

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) 温度感受性 TRP チャンネルに関する研究
- b) 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) 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9つの温度感受性 TRP チャンネル (TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPM2, TRPM4, TRPM5, 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。①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た。マウスのケラチノサイトと感覚神経細胞の共培養系，ケラチノサイトと種々のイオンチャンネル型 ATP 受容体 (P2X) を発現させた HEK293 細胞との共培養系を用いて，温度刺激によって温度感受性 TRP チャンネル TRPV3, TRPV4 が活性化して ATP が放出されることを明らかにした。この解析にはケラチノサイトで発現することが知られている TRPV3 と TRPV4 の欠損マウスも用いた。②ケラチノサイトでの TRPV4 の温度受容機構を解析する目的でケラチノサイト cDNA ライブラリーから TRPV4 と結合する蛋白質を探索し，興味深い蛋白質を2つ得た。そのうちの1つの蛋白質と TRPV4 の共発現によって TRPV4 チャンネル活性が大きく変化することを見いだした。また，もう1つの蛋白質は細胞骨格関連蛋白質であった。③新たな温度感受性 TRP チャンネルの探索も進め，TRPM2 が新たな温度受容体として機能することを発見した。cyclic ADP-ribose が TRPM2 の新しいリガンドとして機能することが判明し，TRPM2 が膵島β細胞においてグルコース依存性のインスリン分泌に強く関わっていることを発見した。④TRPM2 の活性化物質，阻害物質のスクリーニングを進め，TRPM2 のチャンネル活性を強く阻害する物質を発見した。この TRPM2 阻害物質は膵島β細胞からのインスリン放出も強く抑制した。⑤TRPV4 が海馬神経細胞に強く発現し，体温で活性化してカチオン流入をもたらし，神経細胞の静止膜電位を脱分極させていることが明らかとなった。TRPV4 は体温における恒常的な開口から海馬神経細胞の興奮性を制御しているものと推定された⑥侵害刺激受容体 TRPA1 の活性化物質をスクリーニングして TRPA1 活性化能をもついくつかの物質を発見した。⑦味蕾細胞での TRP チャンネル mRNA の発現をスクリーニングして，PKD1L3 と PKD2L1 が共発現して酸味受容に関わっていることを明らかにした。
- b) ①神経細胞および軸索伸展における mDia-DIP の役割 以前に小脳顆粒細胞の初代培養系を用い，mDia が Rho, Rho キナーゼ (ROCK) とは相反し，成長円錐の軸索伸展を促進することを報告している。そこで，上皮細胞と同様のシグナルを介し DIP が mDia の軸索伸展効果に関与しているかを，神経の培養細胞において確認した。*in situ* hybridization 法，immunoblotting 法，免疫組織染色法により，mDia, DIP の小脳顆粒細胞や海馬における発現を確認した。現在，マウス海馬細胞の初代培養系を用い DIP の局在を確認するとともに，この系を用いて軸索伸展効果への DIP の役割を解析している。②DIP knock out mouse の作製と解析 Cre-

loxP 法を用い, DIP の knock out (KO) mouse を作成した。この KO マウスと野生型マウスから線維芽細胞を初代培養し, これを用いて細胞の運動能を time-lapse 法, transwell を用いた migration assay, wound healing assay で比較検討している。また, DIP は血球細胞やリンパ球系の細胞にも多く発現しており, マクロファージの貪食能を中心に DIP の機能を解析している。さらに, DIP はアクチン重合に関わることが知られており, 神経突起の伸展やシナプス形成に対する DIP の役割の解析も進めている。

4) 学術論文

K. Togashi, Y. Hara, T. Tominaga, T. Higashi, Y. Konishi, Y. Mori and M. Tominaga, “TRPM2 activation by cyclic ADP-ribose at body temperature is involved in insulin secretion” *EMBO J.*, **25**, 1804-1815 (2006).

S. Mandadi, T. Tominaga, M. Numazaki, N. Murayama, N. Saito, P.J. Armati, B.D. Roufogalis and M. Tominaga, “Increased sensitivity of desensitized TRPV1 by PMA occurs through PKC ϵ -mediated phosphorylation at S800” *Pain*, **123**, 106-116 (2006).

Y. Ishimaru, Y. H. Inada, M. Kubota, H. Zhuang, M. Tominaga and H. Matsunami, “TRP family members, PKD1L3 and PKD2L1, form a candidate sour taste receptor” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 12569-12574 (2006).

H. Inada, T. Iida and M. Tominaga, “Different expression patterns of TRP genes in murine B and T lymphocytes” *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **350**, 762-767 (2006).

T. Yoshida, R. Inoue, T. Morii, N. Takahashi, S. Yamamoto, Y. Hara, M. Tominaga, S. Shimizu, Y. Sato and Y. Mori, Nitric Oxide activates TRP channels by cysteine S-nitrosylation. *Nature Chem. Biol.* **2**, 596-607 (2006).

A. Morita, Y. Iwasaki, K. Kobata, T. Iida, T. Higashi, K. Oda, A. Suzuki, M. Narukawa, S. Sasakuma, H. Yokogoshi, S. Yazawa, M. Tominaga and T. Watanabe, Lipophilicity of capsaicinoids and capsinoids influences the multiple activation process of rat TRPV1. *Life Sci.*, **79**, 2303-2310 (2006).

M. Denda, T. Sokabe, T. Fukumi-Tominaga and M. Tominaga, “Effects of skin surface temperature on epidermal permeability barrier homeostasis” *J. Invest. Dermatol.*, **127**, 654-659 (2007).

K. Shibasaki, M. Suzuki, A. Mizuno and M. Tominaga, “Effects of body temperature on neural activity in the hippocampus: regulation of resting membrane potentials by TRPV4” *J. Neurosci.*, **27**, 1566-1575 (2007).

5) 著書, 総説

著書

M. Tominaga, “Gating, Sensitization and Desensitization of TRPV1” In “The Nociceptive Membrane” Edited by U. Oh, Elsevier Inc., San Diego, p. 181-197 (2006).

M. Tominaga, “The Role of TRP Channels in Thermosensation” In “TRP Ion Channel Function in Sensory Transduction and Cellular Signaling Cascades” Edited by Liedtke WB and Heller S, CRC press, Boca Raton, p. 271-286 (2006).

M. Tominaga, “Nociception and TRP Channels” In “Handbook of Experimental Pharmacology Vol. 179” Edited by Veit Flockerzi, Springer, Heidelberg, p. 489-505 (2007).

富永真琴, 培養細胞での cDNA 導入によるチャネル・受容体機能の検討法 痛み研究のアプローチ 河谷正仁 (編) 真興交易(株) p.97-102 (2006).

富永真琴, TRP チャネル 痛み研究のアプローチ 河谷正仁 (編) 真興交易(株) p.146-152 (2006).

総説

富永真琴, TRP チャンネルと痛み 日本薬理学雑誌くすりとかからだ 127, 128-132 (2006).

富永真琴, 消化管における TRPV1 の発現と機能 日本薬理学雑誌くすりとかからだ 128, 78-81 (2006).

富永真琴, 痛みと温度受容の分子・細胞メカニズム 実験医学 24, 54-59 (2006).

富永真琴, 温度を感じるしくみ 総研大ジャーナル 10月号, 40-45 (2006).

富永真琴, 痒みに関わる分子に迫る 科学 (岩波書店) 12, 1234-1235 (2006).

6) 国際会議発表リスト

M. Tominaga, "TRPM2 activation by cyclic ADP-ribose at body temperature is involved in insulin secretion" The Ninerva Gentner Symposia on TRP channels and Ca²⁺ signaling, Eilat (Israel), February 2006.

M. Tominaga, K. Togashi, Y. Hara, T. Higashi, Y. Mori and T. Tominaga, "TRPM2 activation by cyclic ADP-ribose at body temperature is involved in insulin secretion" 20th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, Kyoto, June 2006.

T. Tominaga, T. Sokabe, E. Shimanuki and M. Tominaga, "TRPV4 channel is important for epidermal barrier function *in vivo*" 20th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology., Kyoto, June 2006.

M. Tominaga, "Sensitization of TRPV1 through G-protein-coupled metabotropic receptors" 15th World Congress of Pharmacology, Beijing (China), July 2006.

M. Tominaga, "Ca²⁺ influx through TRPM2 activation by cyclic ADP-ribose at body temperature is involved in insulin secretion" 2006 FASEB Summer Research Conferences; Calcium and Cell Function, Snowmass (USA), July 2006.

7) 招待講演

M. Tominaga, "TRPM2 activation by cyclic ADP-ribose at body temperature is involved in insulin secretion" The Ninerva Gentner Symposia on TRP channels and Ca²⁺ signaling, Eilat (Israel), February 2006.

富永真琴「カプサイシン受容体 TRPV1 の構造・機能と消化管における痛覚過敏」, 第79回日本薬理学会年会シンポジウム, 横浜, 2006年3月.

富永真琴「温度感受性 TRP チャンネルの活性制御機構」, 第83回日本生理学会大会シンポジウム, 群馬, 2006年3月.

M. Tominaga, "Sensitization of TRPV1 through G-protein-coupled metabotropic receptors" 15th World Congress of Pharmacology, Beijing (China), July 2006.

M. Tominaga, "Ca²⁺ influx through TRPM2 activation by cyclic ADP-ribose at body temperature is involved in insulin secretion" 2006 FASEB Summer Research Conferences; Calcium and Cell Function, Snowmass (USA), July 2006.

富永真琴「温度受容の分子メカニズム」, 日本臨床体温研究会第21回学術集会特別講演, 札幌, 2006年8月.

富永真琴「温度感覚受容体」, 日本分子生物学会2006フォーラムシンポジウム, 名古屋, 2006年12月.

8) 学会および社会的活動

国際疼痛学会倫理委員会委員 (富永真琴)

9) 他大学での非常勤講師，客員教授

筑波大学非常勤講師（富永真琴）

名古屋大学環境医学研究所非常勤講師（富永真琴）

11) 外部獲得資金

科学研究費補助金 特定領域研究 統合脳（分子脳科学）「視床下部 TRP チャンネルの温度センシング機構」，富永真琴（代表）（2006年－2007年）.

科学研究費補助金 特定領域研究 細胞感覚「温度センサー TRP チャンネルの機能制御機構と生理学的意義の検討」，富永真琴（代表）（2006年－2010年）.

平成18年度葉山高等研究センター研究プロジェクト人間生命科学「生活習慣病の分子機構解明に挑む」，富永真琴（代表）（2006年）.

財団法人山田科学振興財団2006年度研究援助金「温度感受性チャンネル TRPM2 の生理機能」，富永真琴（代表）（2006年）.

財団法人病態代謝研究会平成18年度研究助成金「温度感受性 TRPM2 チャンネルによるインスリン分泌機構の解明」，富永真琴（代表）（2006年）.

財団法人上原記念生命科学財団平成18年度研究奨励金「温度センサー蛋白質による脳機能調節」，柴崎貢志（代表）（2006年）.

科学研究費補助金 若手研究(B)「皮膚バリア機能に果たす TRPV4 チャンネルの生理的役割の解明」，曾我部隆彰（代表）（2006年）.