

3. 生命環境研究領域

3-1 細胞生理

富永真琴（教授）

1) 専門領域：分子細胞生理学，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) 睡眠・覚醒に関する研究

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, 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。強い熱刺激と冷刺激は痛みを惹起することから，温度感受性 TRP チャンネルの一部は痛み受容体として捉えうる。①マウス胎生期での温度感受性 TRP チャンネル遺伝子の発現解析から，TRPV2 mRNA が TRPV1, TRPM8 よりかなり早く胎生期10日頃から脊髄前角運動神経と後根神経節細胞に発現していることが判明した。TRPV2 蛋白質の発現，機能的発現も確認し，TRPV2 が機械伸展刺激を感知して軸索伸展をもたらしていることを見いだした。②腸管神経叢の抑制性運動神経にも TRPV2 が発現していることを遺伝子および蛋白質レベルで確認し，nNOS との共発現を観察した。腸管抑制性運動神経の TRPV2 は機械刺激によって活性化した。TRPV2 刺激薬でマウス小腸の収縮力が NO 依存的に減弱し，TRPV2 刺激薬は腸管からの NO 放出を促進した。TRPV2 刺激薬によってマウス腸管内の物質移動は著しく促進された。食塊による腸管壁伸展を抑制性運動神経の TRPV2 が感知し，Ca²⁺流入から NO 産生をもたらして肛門側の腸管弛緩を導いているものと考えられた。③ TRPV4 の表皮ケラチノサイトでの機能を明らかに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，βカテニンが結合することを見いだした。TRPV4 欠損皮膚では細胞間接着構造が乱れ，タイトジャンクションの形態，機能異常から水分の漏出が起これ，皮膚のバリア機能が大きく減弱していることが明らかになった。皮膚温で TRPV4 が活性化して細胞内へ Ca²⁺を流入させ，細胞骨格編成からアドヘレンスジャンクション機能，タイトジャンクション機能を増強しているものと考えられた。④ TRPP チャンネルに属する PKD2L1 と PKD1L3 は複合体を形成して酸受容（オフ応答）に関わることが知られている。マウス舌有郭乳頭において，PKD2L1/PKD1L3 複合体がオフ応答を示す酸受容体として機能していることを細胞染色法，Caイメージング法，パッチクランプ法を用いて明らかにした。⑤ミツバチは特異な温度依存性社会行動をとることが知られている。ミツバチの TRP チャンネルを探索し，いくつかの TRP チャンネル遺伝子を得た。そのうち，ミツバチに特異的な TRPA チャンネルが34度を超える温度刺激や昆虫忌避剤あるいは防虫剤として知られる複数の化学物質によっても活性化することを見いだした。ミツバチを使った行動解析でも，熱刺激や活性化能が明らかになった化学物質刺激に対して，ミツバチが忌避行動をとることが判明した（名古屋大学門脇辰彦博士との共同研究）。

b) ① 睡眠覚醒調節に重要な視床下部のオレキシン神経細胞が、覚醒を維持するメカニズムを神経細胞レベルにおいて明らかにした。オレキシン神経特異的に緑色蛍光タンパク質 (EGFP) を発現する遺伝子改変マウスとオレキシン受容体欠損マウスを用い、オレキシン神経細胞がオレキシン2受容体を介してオレキシンによって活性化されることを見いだした。免疫電子顕微鏡を用いた解析によって、オレキシン神経細胞同士が直接シナプス様構造によって連絡していることを明らかにしたことより、オレキシン神経間のポジティブフィードバックによるオレキシン神経活動の持続が覚醒の維持に重要な役割を担っていることを明らかにした。② 睡眠覚醒調節に重要な視床下部のオレキシンペプチド産生神経に光活性化蛋白質 (チャネルロドプシン, ハロロドプシン, メラノプシン) を発現する遺伝子改変マウスを作成した。それらのマウス視床下部に光ファイバーを用いて様々な波長の光を照射し、オレキシン神経を脱分極あるいは過分極させることに成功した。神経活動を光で制御することによって、マウスの睡眠覚醒を人為的に制御制御に成功した。

4) 学術論文

C. Peyrot des Gachons, K. Uchida, B. Bryant, A. Shima, J. Sperry, L. Dankulich-Nagrudny, M. Tominaga, A. Smith III, G. Beauchamp and P. Breslin, “Unusual pungency from extra-virgin olive oil is due to restricted spatial expression of oleocanthal’s receptor” *J. Neurosci.* **31**, 999-1009 (2011).

K. Uchida, K. Dezaki, B. Damdindorj, H. Inada, T. Shiuchi, Y. Mori, T. Yada, Y. Minokoshi and M. Tominaga, “Lack of TRPM2 impaired insulin secretion and glucose metabolisms in mice” *Diabetes* **60**, 119-126 (2011).

N. Hirashima, T. Tsunematsu, K. Ichiki, H. Tanaka, T.S. Kilduff and A. Yamanaka, “Neuropeptide B induces slow wave sleep in mice” *Sleep* **34**, 31-37 (2011).

H. Mihara, A. Boudaka, K. Shibasaki, A. Yamanaka, T. Sugiyama and M. Tominaga, “Involvement of TRPV2 activation in intestinal movement through NO production in mice” *J. Neurosci.* **30**, 16536-16544 (2010).

A. Yamanaka, S. Tabuchi, T. Tsunematsu, Y. Fukazawa and M. Tominaga, “Direct interaction between orexin neurons activates these neurons through the OX2R” *J. Neurosci.* **30**, 12642-12652 (2010).

K. Kohno, T. Sokabe, M. Tominaga and T. Kadowaki, “Honey bee thermal/chemical sensor, AmHsTRPA, reveals neofunctionalization and loss of Transient Receptor Potential channel genes” *J. Neurosci.* **30**, 12219-12229 (2010).

T. Sokabe, T. Fukumi-Tominaga, S. Yonemura, A. Mizuno and M. Tominaga, “The TRPV4 channel contributes to intercellular junction formation in keratinocytes” *J. Biol. Chem.* **285**, 18749-18758 (2010).

H. Kawaguchi, A. Yamanaka, K. Uchida, K. Shibasaki, T. Sokabe, Y. Maruyama, Y. Yanagawa, S. Murakami and M. Tominaga, “Activation of polycystic kidney disease-2-like 1 (PKD2L1)/PKD1L3 complex by acid in mouse taste cells” *J. Biol. Chem.* **285**, 17277-17281 (2010).

F. Fujita, T. Azuma, M. Tajiri, H. Okamoto, M. Sano and M. Tominaga, “Significance of hair-dye base-induced sensory irritation” *International Journal of Cosmetic Science* **32**, 217-224 (2010).

H. Shigematsu, T. Sokabe, R. Danev, M. Tominaga and K. Nagayama, “A 3.5-nm structure of rat TRPV4 cation channel revealed by zernike phase-contrast cryo-EM” *J. Biol. Chem.* **285**, 11210-11218 (2010).

K. Shibasaki, N. Murayama, K. Ono, Y. Ishizaki and M. Tominaga, “TRPV2 enhances axon outgrowth through its activation by membrane stretch in developing sensory and motor neurons” *J. Neurosci.* **30**, 4601-4612 (2010).

K. Uchida, T. Shiuchi, H. Inada, Y. Minokoshi and Tominaga M, “Metabolic adaptation of mice in a cool environ-

ment” *Pfluger Archiv. Eur. J. Physiol.* **459**, 765-774 (2010).

5) 著書, 総説

A. Yamanaka and T. Tsunematsu, “New approaches for the study of orexin function” *J Neuroendocrinol* **22**, 818-824 (2010).

富永真琴, “侵害刺激受容に関わる transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) 及び transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) の活性化, 制御メカニズム” *薬学雑誌* **130**, 289-294 (2010).

富永真琴, “TRPチャネルを介した温度受容の分子機構” *アレルギーと神経ペプチド* **6**, 39-46 (2010).

曾我部隆彰, 富永真琴, “膀胱伸展を感知する TRPV4 チャネル” *医学のあゆみ* **233**, 497 (2010).

富永真琴, “酸味受容のメカニズム—オフ応答を司る分子と生物学的意義—” *化学と生物* **48**, 419-423 (2010).

富永真琴, “TRP チャネルとバリア機能” *アレルギー・免疫* **17**, 53-59 (2010).

富永真琴, “温度受容の分子機構” *からだと温度の事典 彼末一之編集* (朝倉書店) p.19-22 (2010).

鈴木喜郎, “カルシウム恒常性維持を担う TRP チャネル” *腎と透析* **69**, 359-362 (2010).

6) 国際会議発表リスト

S. Saito, R. Shingai and M. Tominaga, “Evolution of the temperature sensor TRPV3 channel: shift in the temperature sensitivity between mammals and western clawed frog” SMBE-2010-Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution, Lyon (France), July 2010.

T. Tsunematsu, S. Tabuchi, M. Tominaga and A. Yamanaka, “Optical inhibition of orexin neuronal activity using transgenic mice in which orexin neurons express a light-activated protein, halorhodopsin” 7th FENS Forum of European Neuroscience, Amsterdam (Netherlands), July 2010.

S. Tabuchi, T. Tsunematsu, M. Tominaga and A. Yamanaka, “Orexin/hypocretin activates orexin neurons via the OX2R” 7th FENS Forum of European Neuroscience, Amsterdam (Netherlands), July 2010.

A. Yamanaka and T. Tsunematsu, “New approaches to studying orexin function” The 7th International Congress of Neuroendocrinology, Rouen (France), July 2010.

M. Tominaga, “Activation of PKD2L1/PKD1L3 complex by scid in mouse taste cells” 8th International symposium for molecular mechanisms of taste and olfaction, Fukuoka (Japan), November, 2010.

S. Tabuchi, T. Tsunematsu, Y. Fukazawa, M. Tominaga and A. Yamanaka, “Orexin neurons are directly and indirectly activated by orexin through the orexin 2 receptor” Neuroscience 2010, San Diego (USA), November 2010.

7) 招待講演

A. Yamanaka and T. Tsunematsu, “New approaches to studying orexin function” The 7th International Congress of Neuroendocrinology, Rouen (France), July 2010.

富永真琴 「温度受容の分子機構」, 第28回内分泌代謝学サマーセミナー, 長崎, 2010年7月.

M. Tominaga, “TRP ion channels . novel sensor molecules for temperature and chemical stimuli” 第17回日本排尿機能学会, 山梨, 2010年9月.

M. Tominaga, “Activation of PKD2L1/PKD1L3 complex by scid in mouse taste cells” 8th International symposium for

molecular mechanisms of taste and olfaction, Fukuoka (Japan), November, 2010.

8) 学会および社会的活動

日本生理学会会員委員会委員 (富永真琴)

日本生理学会教育委員会委員 (山中章弘)

日本神経科学学会男女共同参画委員会委員 (富永真琴)

国際疼痛学会倫理委員会委員 (富永真琴)

日本疼痛学会理事 (富永真琴)

The Journal of Physiological Sciences, Editorial board member (M. Tominaga)

Pflüger Archiv European Journal of Physiology, Editorial board member (M. Tominaga)

Molecular Pain, Editorial board member (M. Tominaga)

9) 他大学での非常勤講師, 客員教授

名古屋大学大学院医学研究科非常勤講師 (富永真琴)

名古屋大学大学院理学研究科非常勤講師 (富永真琴)

三重大学大学院医学研究科非常勤講師 (富永真琴)

金沢大学医薬保健学域非常勤講師 (富永真琴)

九州大学大学院歯学府非常勤講師 (富永真琴)

和歌山県立医科大学生涯研修・地域医療センター非常勤講師 (富永真琴)

島根大学大学院医学研究科非常勤講師 (山中章弘)

立命館大学総合理工学院薬学部非常勤講師 (山中章弘)

11) 外部獲得資金

科学研究費基盤研究 (A), 「温度感受性 TRPM2 チャンルの生理学的意義の解明」, 富永真琴 (代表) (2007年-2010年).

科学研究費挑戦的萌芽研究, 「局所脳温の測定と脳温が神経活動に与える効果の解析」, 富永真琴 (代表) (2009年-2010年).

科学研究費特定領域研究細胞感覚「温度センサー TRP チャン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).

科学研究費基盤研究 (B), 「下部尿路知覚神経伝達におけるイオンチャンネルの役割と新規治療応用に関する研究」, 富永真琴 (分担) (2008年-2010年).

科学研究費基盤研究 (B), 「多様な季節的多型を誘導するホルモン協働作用の分子様式」, 富永真琴 (分担) (2008年-2011年).

総合研究大学院大学学術融合研究事業, 「生物の赤外線センシングメカニズムの基礎的調査研究」, 富永真琴 (分担) (2010年).

総合研究大学院大学学術融合研究事業, 「臍島移植をモデル系とした機械-化学応答細胞死のイメージングサイエンス」, 富永真琴 (分担) (2010年).

(独)科学技術振興機構さきがけ研究「本能機能を司る視床下部神経回路操作と行動制」, 山中章弘 (代表) (2009年-2011年).

科学研究費若手研究 (A), 「睡眠覚醒制御に関わる神経機構統合的解明」, 山中章弘 (代表) (2008年-2011年).

科学研究費挑戦的萌芽研究, 「インビボにおける特定神経活動の制御法の開発」, 山中章弘 (代表) (2008年-2010年).

科学研究費基盤研究 (B), 「オレキシン産生神経とその制御システムの生理的役割」, 山中章弘 (分担) (2009年-2011年).

財団法人武田科学振興財団特定研究助成, 「光操作による大脳基底核疾患の病態解明と治療法開発」, 山中章弘 (共同申請者) (2010年-).

若手研究者による分野間連携研究プロジェクト, 「オプトジェネティクスを用いた個体行動制御技術の開発とその研究応用」, 山中章弘 (代表) (2010年).

科学研究費若手研究 (B), 「温度感受性 TRP チャネルの活性化メカニズムと構造 - 機能関連解明 - 」, 曾我部隆彰 (代表) (2009年-2010年).

科学研究費特定領域研究「多様な季節型を誘導するホルモン協働作用の分子解析」, 曾我部隆彰 (分担) (2009年-2010年).

科学研究費研究活動スタート支援「母子間カルシウムおよびマグネシウム輸送を担う分子の同定」, 鈴木喜郎 (代表) (2010年).

科学研究費補助金若手研究 (B) 「TRPチャネルと相互作用分子の機能相関」, 梅村徹 (代表) (2009年-2010年).

科学研究費補助金若手研究 (B) 「恒温動物の体温調節機能の進化: 温度感覚と非震え熱産生機構に関する遺伝子の比較解析」, 齋藤茂 (代表) (2008年-2010年).

12) 特許

富永真琴 (マンダム(株)との共出願) 「アルコール類の刺激を抑制する成分のスクリーニング」特願 2010-077286