現解析・機能解析

年齢変化が TRP チャンネルの発現におよぼす影響について調べるために加齢マウスを用いた検討を行う。15ヶ月齢の加齢マウスと2ヶ月齢の若齢マウスの鼻粘膜、三叉神経節における TRP チャンネルの発現解析を免疫染色、定量 PCR により行う。また、それぞれのマウスに対して TRP チャンネルのアゴニストを点鼻した際のくしゃみ回数を測定する。

4. 研究成果

1) 鼻炎モデルマウスにおける TRP チャンネルの発現解析

アレルギー性鼻炎モデルマウス群では鼻粘膜中の好酸球集簇とアレルゲンチャレンジによるくしゃみ回数の増加を認め、鼻腔での感作が成立していることが確認された。このモデルマウスとコントロールマウスの三叉神経節を免疫染色で評価すると、冷覚受容チャンネル TRPM8 の陽性細胞数がアレルギー性鼻炎モデル群で有意に増加していることが確認された。一方、温覚受容チャンネルである TRPV1 の陽性細胞数は両群で有意差を認めなかった(図 1-A)。また、RT-PCR ではアレルギー性鼻炎モデル群の鼻粘膜、三叉神経節で TRPM8 の mRNA が有意に増加していることを確認した。一方、TRPV1 では両群間に有意差を認めなかった(図 1-B)。

コントロール

アレルギー性鼻炎モデル

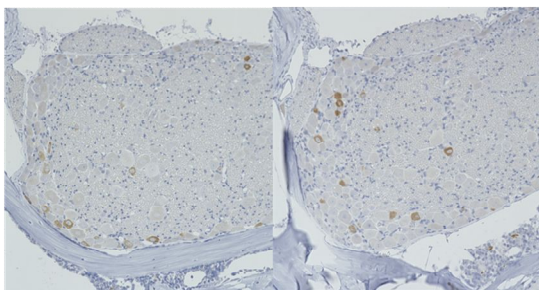
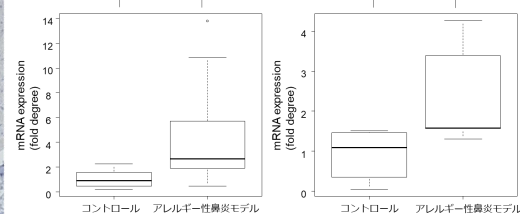


図 1-A : アレルギー性鼻炎モデル群の三叉神経節で TRPM8 陽性細胞 (茶色) の増加を認めた。

鼻粘膜

三叉神経節



P<0.01 *P<0.001 (Mann-Whitney U test)

図 1-B : アレルギー性鼻炎モデル群の鼻粘膜、三叉神経節で TRPM8 の mRNA 量の増加を認めた。

2) 加齢マウスにおける TRP チャンネルの発現解析

上記と同様の手順で加齢マウスと若齢マウスにおける TRP チャンネルの発現解析を行った。免疫染色を用いた三叉神経節の評価では加齢マウスにおいて TRPM8 陽性細胞の増加を認めただけで TRPV1 陽性細胞数には有意差を認めなかった(図 2-A)。RT-PCR では加齢マウスの三叉神経節で TRPM8mRNA の増加を認めたが鼻粘膜ではむしろ減少するという結果となった。TRPV1 の mRNA は両群間に有意差を認めなかった(図 2-B)。

若齢マウス

加齢マウス

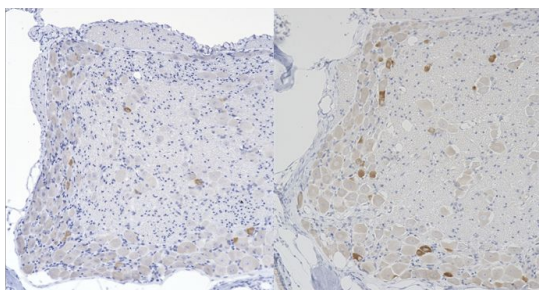
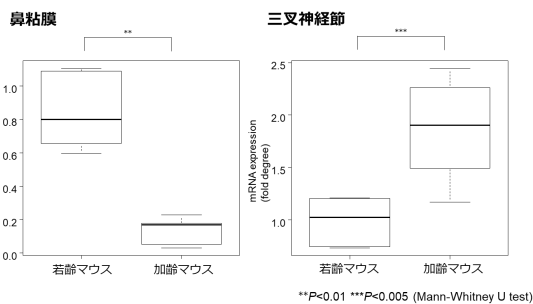


図 2-A : 加齢マウス群の三叉神経節で TRPM8 陽性細胞 (茶色) の増加を認めた。



P<0.01 *P<0.005 (Mann-Whitney U test)

図 2-B : 加齢マウス群の鼻粘膜では TRPM8mRNA の減少、三叉神経節では増加を認めた。

3) TRP チャンネルの機能解析

発現解析の結果、冷覚受容チャンネルである TRPM8 の発現動態に変化を認めただけで機能解析は TRPM8 のアゴニストであるメントールを用いて行った。() 若齢コントロールマウス、() 若齢アレルギー性鼻炎モデルマウス、() 加齢マウス、() 加齢アレルギー性鼻炎モデルマウスの計 4 群のマウスに対しメントールを点鼻した際のくしゃみ回数を計測したところアレルギー性鼻炎モデルマウス、加齢マウスではくしゃみの回数が増加することが確認された。(図 3)。

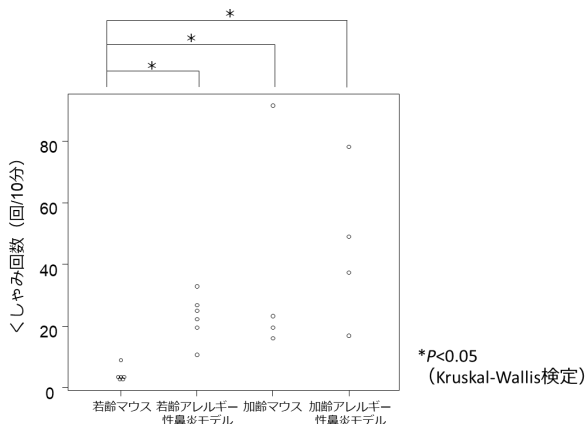


図 3 : メントール点鼻に対する反応

若齢アレルギー性鼻炎モデルマウス、加齢マウス、加齢アレルギー性鼻炎モデルマウスのいずれもコントロールの若齢マウスと比較してくしゃみの回数が増加することが確認された。

アレルギー性鼻炎モデルマウスや加齢マウスの三叉神経節では冷覚受容チャンネル TRPM8 の発現が増加しており、またアゴニストであるメントールの点鼻刺激に対する過敏性も亢進していた。アレルギー性鼻炎患者や高齢者が冷気に過敏に反応し、くしゃみ、鼻汁などの症状を生じる背景に TRPM8 が関与する可能性が示唆された。しかし PCR では加齢マウスの鼻粘膜ではむしろ TRPM8 の mRNA が減少するという結果であり、鼻腔が冷気を感知する部位としてより前方の鼻前庭組織についての解析も必要と考えられた。また、今回はメントールを用いたがより臨床に即した研究とするためには冷気を吸入させた際の各モデル動物の反応や組織学的な変化についても解析が必要と考えられた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

清水裕也「アレルギー感作モデルマウスにおける TRPV1 及び TRPM8 の発現の変化」
第 119 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 2018 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：
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：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

なし

6．研究組織

(1) 研究分担者

なし

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

なし

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。