

氏名	あべ べ じゅん じ 阿 部 潤 次
学位(専攻分野)	博 士 (情 報 学)
学位記番号	情 博 第 241 号
学位授与の日付	平 成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	情 報 学 研 究 科 知 能 情 報 学 専 攻
学位論文題目	Localization and desensitization of transient receptor potential M8 (冷・メンソール受容体 TRPM8 の局在と脱感作機構)
論文調査委員	(主 査) 教 授 小 林 茂 夫 教 授 後 藤 修 教 授 阿 久 津 達 也

論 文 内 容 の 要 旨

人の脳の働きを理解するには、五感の解析が重要である。五感には、体性感覚（触覚・温度感覚）・視覚・聴覚・味覚・嗅覚がある。温度感覚では、皮膚に分布する温度受容体の求心性の電気活動が調べられてきた。しかし、その分子実体が不明であったので、温度受容体の神経線維での分布や脱感作のしくみはあきらかでない。最近、Transient Receptor Potential (TRP) 陽イオンチャネルファミリーの中に、8種類の温度受容体が発見された。そのうち、27°C以下の低温とメンソール（ハッカの成分）に応答する TRPM8 が感覚神経から単離された。本研究では、TRPM8 が冷感やふるえを誘発する低温受容体だと仮定し、(1)感覚神経における TRPM8 の局在を免疫抗体法で調べ、(2)ヒト胎児由来の培養細胞（HEK293）に発現させた TRPM8 の脱感作機構をパッチクランプ法と Ca イメージ法で調べた。

(1) TRPM8 の局在：三叉神経節では全神経細胞の11%が TRPM8 を発現していた。TRPM8 の発現する細胞は、小型であり、有髄神経と無髄神経の両方であった。これは、冷線維の細胞と TRPM8 を持つ細胞の特徴が一致することを示す。また TRPM8 と TRPV1 (42°C以上の熱刺激で活性化)あるいは CGRP (痛覚マーカー、血管拡張作用を持つ)とが一部の神経細胞に共存していた。これは、TRPM8 が逆説的冷感や冷痛にも関わることを示唆する。舌では、TRPM8 を発現する神経線維が茸状乳頭に分布し、その神経終末に TRPM8 が発現していた。しかし、その神経線維は味覚をつかさどる味蕾には投射がなかった。これは、温度の低下で TRPM8 が活動しても、甘みや苦味にはならないことを示す。

(2) TRPM8 の脱感作機構：TRPM8 をメントールで刺激すると、陽イオン電流が細胞外から流入し、その振幅は時間経過とともに低下した。この低下は、TRPM8 チャンネルの脱感作による。この脱感作は、細胞外液にカルシウムイオンがないと起きなかった。つまり、脱感作には、細胞内に流入したカルシウムが関わる。カルシウム依存性のリン酸化酵素 (Protein Kinase C: PKC) が脱感作を誘発すると仮定して実験を進めた。PKC に選択的な作動薬、阻害剤を作用させると、メントールによる電流応答が特異的に変化した。特異性の高い作動薬で PKC を活性化した時、TRPM8 の細胞内移行は起こらなかった。この実験は、細胞膜上の TRPM8 の密度の低下が脱感作の原因ではないことを示す。PKC によるリン酸化部位をひとつずつなくした TRPM8 の変異体では、PKC による脱感作は変化しなかった。これは、PKC が TRPM8 を直接不活化するのではなく、PKC で活性化する中間産物が TRPM8 を不活化することを示す。

この実験は、TRPM8 の性質は低温受容体の性質と一致することを示す。そこで、TRPM8 が冷受容体だと結論する。皮膚温低下やメンソールが加わると、TRPM8 が働いて活動動電位を生む。それが脳に伝わって、皮膚に冷覚が生まれるといえる。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、低温・メンソール受容体の局在と脱感作に関するものである。1951年、Hensel と Zotterman は、動物の舌から脳へと向かう感覚神経に細胞外電極を装着し、求心性の電気活動を記録した。一定の低温を舌に加えると、活動電位の発

生頻度が急激に上昇する。その発生頻度は、ピークを経た後に低下し、低いレベルの発火活動が維持された。これは、低温に応じて活動電位を誘発する受容器が皮膚に分布することを示すとともに、受容器に脱感作が起きることを示す。その後、低温受容器が出す活動電位の記録が重ねられたが、分子実体が不明であり、低温受容器の局在や脱感作のしくみは明らかになっていない。

Transient Receptor Potential (TRP) 陽イオンチャネルファミリーは、興奮性の受容器であり、刺激を受けると活動し、神経細胞では活動電位を誘発する。最近、その TRP ファミリーの中に、低温受容器または高温受容器が 8 種類発見されている。本研究は、低温受容器のひとつである低温・メンソール受容体 TRPM8 に着目して実験を行っている。

TRPM8 が低温で活性化するチャネルであっても、皮膚に分布していないなら、冷感を引き起こす受容器としては機能しない。阿部君は、この点を明らかにするため、TRPM8 を認識する抗体を自作した。これは、市販の抗体に比べ、TRPM8 を高感度に認識するものであった。この抗体を使って、TRPM8 がネズミの感覚神経の終末に発現しているかどうかを探った。実験の結果、TRPM8 が舌の感覚神経に発現していることがわかった。これは TRPM8 が神経線維の終末にあることを示す初めての報告である。

ついで、培養細胞 (HEK293) に強制的に発現させた TRPM8 の脱感作のしくみを、パッチクランプ法、Ca イメージ法で探った。その結果、カルシウム依存性 PKC が TRPM8 の脱感作を誘発することがわかった。PKC は、TRPM8 を直接リン酸化するものでなく、中間産物を介して間接的に作用するとわかった。冷感に慣れが起こることは経験的に知られている。慣れが起こるしくみを分子レベルで明らかにした本研究は独創的なものといえる。

これらの実験は、TRPM8 が冷受容器として機能することを示す。すなわち、舌の温度低下やメンソールが加わると、TRPM8 が活動して活動電位を誘発する。その活動電位が脳に届くと、舌が冷たいとの感覚が人に生まれる。本研究は、50 年以上も不明だった低温受容器の局在、脱感作のしくみを解明するものと位置づけられる。

よって、本論文は博士 (情報学) の学位論文として価値あるものと認める。

また、平成19年1月25日実施した論文内容とそれに関連した試問の結果合格と認めた。