

3-2 細胞生理

富永 真琴（教授）

1) 専門領域：分子細胞生理学、細胞生物学、神経科学

2) 研究課題：

a) カプサイシン受容体 TRPV1 の機能制御機構に関する研究

b) 温度感受性 TRP チャンネルに関する研究

c) 細胞運動・接着の分子機構に関する研究

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) カプサイシン受容体 TRPV1 は、感覚神経特異的に発現する非選択性陽イオンチャンネルで、カプサイシン、プロトン、熱（43 度以上）という複数の侵害刺激によって活性化される。炎症時には、多くの炎症関連メディエーターが放出されて、炎症性疼痛の発生に関わっていると考えられている。proteinase activated receptor2 (PAR2) は炎症に関与することが知られているが、PAR1, PAR3 ではなく PAR2 が感覚神経細胞において TRPV1 と共発現することが明らかとなった。PAR2 と TRPV1 を異所性に共発現させた細胞で、PAR2 刺激薬によって TRPV1 のカプサイシン活性化電流、プロトン活性化電流が増大すること、また、TRPV1 の熱による活性化温度閾値が有意に低下することを見出した。この TRPV1 の活性増大は、PAR 活性化から PKC による TRPV1 のリン酸化を介して起こっていることが判明した。マウス感覚神経細胞においても PAR2 の内因性刺激物質である trypsin や tryptase によってカプサイシン活性化電流が増大することが明らかとなった。さらに、マウスにおいて PAR2 刺激薬による熱性痛覚過、機械刺激性アロディニアが TRPV1 欠損マウスで有意に減弱していることから、個体レベルにおける両受容体の機能連関も確認された。

中心的な炎症関連メディエーターとして炎症や疼痛の発生に深く関わっているプロスタグランジン E_2 (PGE_2) 及び I_2 (PGI_2) とカプサイシン受容体 TRPV1 の機能連関も検討した。感覚神経細胞と異所性発現系において、 PGE_2 は EP_1 受容体活性化から PKC によって TRPV1 活性を増大させることが明らかとなった。この活性増大は EP_1 欠損マウスではみられなかった。野生型マウスにおいてみられる PGE_2 やマスタードオイルによる熱性痛覚過敏が TRPV1 欠損マウスや EP_1 欠損マウスで有意に減弱していたことから、両蛋白質の機能連関が広く炎症性疼痛発現に関与するものと推定された。 PGI_2 も PGE_2 とともに炎症時に放出されるが、IP 受容体活性化から同様に PKC によるリン酸化によって TRPV1 活性増大を引き起こすことが異所性発現系、マウス感覚神経細胞を用いて明らかになった。また、野生型マウスと IP 欠損マウスの行動解析の比較からも TRPV1 と PGI_2 の機能連関が

明らかになった。こうした分子や経路に作用する物質の探索が新たな鎮痛薬開発につながるものと期待される。

b) TRPV1 は初めて分子実体の明らかになった温度受容体であるが、哺乳類では6つの温度感受性 TRP チャンネル (TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPM8, TRPA1) が知られており、それぞれ特異的な活性化温度閾値がある。TRPV4 は 2000 年に低浸透圧によって活性化するチャンネルとして報告されたが、私達は 35 度以上の温度によっても活性化することを明らかにした。TRPV4 は感覚神経に発現は少なく、表皮ケラチノサイトと視床下部視索前野に発現がみられる。温度は神経で知覚されるが、表皮は外界の温度に最も暴露される部位であり、表皮において受容された温度刺激がどのようにして感覚神経に伝達されるのかを解析している。また、視床下部は体液浸透圧、体温の調節中枢であり、この機能に TRPV4 が関与するのかどうかを TRPV4 欠損マウスを用いて検討している。TRPV4 の機能制御機構の解明に向けて、TRPV4 との結合蛋白質を探索しており、興味深い結果を得ている。さらに、新たな温度感受性 TRP チャンネルの探索も進めている。

c) Rho の標的蛋白質である mDia および mDia を介する新たな情報伝達経路の解析によって、細胞運動の時・空間的制御機構を解明することを目指し、神経の成長円錐の形態維持・軸索伸長過程の検討を行った。また、新たに見いだした mDia 関連蛋白質 Pax6, DIP と mDia の中枢神経系での発現パターンを検討した。

1) mDia 結合蛋白質 DIP を介した低分子量 G 蛋白質間の協調作用 新規 mDia 結合蛋白質 DIP を見いだしていたが、非神経細胞を用いた解析から、DIP が Growth Factor 刺激により Src 依存的にチロシンリン酸化されること、同時に p190RhoGAP、Vav2 がリン酸化されることを見いだした。すなわち DIP の Src による活性化に伴い、Rho の不活化、Rac の活性化が起こることを確認した。また、この情報伝達にともない DIP が細胞運動を調節することを示した。以前の報告と併せ Rho-mDia-Src-DIP を介した Rho への negative feedback と Rac の活性化という低分子量 G 蛋白質間の協調作用の存在、およびその機構の細胞運動への関与を示した。

2) mDia の軸索伸展作用における DIP の役割 一昨年度に報告した mDia による軸索伸展作用への DIP の情報伝達経路の関与を検討した。PC12 細胞の NGF 刺激により、DIP と同時に p190RhoGAP もリン酸化されることを確認した。さらに、PC12 細胞において Ras 依存的な軸索伸展効果が DIP の wild type で促進されること、mDia による軸索伸展促進作用が DIP の dominant negative 体で抑制されることを確認した。

3) mDia, DIP の中枢神経系における発現 mDia, DIP の中枢神経系での部位特異的な発現を発生初期から検討し、両者が小脳、海馬等において発現し、両者が共局在することを in situ hybridization, 免疫組織学的に確認した。

4) 学術論文

W. Meng, M. Numazaki, K. Takeuchi, Y. Uchibori, Y. Ando-Akatsuka, M. Tominaga and T. Tominaga, “DIP (mDia interacting protein) is a key molecule regulating Rho and Rac in a Src-dependent manner” *EMBO J.* **23**, 761-771 (2004).

S. Mandadi, M. Numazaki, M. Tominaga, M. B. Bhat, P. J. Armati and B. D. Roufogalis, “Activation of protein kinase C reverses capsaicin-induced calcium dependent desensitization of TRPV1 ion channels” *Cell Calcium* **35**, 471-478 (2004).

Y. Dai, T. Moriyama, T. Higashi, K. Togashi, K. Kobayashi, H. Yamanaka, M. Tominaga and K. Noguchi, “PAR2-mediated potentiation of TRPV1 activity reveals a mechanism for proteinase-induced inflammatory pain” *J. Neurosci.* **24**, 4293-4299 (2004).

T. Moriyama, T. Higashi, K. Togashi, T. Iida, E. Segi, Y. Sugimoto, T. Tominaga, S. Narumiya and M. Tominaga, “Sensitization of TRPV1 by EP1 and IP reveals peripheral nociceptive mechanism of prostaglandins” *Molecular Pain* **1**, 3 (2005).

5) 著書、総説

著書

M. Tominaga, M. Numazaki, T. Iida, T. Moriyama, K. Togashi, T. Higashi, N. Murayama and T. Tominaga, “Regulation Mechanisms of Vanilloid Receptors. In “Pathological Pain: from molecular to clinical aspects” edited by Chadwick DJ and Goode J, John Wiley & Sons, p. 4-12 (2004).

M. Tominaga, M. Numazaki, T. Iida, T. Moriyama, T. Sugiura, K. Togashi, T. Higashi, N. Murayama, T. Tominaga and K. Mizumura, “Molecular Mechanisms of TRPV1-Mediated Thermal Hypersensitivity” In “Hyperalgesia: Molecular Mechanisms and Clinical Implications” edited by Kay Brune and Hermann Handwerker, IASP Press, Seattle, p. 37-47 (2004).

M. Tominaga and T. Moriyama, “Functional interaction between ATP and TRPV1 receptors” In “Molecular Sensors of Cardiovascular Homeostasis” In edited by Wang D, Bertelsmann Springer, (2005 in press)

M. Tominaga, “Structural determinants of TRPV1 channel functionality” In “Turning up the Heat on Pain: Vanilloid Receptors in Pain and Inflammation” edited by Blumberg A, Birkhauser Verlag, (2005 in press)

M. Tominaga, “Desensitization or Gating of TRPV1” In “The Nociceptive Membrane” Edited by Oh U, Elsevier, (2005 in press)

総説

M. Tominaga and M. J. Caterina, “Thermosensation and pain” *J. Neurobiol.* **61**, 3-12

(2004).

M. Numazaki and M. Tominaga, “Nociception and TRP channels” *Current Drug Target CNS & Neurological Disorders* **3**, 479–485 (2004).

M. Tominaga, “Molecular mechanisms of trigeminal nociception and sensation of pungency” *Chemical Senses* **30**, 1191–1192 (2005).

森山朋子, 富永真琴, カプサイシン受容体と TRP チャネル *Molecular Medicine* **41**, 642–649 (2004).

富永真琴, カプサイシン受容体ファミリー (TRPV ファミリー) *皮膚アレルギーフロンティア* **2**, 48–49 (2004).

富永真琴, 温度受容の分子機構?TRP チャネル温度センサー- *日本薬理学雑誌* **124**, 219–227 (2004).

富永知子, Rho- mDia- Src 系 *生体の科学* **55**, 430–431 (2004).

富永真琴, TRP チャネルと痛み *ペインクリニック* **26**, 201–208 (2005).

富永真琴, 痛みの受容メカニズム *ファルマシア* **41**, 209–213 (2005).

富永知子, 細胞骨格制御における mDia の役割 *生化学* **77**, 133–136 (2005).

6) 国際会議発表リスト

M. Tominaga, “Capsaicin receptor regulation by P2Y receptor” 4th International Symposium of Nucleosides and Nucleotides, Chapel Hill (USA), June 2004.

M. Tominaga, “Molecular mechanisms of trigeminal nociception and sensation of pungency” The 14th International Symposium on Olfaction and Taste, Kyoto (Japan), July, 2004.

M. Tominaga, “Thermosensation and pain” The 2nd Asian Pain Symposium, Seoul (Korea), November 2004.

M. Tominaga, “TRP channel and nociception” International Workshop on the Neural Mechanism of Musculoskeletal Pain, Nagoya (Japan), December 2004.

7) 招待講演

富永真琴「Gq 共役型受容体によるカプサイシン受容体 TRPV1 の活性制御機構」、第 1 回 GPCR 研究会、東京、2004 年 5 月。

富永真琴「プロスタグランジンとカプサイシン受容体 TRPV1 の機能連関」、第 8 1 回日本生理学会大会シンポジウム、札幌、2004 年 6 月。

M. Tominaga, “Capsaicin receptor regulation by P2Y receptor” The 4th International Symposium of Nucleosides and Nucleotides, Chapel Hill (USA), June 2004.

M. Tominaga, “Molecular mechanisms of trigeminal nociception and sensation of

pungency” The 14th International Symposium on Olfaction and Taste, Kyoto (Japan), July, 2004.

M. Tominaga, “Capsaicin receptor regulation by prostaglandins” 第26回日本疼痛学会シンポジウム、東京、2004年7月.

M. Tominaga, “Molecular mechanisms of detecting physical stimuli: Focusing on thermosensation” 第14回国際痒みシンポジウム、東京、2004年9月.

富永真琴「侵害刺激受容の分子機構」、第19回日本整形外科学会基礎学術集会教育研修講演、東京、2004年10月

M. Tominaga, “Thermosensation and pain” The 2nd Asian Pain Symposium, Seoul (Korea), November 2004.

M. Tominaga, “TRP channel and nociception” International Workshop on the Neural Mechanism of Musculoskeletal Pain, Nagoya (Japan), December 2004.

富永真琴「温度受容の分子機構」、立命館大学工学研究所 COE プロジェクト研究シンポジウム、草津、2005年3月.

8) 学会および社会的活動

日本疼痛学会理事

日本生物物理学会誌編集委員

9) 他大学での非常勤講師、客員教授

東京医科歯科大学非常勤講師

筑波大学非常勤講師

三重大学医学部非常勤講師

名古屋大学環境医学研究所非常勤講師