



温度生物学
THERMAL BIOL.

文部科学省科学研究費補助金「新学術領域研究（研究領域提案型）」

温度を基軸とした生命現象の統合的理解（温度生物学）

Thermal Biology

Newsletter No.2



Contents 目次

領域代表挨拶 01

「分子から個体まで温度が関わる生命現象の解明を目指して」
富永 真琴 (岡崎統合バイオサイエンスセンター)

研究組織 02

総括班
計画班、公募班
(研究項目)
A01: 「温度センシング」の研究連携
A02: 「温度応答システム」の研究連携

計画研究の研究概要 04

A01: 富永 真琴、高木 昌宏、久原 篤、今本 尚子、梅田 眞郷
原田 慶恵、岡部 弘基
A02: 中村 和弘、山田 哲也、土居 雅夫、南 雅文、柴崎 貢志

公募研究の研究概要 10

A01: 西山 賢一、小野 崇人、井上 飛鳥、大倉 正道、藤原 祐一郎
中野 雅裕、井藤 彰、佐藤 陽子、江藤 圭、神谷 厚範
A02: 深田 吉孝、武田 憲彦、酒井 寿郎、田中 光一、神吉 智文
塩見 邦博、中川 貴之、藤田 潤、小川 渉、浅野 知一郎
野村 真、高橋 将文、中村 隼明

第2回 領域会議：概要 33

会期 平成28年6月28日(火)～6月29日(水)
会場 札幌市教育文化会館

第2回 領域会議：若手の声 34

人羅 菜津子 (北海道大学大学院 薬学研究院)
木下 将希 (京都大学大学院 生命科学研究所)

第1回 若手の会：概要 36

会期 平成28年6月29日(水)～6月30日(木)
会場 札幌市教育文化会館(29日)、北海道大学薬学部(30日)

本領域の活動 37

シンポジウム開催報告
中村 和弘 (名古屋大学大学院 医学系研究科)
今本 尚子 (理化学研究所)

トピックス 39

「シンプルな実験動物を用いた温度応答の分子生理システム」
久原 篤 (甲南大学 理工学部 統合ニューロバイオロジー研究所)
「エネルギー代謝調節における臓器間神経ネットワークの役割」
山田 哲也 (東北大学大学院 医学系研究科)

今後の活動予定 45

編集後記 46

領域代表挨拶

「分子から個体まで温度が関わる生命現象の解明を目指して」



岡崎統合バイオサイエンスセンター

富永 真琴

新学術領域研究「温度を基軸とした生命現象の統合的理解 (温度生物学)」が2年目を迎え、公募班員23名 (A01 10名、A02 13名) が加わりました。温度計測を研究する工学部所属の班員から温度に関わる幅広い生物種での研究に携わる広範な研究領域の班員がおり、あらためて温度生物学研究の奥深さを実感しました。6月に札幌で開催された第2回領域会議は成功裏に終了しました。とても勉強になり、研究連携の可能性を強く感じましたが、新学術領域研究として評価されるために5年間で連携研究の成果を出していくことに関して、身の引き締まる思いです。研究連携推進のためにどのような運営をしていったらよいか、これからも班員で議論していきたいと思っています。

7月に2つの新学術領域研究、「脂質クオリティが解き明かす生命現象 (リポクオリティ)」「グリアアセンブリによる脳機能発現の制御と病態 (グリアアセンブリ)」の領域会議に参加するチャンスに恵まれました。2つとも独自の運営方法が勉強になりましたし、共同研究や共同会議開催の可能性を模索していくことを考えました。その2つの領域会議へ参加して最も感じたのは、やはり「温度生物学」の研究領域の広さと概念周知の必要性です。また、ベースとなる学会組織が堅固でないことも感じました。温度が生命現象理解にいかに大切であるかを引き続き訴えていくことが重要です。幸い、今年度も6月に京都で行われた日本細胞生物学会大会、7月に横浜で行われた日本神経科学大会で領域共催のシンポジウムを開催することができましたし、9月に日本生化学会大会、11月に日本生物物理学会年会、来年3月に日本生理学会大会で共催シンポジウムを開催予定です。幅広い領域での研究論理、研究手法を駆使して、温度の感知・応答・生体調節・体温制御等、温度に関係する多様な分子や生命現象をこれまでにない視点から捉える「温度生物学」を確立して、生命機能における温度の新たな普遍的役割を追求したいと考えます。

8月末に生理学研究所で行われた「温熱生理研究会」は私が生理学研究所に着任してからお手伝いしている研究会で、ある意味、「温度生物学」という研究領域確立の原点となった研究会です。この研究会ではヒトの温熱生理研究が多く報告されました。新学術領域研究「温度生物学」をヒトの生理学にいかに繋げていくかも今後の課題の一つだと思っています。

研究組織

総括班

富永 真琴	岡崎統合バイオサイエンスセンター	領域代表・事務局
今本 尚子	理化学研究所	若手・女性研究者育成
梅田 真郷	京都大学大学院 工学研究科	広報・HP 管理
原田 慶恵	大阪大学 蛋白質研究所	リソース・実験技術の管理・普及
中村 和弘	名古屋大学大学院 医学系研究科	若手・女性研究者育成 国際シンポジウム
土居 雅夫	京都大学大学院 薬学研究科	国際シンポジウム
南 雅文	北海道大学大学院 薬学研究院	リソース・実験技術の管理・普及
岡部 弘基	東京大学大学院 薬学系研究科	リソース・実験技術の管理・普及
柴崎 貢志	群馬大学大学院 医学系研究科	リソース・実験技術の管理・普及

計画班

研究項目A01「温度センシング」の研究連携

A01-1 TRP チャネルおよび膜脂質による温度センシング機構の解明

富永 真琴	岡崎統合バイオサイエンスセンター
高木 昌宏	北陸先端科学技術大学院大学 マテリアルサイエンス系
久原 篤	甲南大学 理工学部 統合ニューロバイオロジー研究所

A01-2 細胞質・細胞核の温度センシング機構の解明

今本 尚子	理化学研究所
-------	--------

A01-3 細胞内温度センシングとエネルギー代謝制御機構の解明

梅田 真郷	京都大学大学院 工学研究科
-------	---------------

A01-4 細胞内外における局所温度の最先端計測技術の開発と実践

原田 慶恵	大阪大学 蛋白質研究所
岡部 弘基	東京大学大学院 薬学系研究科

研究項目A02「温度応答システム」の研究連携

A02-1 体温と代謝の自律性・行動性調節を担う神経回路機構の解明

中村 和弘	名古屋大学大学院 医学系研究科
山田 哲也	東北大学大学院 医学系研究科

A02-2 生体の温度センシング・温度応答・体温制御における概日時計機構の役割の解明

土居 雅夫	京都大学大学院 薬学研究科
-------	---------------

A02-3 温度による行動制御の基盤となる快・不快情動生成機構の解明

南 雅文	北海道大学大学院 薬学研究院
柴崎 貢志	群馬大学大学院 医学系研究科

公募班

A01班 「温度センシング」の研究連携

西山 賢一	岩手大学 農学部附属寒冷バイオフィロンティア研究センター
小野 崇人	東北大学大学院 工学研究科
井上 飛鳥	東北大学大学院 薬学研究科
大倉 正道	埼玉大学大学院 理工学研究科
藤原 祐一郎	大阪大学大学院 医学系研究科
中野 雅裕	大阪大学 産業科学研究所
井藤 彰	九州大学大学院 工学研究院
佐藤 陽子	東亜大学 医療学部
江藤 圭	生理学研究所
神谷 厚範	国立循環器病研究センター

A02班 「温度応答システム」の研究連携

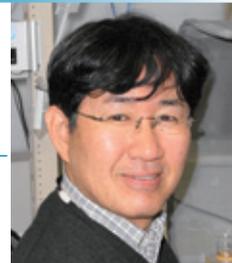
深田 吉孝	東京大学大学院 理学系研究科
武田 憲彦	東京大学大学院 医学系研究科
酒井 寿郎	東京大学 先端科学技術研究センター
田中 光一	東京医科歯科大学 難治疾患研究所
神吉 智丈	新潟大学大学院 医歯学総合研究科
塩見 邦博	信州大学 学術研究院 繊維学系
中川 貴之	京都大学 医学部附属病院
藤田 潤	京都大学大学院 医学研究科
小川 涉	神戸大学大学院 医学系研究科
浅野 知一郎	広島大学大学院 医歯薬保健学研究院
野村 真	京都府立医科大学大学院 医学研究科
高橋 将文	自治医科大学 分子病態治療研究センター
中村 隼明	基礎生物学研究所

計画研究の研究概要

計画研究 研究項目A01-1

富永 真琴【とみなが まこと】

自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター (生理学研究所) 細胞生理研究部門 教授



研究課題名

TRPチャンネルおよび膜脂質による温度センシング機構の解明

自己紹介

細胞がどのようにして細胞外環境温度を感知するのかを、細胞膜に発現するイオンチャンネル (温度感受性TRPチャンネル等) や膜脂質に焦点をあてて解析する。また、温度感受性TRPチャンネルの生理学的意義の解析、進化解析を行う。さらに、「温度がどのようにしてイオンチャンネルの開口をもたらすのか」という疑問に答えるべく、人工脂質二重膜を用いた温度感受性チャンネルの開口機構解析や共焦点顕微鏡・細胞内温度計測プローブ・IRレーザーを駆使した解析を行う。

論文

1. Sun W et al. Lack of TRPV2 impairs thermogenesis in mouse brown adipose tissue. *EMBO rep.* 17: 383-399 (2016).
2. Uchida K et al. Stimulation-dependent gating of TRPM3 channel in planar lipid bilayers. *FASEB J.* 30: 1306-1316 (2016).
3. Saito S et al. Evolution of heat sensors drove shifts in thermosensation between *Xenopus* species adapted to different thermal niches. *J. Biol. Chem.* 291: 11446-11459 (2016).

計画研究 研究項目A01-1

高木 昌宏【たかぎ まさひろ】

北陸先端科学技術大学院大学 マテリアルサイエンス系 教授



研究課題名

TRPチャンネルおよび膜脂質による温度センシング機構の解明

自己紹介

細胞膜において、飽和脂質やコレステロールが豊富な「ラフト (raft) 」と呼ばれる相分離構造が存在し、細胞信号伝達に関与すると考えられている。我々は、膜の構造変化を、2次元ダイナミクス (ラフトを中心とした膜相分離状態の変化) と、3次元ダイナミクス (エンドサイトーシスやオートファジー等の膜形態変化) に分類して、温度や膜流動性が相分離構造の変化、そして細胞信号伝達に与える影響について調べる研究を行っている。

論文

1. Shimokawa N et al. Phase diagrams and ordering in charged membranes: Binary mixtures of charged and neutral lipids. *J. Phys. Chem. B.* 120: 6358-6367 (2016).
2. Himeno H et al. Charge-induced phase separation in lipid membranes. *Soft Matter* 10: 7959-7967 (2014).
3. Hamada T et al. Size-dependent partitioning of nano/micro-particles mediated by membrane lateral heterogeneity. *J. Am. Chem. Soc.* 134: 13990-13996 (2012).

計画研究 研究項目A01-1

久原 篤 [くはら あつし]

甲南大学 理工学部 生物学科 生体調節額研究室 / 統合ニューロバイオロジー研究所 准教授



研究課題名

TRPチャネルおよび膜脂質による温度センシング機構の解明
(分担課題: 3量体Gタンパク質を介した温度情報伝達の解析)

自己紹介

シンプルな動物 (*C. elegans*) の温度応答を使い、温度情報伝達および生体の温度適応に関わる新規のメカニズムの同定を目指しております。2011年にスタートしたフレッシュな研究室ですが、若い学生と共に線虫の温度適応の新しい実験系を構築して、温度生物学の研究を進めております。下等動物からヒトまで保存されている機構も多いと思われるので、新規の温度センシングや温度応答の機構が見つかることを期待しております。

論文

1. Sonoda S et al. Sperm affects head sensory neuron in temperature tolerance of *Caenorhabditis elegans*. *Cell Rep.* 16: 56-65 (2016).
2. Ohta A, Ujisawa T et al. Light and pheromone-sensing neurons regulate cold habituation through insulin signaling in *Caenorhabditis elegans*. *Nat. Commun.* 5: 4412 (2014).
3. Kuhara A et al. Temperature sensing by an olfactory neuron in a circuit controlling behavior of *C. elegans*. *Science* 320: 803-807 (2008).

計画研究 研究項目A01-2

今本 尚子 [いまもと なおこ]

理化学研究所 今本細胞核機能研究室 主任研究員



研究課題名

細胞質・細胞核の温度センシング機構の解明

自己紹介

私たちの研究室では、核-細胞質間輸送や細胞核の構造構築の問題に取り組んでいます。熱ストレスで駆動するHsp70の核内輸送を担う運搬体分子Hikeshiを見つけたことがきっかけとなって、本領域に参画しています。Hikeshi機能が失われると、ヒト疾患が誘発され、マウスが致死になるなど生理機能が大きな影響を受けます。Hsp70の機能制御を介したタンパク質恒常性維持システムが不安定になると考え、その問題に切り込みます。

論文

1. Edwardson S et al. Leukoencephalopathy and early death associated with an Ashkenzai-Jewish founder mutation in the Hikeshi gene. *J. Med. Genet.* 53: 132-137 (2016).
2. Kimura M et al. Identification of cargo proteins specific for the nucleocytoplasmic transport carrier transportin by combination of an in vitro transport system and stable isotope labeling by amino acid in cell culture (SILAC)-based quantitative proteomics. *Mol. Cell. Proteomics* 12: 145-157 (2013).
3. Kose S et al. Hikeshi, a nuclear import carrier for Hsp70s, protects cells from heat-shock induced nuclear damage. *Cell* 149: 578-589 (2012).

計画研究 研究項目A01-3

梅田 眞郷 [うめだ まさと]

京都大学大学院 工学研究科 合成・生物化学専攻 生体認識化学分野 教授



研究課題名

細胞内温度センシングとエネルギー代謝制御機構の解明

自己紹介

「動物の体温はどのようにして決まっているのだろうか？」という素朴な疑問から、生物と温度との関わりについて一連の研究に着手しました。モデル動物としてショウジョウバエを用いていますが、変温動物といえども決して外気温の言いなりにはなっておらず、優れた体温調節機構と環境温の変動に应答して膜の恒常性やエネルギー代謝をコントロールする特有のシステムを獲得して来ています。現在の地球上で最も繁栄する昆虫の研究から、私たちが想像も出来ない新たな温度適応戦略を明らかに出来ればと思っています。

論文

1. Ogawa R et al. Development of a novel tetravalent synthetic peptide that binds to phosphatidic acid. *PLoS ONE* 10: e0131668 (2015).
2. Kato U et al. Role for phospholipid flippase complex of ATP8A1 and CDC50A in cell migration. *J. Biol. Chem.* 288: 4922-4934 (2013).
3. Takeuchi K et al. Changes in Temperature Preferences and Energy Homeostasis in Dystroglycan Mutants. *Science* 323: 1740-1743 (2009).

計画研究 研究項目A01-4

原田 慶恵 [はらだ よしえ]

大阪大学 蛋白質研究所 蛋白質ナノ科学研究室 教授



研究課題名

細胞内外における局所温度の最先端計測技術の開発と実践

自己紹介

1分子イメージング法を使って、タンパク質分子が働く様子を観察して、その仕組みを調べる研究をしてきた私には、重要な機能をもつ分子の探索や、分子間相互作用解析などを研究手法とする、細胞機能の研究には隔たりを感じていました。細胞内温度計測という新しいアプローチ法を得て、生物物理学を専門とする私も細胞機能に迫ることができそうです。

論文

1. Iwasa T et al. Synergistic effect of ATP for RuvA-RuvB-Holiday junction DNA complex formation. *Sci. Rep.* 5: 18177 (2015).
2. Yoshinari Y et al. Observing the rotational diffusion of nanodiamonds with arbitrary nitrogen vacancy center configurations. *Phys. Rev. B* 88: 235206 (2013).
3. Yokota H et al. Single-Molecule Imaging of the Oligomer Formation of the Nonhexameric *Escherichia coli* UvrD Helicase. *Biophys. J.* 104:924-933 (2013).

計画研究 研究項目A01-4

岡部 弘基【おかべ こうき】

東京大学大学院 薬学系研究科 生体分析化学教室 助教



研究課題名

細胞内外における局所温度の最先端計測技術の開発と実践

自己紹介

生命科学において、これまで温度は気温や体温といった比較的緩慢に変化する物理量として研究されてきました。一方、我々は細胞内局所温度の計測技術を開発することにより、細胞内という極小の空間の温度が細胞機能と関連して変動することを発見しました。これらの結果から、細胞内局所温度の変動は細胞機能に貢献していると仮説を立て、実証を目指しています。これにより、これまで知られてこなかった温度を信号とした斬新かつ魅力的な細胞機能制御の原理が解明できるのではないかと期待しています。

論文

1. Hattori K et al. ASK1 signalling regulates brown and beige adipocyte function. *Nat. Commun.* 7: 11158 (2016).
2. Okabe K et al. Intracellular temperature mapping with a fluorescent polymeric thermometer and fluorescence lifetime imaging microscopy. *Nat. Commun.* 3: 705 (2012).
3. Gota C et al. Hydrophilic fluorescent nanogel thermometer for intracellular thermometry. *J. Am. Chem. Soc.* 131: 2766-2767 (2009).

計画研究 研究項目A02-1

中村 和弘【なかむら かずひろ】

名古屋大学大学院 医学系研究科 細胞科学講座 統合生理学分野 教授



研究課題名

体温と代謝の自律性・行動性調節を担う神経回路機構の解明

自己紹介

体温の調節はあらゆる生命現象にとって基盤となる機能であり、恒温動物の場合、体温が2~3℃上下するだけで体の機能に問題を生じることもあります。そう考えると、体温を調節する仕組みの研究は、元来デリケートな生命システムが日常的に見せている頑強性の本質を明らかにすることだと言えます。生命が避けては通れない「温度」とのお付き合い。あっと言う仕組みがあるはず。そういうものを明らかにしたいと思っています。

論文

1. Kataoka N et al. Psychological stress activates a dorsomedial hypothalamus–medullary raphe circuit driving brown adipose tissue thermogenesis and hyperthermia. *Cell Metab.* 20: 346-358 (2014).
2. Nakamura K et al. A thermosensory pathway mediating heat-defense responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107: 8848-8853 (2010).
3. Nakamura K et al. A thermosensory pathway that controls body temperature. *Nat. Neurosci.* 11: 62-71 (2008).

計画研究 研究項目A02-1

山田 哲也【やまだ てつや】

東北大学大学院 医学系研究科 内科病態学講座 糖尿病代謝内科学分野 准教授



研究課題名

体温と代謝の自律性・行動性調節を担う神経回路機構の解明

自己紹介

我々は糖尿病や肥満症を専門とするphysician scientistとして、褐色脂肪組織が個体のエネルギー消費に及ぼす影響に焦点を絞って研究を進めてきました。その中で、内臓脂肪での熱産生亢進を端緒とする摂食抑制シグナル(論文3)や肝臓から発信され褐色脂肪の熱産生を制御するシグナルなど(論文1、2)、エネルギー代謝と体温調節のクロストークに神経ネットワークが重要な役割を果たしていることを見出すことができました。本領域が発足した後も、研究代表の中村和弘先生との共同研究で、個体のエネルギーバランスが負に傾くような状況では、褐色脂肪組織での熱産生が減少し、個体レベルでエネルギー消費が抑制されることを発見しました(*PLoS ONE*.11:e0150756 (2016))。今後も領域内の先生方との連携を通じて、温度生物学の発展に貢献できるよう努力して参りたいと思います。

論文

1. Tsukita S et al. Hepatic glucokinase modulates obesity predisposition by regulating BAT thermogenesis via neural signals. *Cell Metab.* 16: 825-832 (2012).
2. Uno K et al. Neuronal pathway from the liver modulates energy expenditure and systemic insulin sensitivity *Science* 312:1656-1659 (2006).
3. Yamada T et al. Signals from intra-abdominal fat modulate insulin and leptin sensitivity through different mechanisms: neuronal involvement in food-intake regulation.. *Cell Metab.* 3:223-229 (2006)

計画研究 研究項目A02-2

土居 雅夫【どい まさお】

京都大学大学院 薬学研究科 医薬創成情報科学専攻 システムバイオロジー分野 准教授



研究課題名

生体の温度センシング・温度応答・体温制御における概日時計機構の役割の解明

自己紹介

体内時計に焦点を当て、温度変化が体内時計の位相を変化させる仕組みや、脳内のサーカディアンリズム中枢が体温の日内変動を生み出すための分子機構や神経回路の解明を目指します。「温度」と「時間」という2つの物理量が生体内でどのような情報のやり取りを行うのでしょうか。領域内の連携を通じてその謎に一步でも近づきたいと心より願っております。領域内では国際シンポジウムを担当します。よろしくお願いいたします。

論文

1. Doi M et al. Gpr176 is a Gz-linked orphan G-protein coupled receptor that sets the pace of circadian behavior. *Nat. Commun.* 7: 10583 (2016).
2. Doi M et al. Circadian regulation of intracellular G-protein signaling mediates intercellular synchrony and rhythmicity in the suprachiasmatic nucleus. *Nat. Commun.* 2: 327 (2011).
3. Doi M et al. Salt-sensitive hypertension in circadian clock-deficient Cry-null mice involves dysregulated adrenal Hsd3b6. *Nat. Med.* 16: 67-74 (2010).

計画研究 研究項目A02-3

南 雅文【みなみ まさぶみ】

北海道大学大学院 薬学研究院 薬理学研究室 教授



研究課題名

温度による行動制御の基盤となる快・不快情動生成機構の解明

自己紹介

痛みによる不快情動生成の神経機構に関する研究を中心として研究を行って参りましたが、この度、本領域の計画研究に加えていただき、温度による行動制御の基盤となる快・不快情動生成の神経機構の研究に取り組むことになりました。領域内での共同研究を積極的に進めて、「暑さ」や「寒さ」を不快に感じるための脳内神経回路と神経情報伝達を明らかにしていきたいと考えております。

論文

1. Ide S et al. Opposing roles of corticotropin-releasing factor and neuropeptide Y within the dorsolateral bed nucleus of the stria terminalis in the negative affective component of pain in rats. *J. Neurosci.* 33: 5881-5894 (2013).
2. Kudo T et al. Three types of neurochemical projection from the bed nucleus of the stria terminalis to the ventral tegmental area in adult mice. *J. Neurosci.* 32: 18035-18046 (2012).
3. Deyama S et al. Activation of the β -adrenoceptor-protein kinase A signaling pathway within the ventral bed nucleus of the stria terminalis mediates the negative affective component of pain in rats. *J. Neurosci.* 28: 7728-7736 (2008).

計画研究 研究項目A02-3

柴崎 貢志【しばさき こうじ】

群馬大学大学院 医学系研究科 脳神経発達統御学講座 分子細胞生物学分野 准教授



研究課題名

温度による行動制御の基盤となる快・不快情動生成機構の解明：
脳内温度による恒常的神経活動向上の分子基盤解明

自己紹介

我々は体温程度の温度（34℃以上）により活性化する温度センサー・TRPV4が脳内温度により恒常的に活性化し、神経細胞が興奮しやすい土台環境を産み出していることを突き止めた。この知見は、脳内温度を情報源として、これを翻訳し、神経情報伝達に活かす機構の存在を意味している。本研究では、臓器局所の温度測定システムを応用した脳局所ごとの温度分布の解析や臓器局所の加温・冷却システムを用い、脳内温度変動が神経活動に及ぼす影響を個体レベルで明らかにする。

論文

1. Sugio S et al. TRPV2 activation requires interaction with the actin cytoskeleton and enhances growth cone motility. *FASEB J.* (in press)
2. Shibasaki K et al. TRPV4 activation at the physiological temperature is a critical determinant of neuronal excitability and behavior. *Pflügers Archiv.* 467: 2495-2508 (2015).
3. Shibasaki K et al. A novel subtype of astrocytes expressing TRPV4 regulates neuronal excitability via release of gliotransmitters. *J. Biol. Chem.* 289: 14470-14480 (2014).

公募研究の研究概要

公募研究 研究項目A01

西山 賢一【にしやま けんいち】

岩手大学 農学部付属寒冷バイオフィロンティア研究センター 教授



研究課題名

タンパク質膜挿入に必須の糖脂質酵素MPlaseの低温センシングによる発現誘導機構

研究概要

膜タンパク質が生体膜に挿入する仕組み(図1)はすべての生物で保存されている。タンパク質膜挿入反応は、低温感受性を示すことが知られている。低温下では膜の流動性が低下するため、タンパク質膜挿入や膜透過といったタンパク質膜輸送が大きく影響を受けると説明されているが、その詳細な分子機構はほとんど明らかにされていない。モデル生物大腸菌においては、SecYEG等の膜挿入に関わる因子の発現レベルは、低温下でもほとんど変化しない。一方、我々は、タンパク質膜挿入に必須の糖脂質MPlase(図2)の発現量は、培養温度の低下に伴って10倍近く増加することを見出した。MPlaseは糖脂質でありながら膜挿入反応を触媒する性質をもつため、「糖脂質酵素(Glycolipozyme)」という概念を提唱している。新規糖脂質MPlaseの生合成経路は全く不明であった。生合成酵素の同定を試みた結果、リン脂質生合成に関わるCdsAとそのホモログYnbBを同定した。CdsAやYnbBを枯渇させるとMPlaseが枯渇し、逆にCdsAやYnbBを大量生産するとMPlaseも増加した。このことは、CdsA、YnbBによる反応がMPlase生合成の律速段階であることを示している。本研究では、MPlaseおよびCdsA、YnbBの低温センシングによる発現誘導機構を調べることにより、大腸菌細胞質膜の低温センシング機構を明らかにし、タンパク質膜挿入反応の低温下での適応機構を明らかにすることを目的とする。生体膜は温度の変化を高度に感知するが、その分子機構はほとんど不明である。本研究により、温度センシングの詳細な分子機構が明らかになると期待できる。本研究で着目するCdsAは、そのホモログが真核生物にも普遍的に存在する。そのため、生体膜の低温センシング機構の生物種を超えた普遍性を実証することも可能になると考えられる。

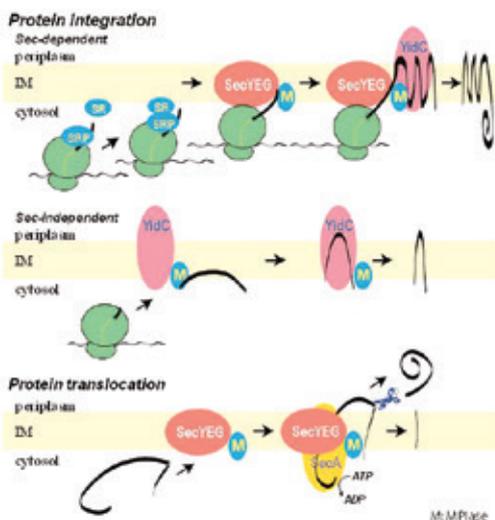


図1. 大腸菌におけるタンパク質膜挿入・膜透過機構

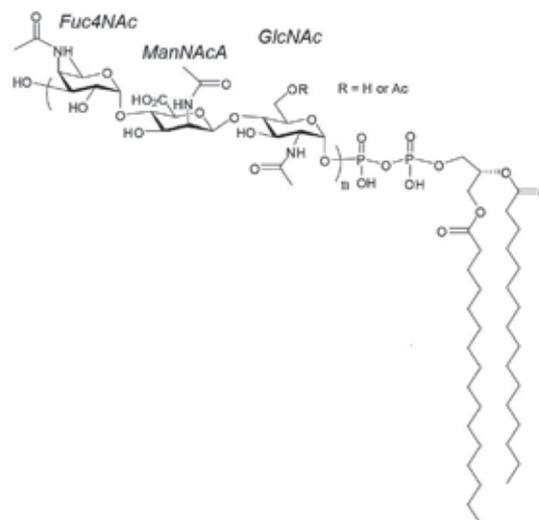


図2. MPlaseの構造

nは9~11の整数を示す。「GlcNAc」はN-アセチルグルコサミン、「ManNAcA」はN-アセチルマンノサミンウロン酸、「Fuc4NAc」は4-アセトアミドフコースを示す。

論文

1. Kumazaki K et al. Structural basis of Sec-independent membrane protein insertion by YidC. *Nature* 509: 516-520 (2014).
2. Moser M et al. Glycolipozyme MPlase is essential for topology inversion of SecE during preprotein translocation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110: 9734-9739 (2013).
3. Nishiyama K et al. MPlase is a glycolipozyme essential for membrane protein integration. *Nat. Commun.* 3: 1260 (2012).

公募研究 研究項目A01

小野 崇人【おの たかひと】

東北大学大学院 工学研究科 教授

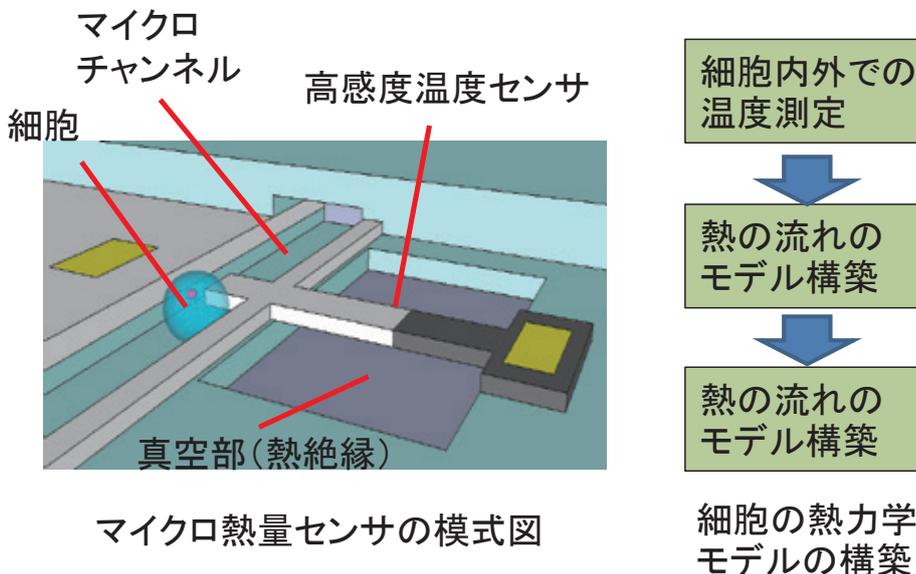


研究課題名

熱量センサによる細胞の熱力学計測

研究概要

我々は水溶液中の試料からの熱を、熱導波路を介して真空中に配置した熱量センサで検出する熱計測デバイスを開発している。これまでに、このデバイスを用いて、単一褐色脂肪細胞などの熱量計測に成功している。熱量センサに真空絶縁型構造を取り入れることで、リアルタイムかつ従来よりも3桁以上程度高感度な測定が可能になった。本研究では、この単一細胞の熱計測デバイスを、各種の様々な単一細胞試料に対して高感度かつリアルタイムに測定できるシステムへと発展させる。また、蛍光計測による細胞内の温度、および開発した熱量センサを用いて細胞外への熱の流れを測定し、細胞内外の熱の産生と流れを明らかにすることで細胞の熱力学モデルを構築することを目的とする。



マイクロ熱量センサの模式図

細胞の熱力学モデルの構築

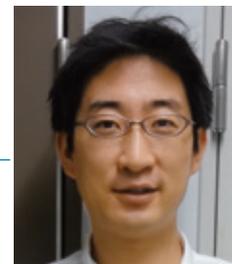
論文

1. Yamada T et al. Sensitive thermal microsensor with pn junction for heat measurement of a single cell. *Jan. J. Appl. Phys.* 55:027001 (2016).
2. Inomata N et al. Pico calorimeter for detection of heat produced in an individual brown fat cell. *Appl. Phys. Lett.* 100: 154104 (2012).

公募研究 研究項目A01

井上 飛鳥 [いのうえ あすか]

東北大学大学院 薬学研究科 分子細胞生化学分野 准教授



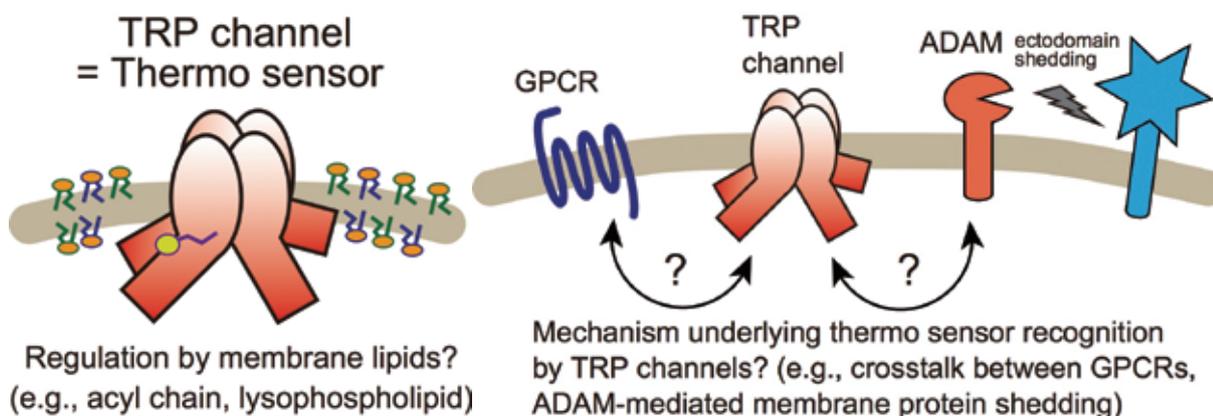
研究課題名

脂質が制御するTRPチャンネルによる温度感知システムの解明

研究概要

TRPチャンネルはさまざまな刺激に柔軟に応答し生体の恒常性の維持に重要な役割を持つ。近年、TRPチャンネルの活性化に影響を与える分子として脂質の重要性が指摘されている。このような脂質の多くは炎症などの刺激に応じて局所で生体膜から産生される。本研究者は刺激依存的に産生されるさまざまな脂質分子がTRPチャンネルの活性を制御し、温度感知システムを介して細胞・生体の機能の精密な調節を可能にしていると想定している。しかし、脂質によるTRPチャンネル制御の全体像が解明されているとはいえない。そこで、本新学術領域研究「温度生物学」において「(1)TRPチャンネルの活性に影響を及ぼす脂質を網羅的に探索し、TRPチャンネルと脂質の相互作用マップの構築」を研究の主軸にするとともに、「(2)リゾリン脂質感受性を示すTRPV1とTRPA1がマスト細胞脱顆粒や肝炎炎症に寄与するかどうか、さらにリゾリン脂質が温度感知システムとどのように関連するか」について検証する。例えば、(1)の研究からはこの相互作用を元にメタボロームのデータを再評価することで温度感知システムの変動を推定が可能となることが期待される。また、(2)の研究からはリゾリン脂質が制御する新たな温度感知システムの解明につながる。

これまでに本研究者は、Gタンパク質共役型受容体 (GPCR) の活性化検出法の開発とこれを用いたGPCRの生命現象の理解に取り組んできた。GPCRとTRPは種々の局面で協調して機能することが示されており、GPCRとTRPチャンネルのシグナルのクロストークという視点でも研究を展開したい。また、GPCRの活性化検出法に開発したTGF α 切断アッセイをTRPチャンネルに応用した解析から、TRPチャンネルと膜タンパク質のエクトドメイン切断に緊密な関連があることを見出しており、膜タンパク質のエクトドメイン切断を切り口とした温度感知シグナルの新たなメカニズムについても解明したい。



論文

- Okudaira M et al. Separation and quantification of 2-acyl-1-lysophospholipids and 1-acyl-2-lysophospholipids in biological samples by LC-MS/MS. *J. Lipid Res.* 55: 2178-2192 (2014).
- Makide K et al. Novel lysophospholipid receptors: their structure and function (review). *J. Lipid Res.* 55: 1986-1995 (2014).
- Inoue A et al. TGF α shedding assay: an accurate and versatile method for detecting GPCR activation. *Nat. Methods* 9: 1021-1029 (2012).

公募研究 研究項目A01

大倉 正道【おおくら まさみち】

埼玉大学大学院 理工学研究科 准教授



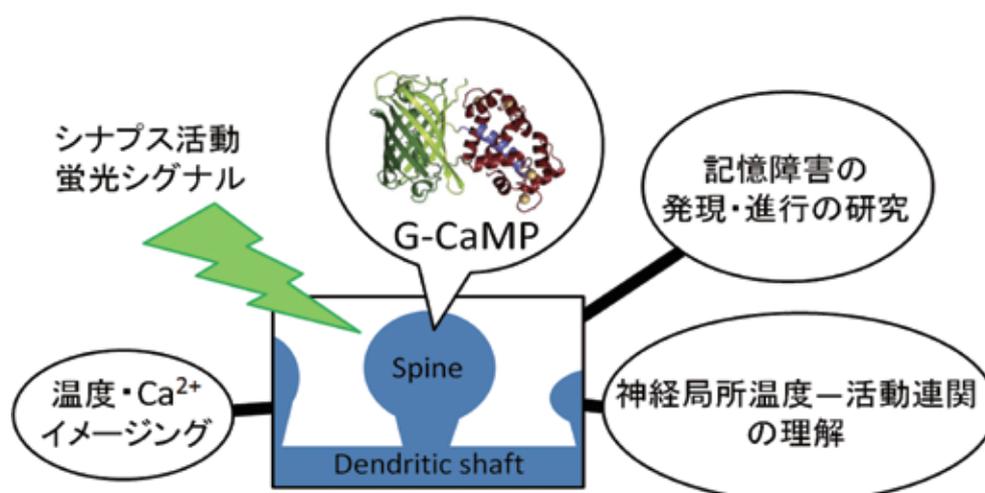
研究課題名

高感度カルシウムプローブを用いた神経局所温度—活動連関の研究

研究概要

私たちは、脳の情報処理を担う神経回路における個々のシナプスの活動を細胞内カルシウムイオンの濃度変化を指標として目で見えるようにしながら、精神疾患の発現・進行に伴うシナプスの機能変化を明らかにしたいと考えています。単一シナプス活動の検出には高い性能を備えたプローブが必要となります。私たちの強みはイメージングにあります。私たちは蛍光カルシウムプローブタンパク質G-CaMPを開発し、またその後の改良を通じて、生体内の細胞活動の検出を可能にできました。私たちが開発したG-CaMPは線虫、ハエ、ゼブラフィッシュ、マウス、ラット、サル等多くのモデル生物で応用されています。最新のG-CaMPでは、マウスやラットの脳においてシナプス前細胞の単一発火にตอบสนองしたシナプス後細胞の個々の樹状突起スパインのカルシウム活動を感度良く検出できることを確認しています。私たちは最新の高性能なプローブを使用できる環境にあります。

本研究ではシナプスの温度とCa²⁺の変化に注目します。海馬は記憶の形成や想起に関わる脳部位であり、海馬錐体細胞においてグルタミン酸作動性の興奮性シナプスの入力部位である個々の樹状突起スパインが記憶に重要であると考えられています。統合失調症等の一部の精神疾患では進行性の記憶障害が生じますが、その病態として海馬でのスパインの萎縮やスパイン数の減少等が明らかにされてきました。しかしこれらの病態がどのように進行しているのかは未だに解明されていません。そこで本研究では、進行性の記憶障害を誘発させる薬物の投与や遺伝子の操作によって個々のスパインの温度・Ca²⁺がどのように変化するのかを明らかにし、記憶障害の発現・進行に関わる神経局所温度—活動連関を解明することを目指します。



論文

1. Muto A et al. Real-time visualization of neuronal activity during perception. *Curr. Biol.* 23: 307-311 (2013).
2. Ohkura M et al. Genetically encoded green fluorescent Ca²⁺ indicators with improved detectability for neuronal Ca²⁺ signals. *PLoS ONE* 7: e51286 (2012).
3. Ohkura M et al. An improved genetically encoded red fluorescent Ca²⁺ indicator for detecting optically evoked action potentials. *PLoS ONE* 7: e39933 (2012).

公募研究 研究項目A01

藤原 祐一郎【ふじわら ゆういちろう】

大阪大学大学院 医学系研究科 生理学講座 (統合生理学) 准教授

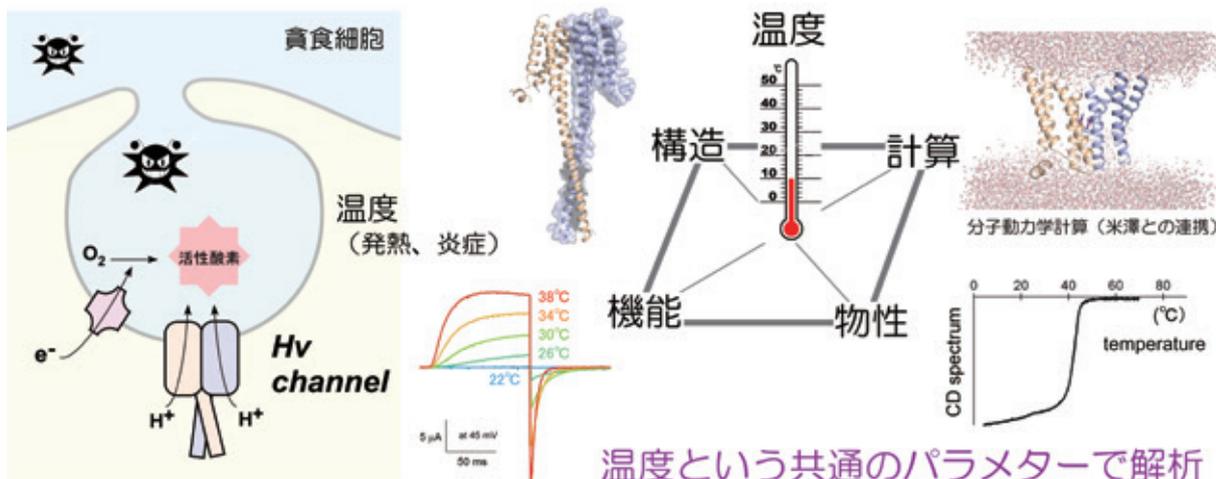


研究課題名

電位依存性チャンネルタンパク質の温度センシング機構の解明

研究概要

本研究は、体温付近の環境で高い温度依存性を呈し、白血球の温度センサーの一角を担う電位依存性H⁺チャンネル (Hv) をターゲットとし、電位依存性チャンネルタンパク質の温度センシング機構について明らかにすることを目的とする。その高い温度依存性を生み出す分子機構を明らかにし、電位依存性チャンネルの温度センシング機構を解明すること及び、他のタンパク質にも普遍的に通用する方法論的アプローチを確立することを目指して、タンパク質の構造-機能-物性を「温度という共通のパラメーター」を基軸として解析を行なう。計算科学を用い理論と実験の両側面からチャンネルタンパク質を解析し、各パラメーターの有機的なつながりを検討する。TRPチャンネルなどのより複雑な構成要素からなるイオンチャンネル全般の温度センシング機構の解明への応用も見据え、分子構成が最も小さい電位依存性チャンネルであるHvチャンネルの温度特性を解析することを通じて、チャンネルタンパク質が物理的な温度を受容し細胞の生物学的機能に変換出力していく理論的背景を明らかにしたい。



論文

1. Fujiwara Y et al. The cytoplasmic coiled-coil mediates cooperative gating temperature sensitivity in the voltage-gated H⁺ channel Hv1. *Nat. Commun.* 3: 816 (2012).
2. Fujiwara Y et al. Temperature-sensitive gating of voltage-gated proton channels. *Curr. Top. Membr. "Thermal Sensors"* 74: 259-292 (2014).
3. Takeshita K et al. X-ray crystal structure of voltage-gated proton channel. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 21: 352-357 (2014).
4. Okuda H et al. Direct interaction between the voltage-sensors produces cooperative sustained deactivation in voltage-gated H⁺ channel dimers. *J. Biol. Chem.* 14: 932-944 (2016).

公募研究 研究項目A01

中野 雅裕【なかの まさひろ】

大阪大学 産業科学研究所 生体分子機能科学研究分野 助教

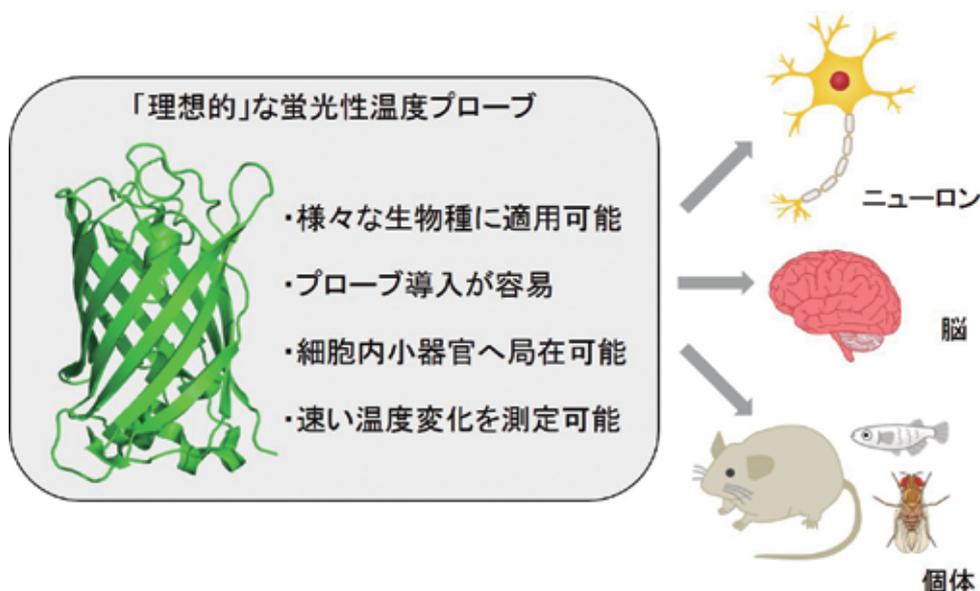


研究課題名

蛍光性温度プローブタンパク質の開発と生物への応用

研究概要

発生学での「力」の議論に見られるように、近年、物理的な視点による生物学の重要性が議論され始めている。生体内の重要なあらゆる反応に関わる「細胞内温度」に関してもここ数年でデータが出始め、詳細な議論が起ころつつある。これは細胞内温度計測技術が開発されている証拠でもある。これまでに温度感受性蛍光性ポリマーや蛍光タンパク質などを用いた蛍光性温度プローブが開発されており、1細胞内の温度分布の不均一性や褐色脂肪細胞のミトコンドリアの熱産生が可視化されている。さらに学術誌の誌面上で細胞内温度分布の不均一性が本当に存在するのかについて、理論的な計算も交えて活発な議論が行われている。しかし、現状の細胞内温度計測プローブ（人工色素タイプ、蛍光タンパク質タイプ）には多くの問題や課題がある。具体的には、1) 計測できる温度域がせまい、2) 細胞への導入方法が困難、3) 細胞内局在が難しい点などが挙げられ、実際全てを達成しているプローブは無い。理想的には「幅広い温度域で高感度な遺伝的コードによる細胞局在を制御できる蛍光タンパク質」の開発が必要であると考え。今後「温度生物学」の対象は、変温動物を含む生きた個体へと広がりつつ、一方で細胞内のオルガネラ機能と温度の関係にも広がっていくと予想される。そこで、この「理想的」な温度プローブ開発を行い、基盤技術としてこれからの温度生物学の発展を支えることを目的に本研究課題を遂行する。



論文

1. Tiwari DK et al. A fast- and positively photoswitchable fluorescent protein for ultralow-laser-power RESOLFT nanoscopy. *Nat. Methods* 12: 515-518 (2015).
2. Takai A et al. Expanded palette of Nano-lantern for real-time multi-color luminescence imaging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 112: 4352-4356 (2015).
3. Nakano M et al. Ca²⁺ regulation of mitochondrial ATP synthesis visualized at the single cell level. *ACS Chem. Biol.* 6: 709-715 (2011).

公募研究 研究項目A01

井藤 彰 [いとう あきら]

九州大学大学院 工学研究院 化学工学部門 准教授

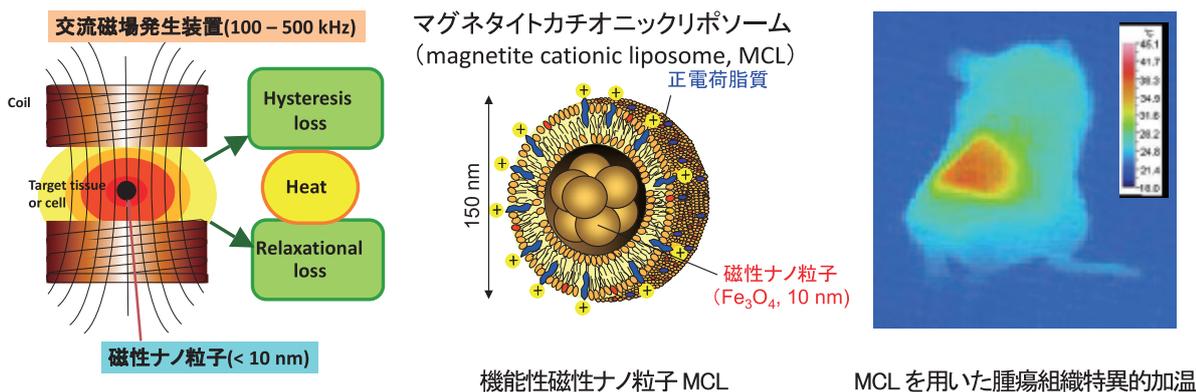


研究課題名

磁性ナノテクノロジーによる細胞内局所加温技術の創出

研究概要

磁性ナノ粒子は交流磁場中で発熱する特性をもつ。我々は、酸化鉄の10nmのマグネタイト粒子の表面を様々なバイオマテリアルで修飾することで、標的細胞指向型の機能性磁性ナノ粒子を開発してきた。この技術により、外部からの交流磁場照射によって、細胞を特異的に加温することに成功している。本研究では、1細胞から組織、さらには生体内局所加温が可能な本技術を用いて、温度生物学における加温制御技術を構築し、当該領域内での連携研究を積極的に行いたい。並行して、機能性磁性ナノ粒子とナノ蛍光温度プローブを細胞内に取り込ませて、交流磁場を照射しながら蛍光顕微鏡観察を行うことで、細胞内での磁性ナノ粒子の温度分布を可視化するシステムを構築する。このことにより、1細胞レベルで細胞内磁性ナノ粒子の発熱と細胞挙動のライブイメージングが可能になる。このシステムにより、細胞が温度を如何に知覚して生命現象を引き起こすかを明らかにする。方法論として、合成生物学的アプローチを導入して、レポーター遺伝子の発現を指標に細胞の熱ストレスを解析する。また、磁性ナノ粒子を合成生物学的アプローチで細胞内に生産させる方法を確立する。具体的には、細胞にフェリチン遺伝子を発現させて磁性ナノ粒子を細胞内で形成させることによって合成生物学的アプローチによる磁性ナノテクノロジーを創製する。遺伝子工学的に磁性ナノ粒子を細胞内合成することによって、細胞内輸送によるオルガネラターゲティングが可能となる。このことにより、オルガネラを磁性ナノ粒子で加温する新しい技術を確認する。本研究では、これらの技術要素を組み合わせることによって、細胞内を自在に加温し、その様子をライブイメージング可能であり、熱ストレスの評価が可能なシステムを構築する。



論文

1. Yamaguchi M et al. Heat-inducible gene expression system by applying alternating magnetic field to magnetic nanoparticles. *ACS Synth. Biol.* 3: 273-279 (2014).
2. Ito A et al. T-cell receptor repertoires of tumor-infiltrating lymphocytes after hyperthermia using functionalized magnetite nanoparticles. *Nanomedicine (Lond)* 8:891-902 (2013).
3. Ito A et al. Medical application of functionalized magnetic nanoparticles. *J. Biosci. Bioeng.* 100:1-11 Review (2005).

公募研究 研究項目A01

佐藤 陽子【さとう ようこ】

東亜大学 医療学部 医療工学科 教授



研究課題名

哺乳類精巣で正常精子形成に体温より低い温度が必要な理由を探る

研究概要

多くの哺乳類において、精細胞はその発生の過程で体細胞より2℃から7℃温度の低い条件下ではじめて正常な分化及び増殖をすることが知られている。しかし、哺乳類では多くの種類の体細胞と比較して、何故精細胞のみが体温より低い温度下でのみ正常精子形成を行うのかは明らかとなっていない。多くの哺乳類において腹腔内に精巣が留まる停留精巣では陰囊と比較し精巣温度の上昇によるストレスのため精子形成異常を示すと考えられているが、その詳細な仕組みは明らかではない。一方、ゾウや単孔類であるカモノハシやハリモグラでは停留精巣下で正常な精子形成を行うという他に類を見ない特徴を持つ(図1)。熱ストレスを受けた場合、精細胞はそのダメージの具合により、細胞死により除去するか、又は細胞を守り修復し分化増殖を行うかの運命を選択する。本研究では、まず、ゾウや単孔類精巣に特徴的な熱ストレス関連因子の発現状態を明らかにし、次に、熱ストレス耐性を持つゾウやカモノハシ精巣の精細胞培養系と熱ストレス耐性を持たないマウス精巣の精細胞培養系を用いてゾウや単孔類精巣に特徴的な分子の発現状態を変動させ、精子形成状態を解析することにより(図2)、熱ストレス回避による精子形成のメカニズムの普遍性について明らかにしたいと考えている。



図1.ゾウ及び単孔類の精巣位置
ゾウ画像 (Hildebrandt et al. 2000)
単孔類画像 (National geographicより)

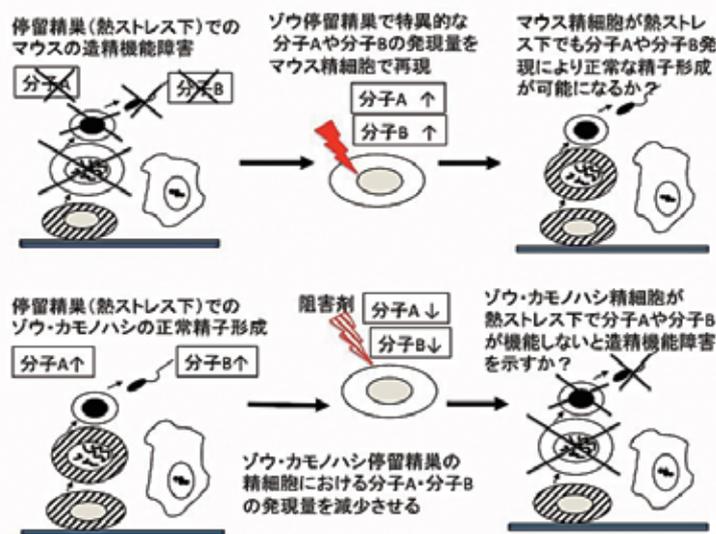


図2.ゾウ精巣での熱ストレス回避メカニズムの検討

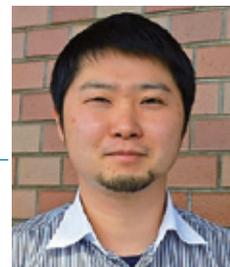
論文

1. Sato Y et al. Establishment of adult mouse Sertoli cell lines by using starvation method. *Reproduction* 145: 505-516 (2013).
2. Sato Y et al. Glycoconjugates recognized by peanut agglutinin lectin in the inner acellular layer of the lamina propria of seminiferous tubules in human testes showing impaired spermatogenesis. *Hum. Reprod.* 27: 659-668 (2012).
3. Sato Y et al. Xenografting of testicular tissue from an infant human donor results in accelerated testicular maturation. *Hum. Reprod.* 25: 1113-1122 (2010).

公募研究 研究項目A01

江藤 圭 [えとう けい]

自然科学研究機構 生理学研究所 基盤神経科学領域 生体恒常性発達研究部門 助教



研究課題名

一次体性感覚野における温度センシング機構とその経験依存的可塑的变化

研究概要

触覚、痛覚、温度などの感覚は末梢から一次体性感覚野 (S1) に伝達され処理される。例えば、触覚に関しては、それぞれの体部位に対応したS1領域で触覚情報処理が行われると共に、外界からの入力変化に伴いシナプス構造変化、神経細胞活動変化が起き、環境に適応した神経回路が形成される。感覚の一つである温度感覚は、外界環境の温度を認識する感覚であり、暑さ・寒さなどの温度変化を認識し、それに対処する生物の生存において重要な機能である。そのため、生体内では、温度を認識する温度センシング機構や温度を受容した後、体温を調節する温度調節機構が備わっている。温度センシング機構では温情報と冷情報などの温度情報は末梢における温度受容器によって検出され、末梢神経を介して一次体性感覚野 (S1) へと伝達される。S1領域は温刺激によって活性化することは人、サル、げっ歯類を用いた研究により明らかにされており、また、冷感覚についても、近年報告された研究により、S1には冷感覚に応答する細胞が存在することが明らかになった。このことからS1は温度センシング機構に重要な役割を担うと考えられている。しかし、S1興奮性・抑制性神経細胞が単一細胞レベルで温・冷情報をどのように処理しているか、温度情報に対応した細胞集団が存在するのかは全く不明である。さらに、この温度センシング神経回路は外界環境からの入力によって可塑的变化を起こすかについても不明である (下図)。そこで本課題では2光子顕微鏡を用いた*in vivo*イメージングにより細胞種特異的に単一細胞レベルの細胞活動の可視化するとともに、行動実験を組み合わせることで、S1における温度センシング機構およびその経験依存的変容機構を明らかにする。

・ S1 神経細胞が単一細胞レベルでどのように温度センシングに寄与するか?
 ・ S1 温度センシング神経回路は可塑的变化するのか?

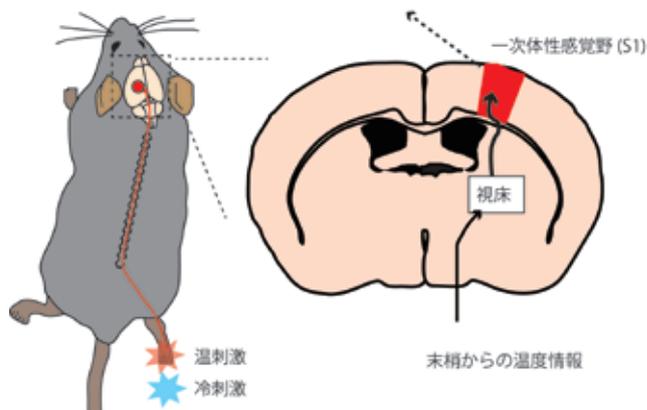


図 S1 における温度センシング

論文

1. Eto K et al. Enhanced GABAergic activity in the mouse primary somatosensory cortex is insufficient to alleviate chronic pain behavior with reduced expression of neuronal potassium-chloride cotransporter. *J. Neurosci.* 32: 16552-16559 (2012).
2. Eto K et al. Taltirelin, a thyrotropin-releasing hormone analog, alleviates mechanical allodynia through activation of descending monoaminergic neurons in persistent inflammatory pain. *Brain Res.* 1414: 50-57 (2011).
3. Eto K et al. Inter-regional contribution of enhanced activity of the primary somatosensory cortex to the anterior cingulate cortex accelerates chronic pain behavior. *J. Neurosci.* 31: 7631-7636 (2011).

公募研究 研究項目A01

神谷 厚範 [かみや あつのり]

国立研究開発法人 国立循環器病研究センター 研究所循環動態制御部 上級研究員



研究課題名

生動物の求心性神経 2 光子イメージングによる皮膚温度センシング機構のシステム同定

研究概要

生体（哺乳類等）の体温調節にとって、外部環境と接する身体表面皮膚における温度センシングは極めて重要です。この皮膚温度センシングは、皮膚に分布する求心性神経を柱として、直接間接に行われ、脳に温度情報を伝達します。ところが、温度センサー分子の発見や電気特性の解析、センサー分子ノックアウトマウスの行動解析等の研究が進んだ現在においても、皮膚求心性神経が、皮膚組織の内部において実際にどのように温度を感知するのか、その温度センシングの細胞レベルの実像は依然として明らかではありません。これは生体の体温調節機構を理解するのに必須な、温度生物学の重要な課題です。そこで本研究は、温度刺激（熱と冷却）を定量的に負荷し、それに対する皮膚求心性神経の温度センシング機構を、生動物 2 光子イメージングや生体システム同定で解明することを目指します。

システム同定とは、制御工学の柱を成す手法であり、機械を対象として、入力（たとえば、負荷電圧）に対する機械の出力応答（たとえば、自動車エンジン回転数）を周波数軸や時間軸で厳密に数理工学的に記述し、未来の入力に対する機械の出力応答を確実に予測すると共に、その機械の動作を制御する技術です。従来の考えでは、生体は機械とは異なり非線形であり、複雑であるために、厳密なシステム同定やシステム制御は不可能だと考えられてきました。ところが、この機械を対象とした制御工学を生体、とりわけ循環器系に適用してみたところ、自律神経-循環動態（血圧など）の関係は驚くほど線形であり、機械のようなシステム同定が可能で、入出力関係を伝達関数で記述できるばかりか、出力応答をほぼ完全に予測することが出来ること、さらに、循環動態のシステム制御が可能であることが分かりました。

さて、温度に関しては、どうなのでしょう。生体では、体温は、37°C 近傍に厳密に調節されています。外気温が変化しても、外乱には頑強であり、0.1°C すら容易には変化しません。エアコン機械では、温度測定は温度応答性半導体素子が行っており、これは工場出荷時に絶対温度（正しい温度計）にキャリブレーションされ、時不変で、また製品毎のばらつきはありません。

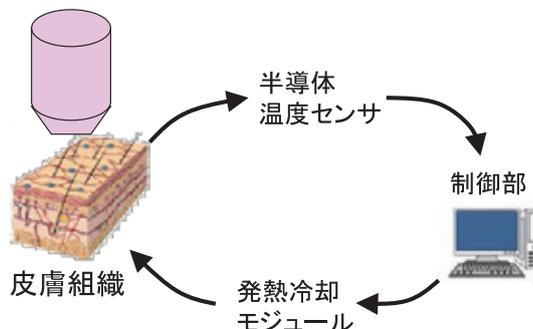
ところが、生体の温度センサーは、その温度感受性分子は多種多様であり、それら分子が様々な量で発現した神経細胞が組織内部に不均一に配置されている、その分子の量も配置も時変である、といった状況です。これで、一体、なぜ体温を一定値に安定に制御し続けることが出来るのでしょうか。本研究では、これらのことを念頭に、神経の温度センシング機構の実体を捉え、システム同定を試みます。

全身の求心性神経
の活動が光るラット



開発済

生動物 2 光子イメージング



論文

1. Kamiya A et al. Systems physiology of the baroreflex during orthostatic stress: from animals to humans. *Front. Physiol.* 8: 256 (2014).
2. Kamiya A et al. Closed-loop spontaneous baroreflex transfer function is inappropriate for system identification of neural arc but partly accurate for peripheral arc: predictability analysis. *J. Physiol.* 589: 1769-1790 (2011).
3. Kamiya A et al. Muscle sympathetic nerve activity averaged over 1 minute parallels renal and cardiac sympathetic nerve activity in response to a forced baroreceptor pressure change. *Circulation* 112: 384-386 (2005).

公募研究 研究項目A02

深田 吉孝【ふかだ よしたか】

東京大学大学院 理学系研究科 生物科学専攻 教授

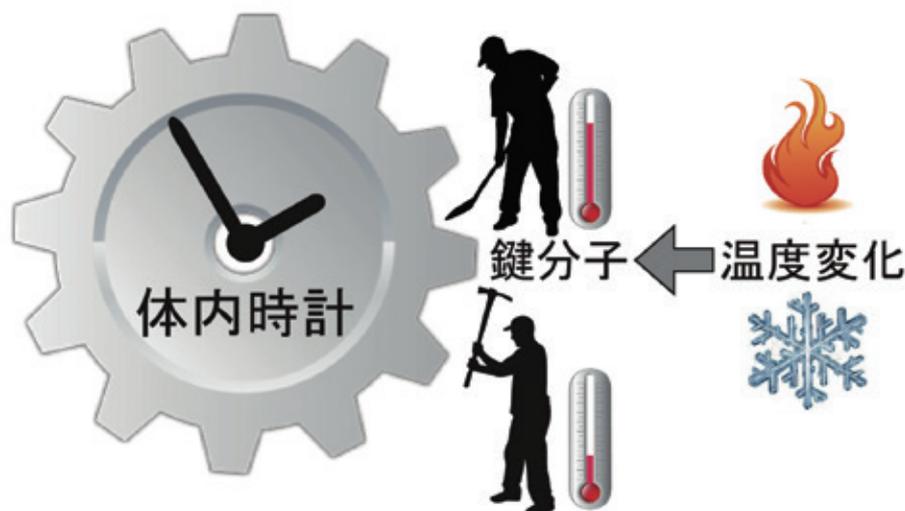


研究課題名

マウス体内時計の温度応答性を支える分子シグナリング

研究概要

約24時間周期の生物リズムを制御する概日時計は、時計遺伝子とその翻訳産物（時計タンパク質）が織りなす転写の負のフィードバック制御が24時間振動の基本骨格である。このような時計分子の歯車が刻む体内時計に対し、外部から様々な時刻情報が入力することにより、自律的な振動リズムは外界の環境サイクルと同期することができる。外部入力による体内時計の制御においては、細胞内シグナリングに伴う時計タンパク質の翻訳後修飾が重要な役割を果たすと考えられており、時空間制御された時計タンパク質による細胞内シグナリングと転写リズムの連携が注目を浴びるようになった。私共は、時計タンパク質のリン酸化やユビキチン化の重要性を世界に先駆けて報告してきた。時計タンパク質を修飾する酵素としてリン酸化キナーゼであるDYRK1、GSK3 β 、JNK、CaMKIIや、ユビキチン化を触媒するE3リガーゼFBXL3、FBXL21、UBE3A、さらに脱ユビキチン化酵素USP7、などの生理的な役割を示した。一方、細胞時計のレベルでは培地のpH変化や細胞ストレス、さらには温度変化などが培養細胞の時計振動の速度や時刻を制御するシグナルとして機能することが分かってきた。本研究では、時間生物学分野において難攻不落の城とも言える「温度」という環境因子の変化がどのような細胞内シグナルを介して体内時計の歯車に伝達されるのか、その鍵を握る因子を探索する。またPER2やCRYなどの時計タンパク質に焦点を絞り、これらの翻訳後修飾の観点から多彩な温度応答系の作動機構を明らかにする。このような解析により、生物が獲得した時計機構に温度センシングがいかに組み込まれたか、また温度変化に対して振動スピードがいかに一定に保持されているのか、という時間生物学の研究分野における大きな謎に迫る。



時計遺伝子・時計タンパク質が刻む体内時計の温度センシングに働く分子たちを求めて

論文

1. Hirano A et al. USP7 and TDP-43: Pleiotropic regulation of Cryptochrome protein stability paces the oscillation of the mammalian circadian clock. *PLoS ONE* 11: e0154263 (2016).
2. Yoshitane H et al. CLOCK-controlled polyphonic regulations of circadian rhythms through canonical and non-canonical E-boxes. *Mol. Cell. Biol.* 34: 1776-1787 (2014).
3. Hirano A et al., FBXL21 regulates oscillation of the circadian clock through ubiquitination and stabilization of cryptochromes. *Cell* 152: 1106-1118 (2013) with Cover illustration

公募研究 研究項目A02

武田 憲彦【たけだ のりひこ】

東京大学大学院 医学系研究科 循環器内科 特任講師



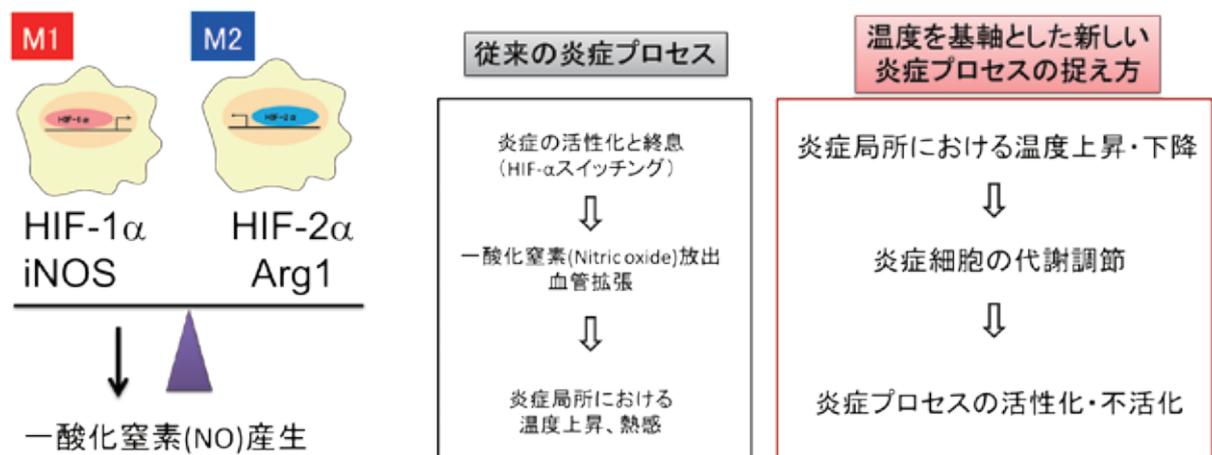
研究課題名

温度が炎症細胞の代謝、機能に与える影響の解析

研究概要

急性炎症の四徴として、古くから発赤、疼痛、腫脹および熱感が知られている。炎症局所における血管拡張は局所的な温度上昇の原因となるが、この過程においてアミノ酸の一つ-arginineを基質とした細胞内代謝応答により一酸化窒素 (Nitric oxide, NO) が産生される。NOは炎症プロセスのみならず、血管トーン調節においても重要な役割を果たすことが知られている。我々はこれまで低酸素応答型転写因子 (Hypoxia inducible factor (HIF)- α) の働きに着目し、マクロファージおよび血管トーン調節する皮膚ケラチノサイトにおけるNO産生制御機構について解析を行ってきた。その結果、HIF- α の主要なアイソフォームであるHIF-1 α およびHIF-2 α がそれぞれNOを産生する誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS)、NO産生を負に制御するArginase1 (Arg1) を誘導することを明らかにしてきた (HIFスイッチング)。HIFスイッチングは炎症プロセスの活性化およびその収束において重要であるのみならず、血管トーン調節および血圧調節においても中心的役割を果たしていた。

現在、我々はマクロファージをはじめとする炎症細胞における細胞内代謝応答機構とその機能関連プロセスにつき解析を進めている。特に細胞外温度環境が、マクロファージの細胞内代謝リプログラミングを介してどのように炎症プロセスのon/off調節に寄与しているのかについて解析を進める。併せてミトコンドリア機能を含めた細胞内基質代謝プロセスにおいて細胞外温度変化が与える影響についても解明を進める。これらのアプローチにより、温度調節を介して細胞機能が積極的に制御されているプロセスを見出したい。



論文

1. Semba H et al. HIF-1 α -PDK1 axis induced active glycolysis plays an essential role in macrophage migratory capacity. *Nat. Commun.* 7: 11635 (2016).
2. Cowburn AS et al. HIF isoforms in the skin differentially regulate systemic arterial pressure. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 110: 17570-17575 (2013).
3. Takeda N et al. Differential activation and antagonistic function of HIF α isoforms in macrophages are essential for NO homeostasis. *Genes Dev.* 24: 491-501 (2010).

公募研究 研究項目A02

酒井 寿郎【さかい じゅうろう】

東京大学 先端科学技術研究センター 代謝医学分野 教授

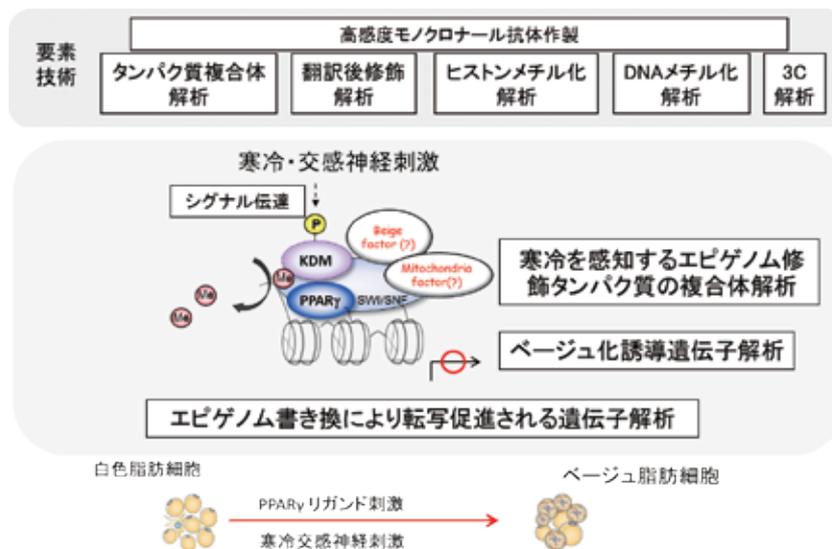


研究課題名

寒冷感知センサーとして働くエピゲノム酵素によるベージュ脂肪細胞の解明

研究概要

ヒト哺乳類やげっ歯類においては、寒冷刺激に対して白色脂肪組織が熱産生能を獲得し、長期間にわたる寒冷環境下に適応していく仕組みがある。この現象は白色脂肪細胞の褐色化、あるいはベージュ化と命名されている。本研究では、ベージュ化と言われるこの寒冷環境に適応する体質をどう獲得していくかを解明する。概要としては、「寒冷（交感神経）刺激で細胞内に伝達される刺激は、どのようにシグナル感知され、どのような転写因子やクロマチン制御タンパク質、ヒストン修飾酵素と複合体が形成され、細胞にエピゲノムとして書き込まれ、記憶されていくのか」という本質的な課題に対して、ベージュ細胞の成立過程を明らかにする。我々がすでに明らかとした寒冷シグナル感知センサーであるエピゲノム修飾タンパク質に着目して解析を行う。皮下脂肪組織由来の不活化脂肪細胞株を用い、寒冷交感神経刺激（β-アドレナリン受容体アゴニスト）あるいはブロッカー、PPARγアゴニストなどの刺激でベージュ化を誘導させ、このときのエピゲノム変化をクロマチン免疫沈降させたのちに次世代シーケンサーによる解析（ChIP-Seq）を行う。さらに、ベージュ化時に特異的に形成されるエピゲノム修飾タンパク質複合体を、免疫沈降と質量分析によって同定する。熱産生の細胞機能の評価をフラックスアナライザー解析から行う。さらに、個体レベルでの解析のために、（寒冷シグナルを感知アミノ酸に変異をいれたノックインマウス）を用いて、代謝ケージ解析を行う。



論文

1. Inagaki T et al. Transcriptional and epigenetic control of brown and beige adipose cell fate and function. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* (2016).
2. Abe Y et al. JMJD1A is a signal-sensing scaffold that regulates acute chromatin dynamics via SWI/SNF association for thermogenesis. *Nat. Commun.* 6: 7052 (2015).
3. Matsumura Y, and Sakai J. et al., H3K4/H3K9me3 Bivalent Chromatin Domains Targeted by Lineage-Specific DNA Methylation Pauses Adipocyte Differentiation. *Mol. Cell* 60: 584-596 (2015).

公募研究 研究項目A02

田中 光一【たなか こういち】

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子神経科学分野 教授

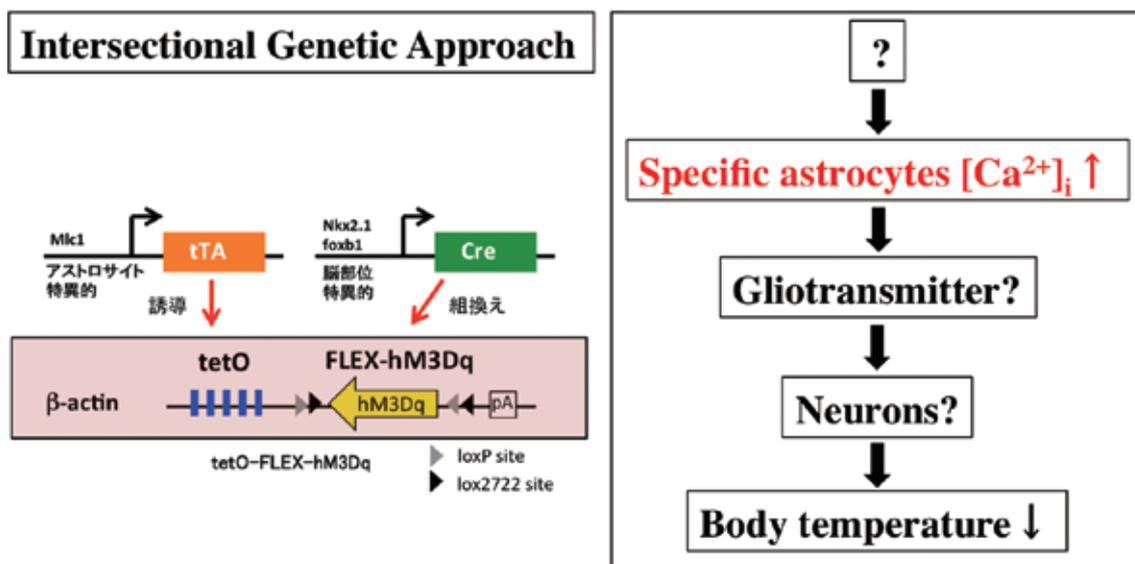


研究課題名

アストロサイトによる体温調節機序の解明

研究概要

体温調節に関与する神経回路に比べ、アストロサイト回路の研究は少ない。最近、アストロサイト全体に人工リガンドのみに反応するデザイナー受容体 (hM3Dq) を発現させたマウスを用い、人工リガンド投与によりアストロサイト内のカルシウムイオン濃度を上昇させると、マウスの体温が2.8度低下することが示された。アストロサイトの活動の指標は細胞内カルシウムイオンの濃度変化なので、上記結果は、アストロサイトが主体的に体温調整に関与していることを示唆している。しかし、どの脳部位のアストロサイト内カルシウムイオン濃度の上昇が、どのような機序で体温低下に関与しているのか、不明である。我々は、最近、intersectional approachを用い、特定脳領域のアストロサイトのみの細胞内カルシウムイオン濃度を人工リガンドで増加できるツールを開発した。本研究では、このツールを用い、どの脳部位のアストロサイト内カルシウムイオン濃度の上昇が体温低下に関与するのかを明らかにする。次に、同定した脳部位にマイクロダイアリシスプローブを置き、その部位のアストロサイト内カルシウムイオン濃度を上昇させた際にアストロサイトから放出されるグリア伝達物質を同定し、それが作用する神経細胞を明らかにする。



論文

1. Aida T et al. Cloning-free CRISPR/Cas system facilitates functional cassette knockin in mice. *Genome Biol.* 16: 87 (2015).
2. Aida T et al. Astroglial glutamate transporter deficiency increases synaptic excitability and leads to pathological repetitive behaviors in mice. *Neuropsychopharmacol.* 40: 1569-1579 (2015).
3. Cui W et al. Glial dysfunction in the mouse habenula causes depressive-like behaviors and sleep disturbance. *J. Neurosci.* 34: 16273-16285 (2014).

公募研究 研究項目A02

神吉 智丈 [かんき ともたけ]

新潟大学大学院 医歯学総合研究科 機能制御学分野 教授

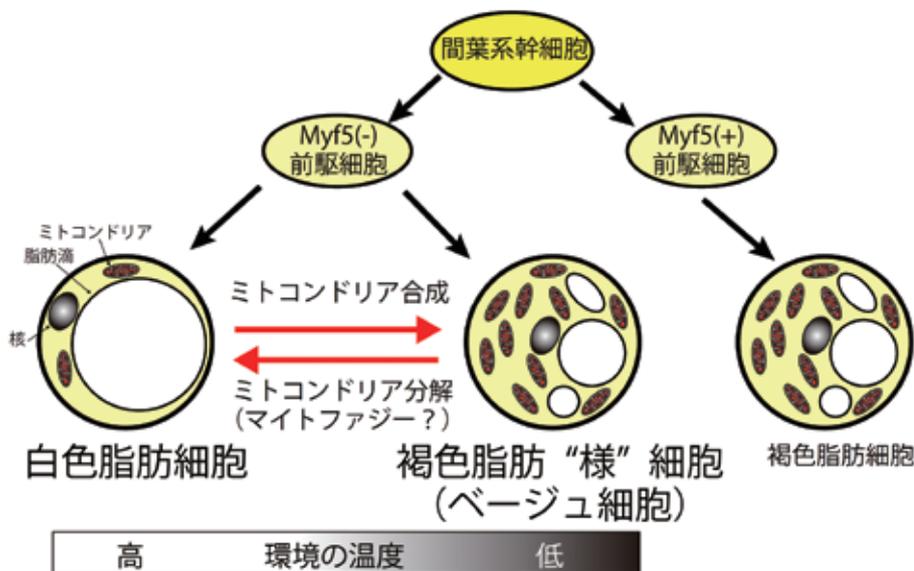


研究課題名

ミトコンドリア分解からみた体温調節機構の解析

研究概要

ミトコンドリアオートファジー (マイトファジー) は、細胞内の唯一のミトコンドリア分解機構である。白色脂肪組織中の褐色脂肪“様”細胞 (以下、ベージュ細胞) には、ミトコンドリアと熱産生に関わるミトコンドリア脱共役タンパク質が非常に多く存在し、重要な熱産生器官として働く。ベージュ細胞は、低温刺激により白色脂肪細胞から分化転換することで発生し、温暖環境へ順応する過程で白色脂肪細胞へ退行する。こうした白色脂肪組織で起こるベージュ細胞の増減は、重要な環境温度への順応機構であるが、この過程で必ずダイナミックなミトコンドリア量の増減を伴っている。ミトコンドリア量の増減は、ミトコンドリア生成と分解のバランスで成り立つが、本研究では、ミトコンドリア分解 (マイトファジー) に焦点を当てる。即ち、環境温度変化に応答し制御されるマイトファジーの分子機構と生理的意義の解明を目的とする。具体的には、①脂肪組織における温度環境変化に応答したマイトファジーレベルの経時的な観察、②環境温度変化に応答したマイトファジー誘導の生理的意義の解明、③前駆脂肪細胞培養を用いた脂肪細胞におけるマイトファジーの分子機構の解明、を目指す。



論文

1. Hirota Y et al. Mitophagy is primarily due to alternative autophagy and requires the MAPK1 and MAPK14 signaling pathways. *Autophagy* 11: 332-343 (2015).
2. Aihara M et al. Tor and the Sin3-Rpd3 complex regulate expression of the mitophagy receptor protein Atg32 in yeast. *J. Cell Sci.* 127: 3184-3196 (2014).
3. Kanki T et al. Casein kinase 2 is essential for mitophagy. *EMBO Rep.* 14: 788-794 (2013).

公募研究 研究項目A02

塩見 邦博【しおみ くにひろ】

信州大学 学術研究院 繊維学系 准教授



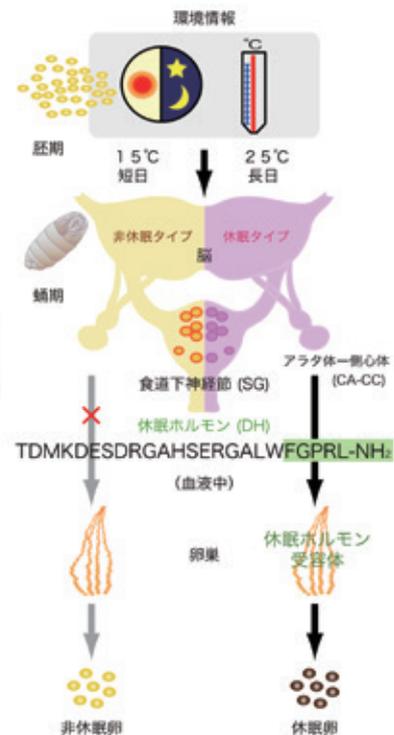
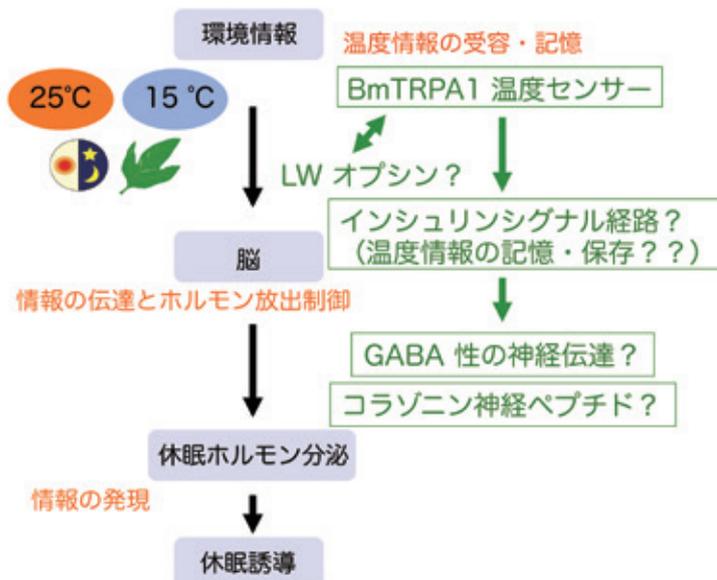
研究課題名

カイコの休眠誘導における環境温度応答システム

研究概要

カイコ (*Bombyx mori*) は、胚発生の初期に細胞分裂を停止し、休眠に入る。二化性のカイコでは、母蛾の胚期の温度や光 (日長) 条件により母性効果として、次世代卵の休眠性が決定する。例えば、卵を25℃に保護すれば次世代卵は休眠する。15℃では次世代は非休眠卵となり、約 1 週間で幼虫が孵化する。このように、親が受けた温度情報が記憶・保存され、子供 (胚) の運命 (表現型) がプログラミングされるという親子 2 世代にわたった独自の環境温度応答システムをもつ。これまでの研究で、母蛾の胚期に温度センサーである BmTRPA1 が約21℃以上の環境温度を受容し、その活性化によって、蛹期に休眠ホルモンの放出が促進されることを明らかにした。現在、環境温度および光 (日長) 情報の受容から情報の統合を経て、休眠性の決定に繋がる約一ヶ月間に渡る分子・神経ネットワーク機構の解析を RNA-seq 解析および遺伝子組み換えカイコを駆使して進めている。

休眠誘導と温度応答システム仮説
—環境温度の受容からホルモン分泌に繋がる分子ネットワーク—



論文

1. Shiomi K et al. Disruption of diapause induction by TALEN-based gene mutagenesis in relation to a unique neuropeptide signaling pathway in Bombyx. *Sci. Rep.* 5: 15566 (2015).
2. Sato A et al. Embryonic thermosensitive TRPA1 determines transgenerational diapause phenotype of the silkworm, Bombyx mori. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111: E1249-E1255 (2014).
3. Uehara H et al. An FXPRLamide neuropeptide induces seasonal reproductive polyphenism underlying a life-history tradeoff in the tussock moth. *PLoS ONE* 6: e24213 (2011).

公募研究 研究項目A02

中川 貴之【なかがわ たかゆき】

京都大学 医学部附属病院 薬剤部 准教授 / 副薬剤部長

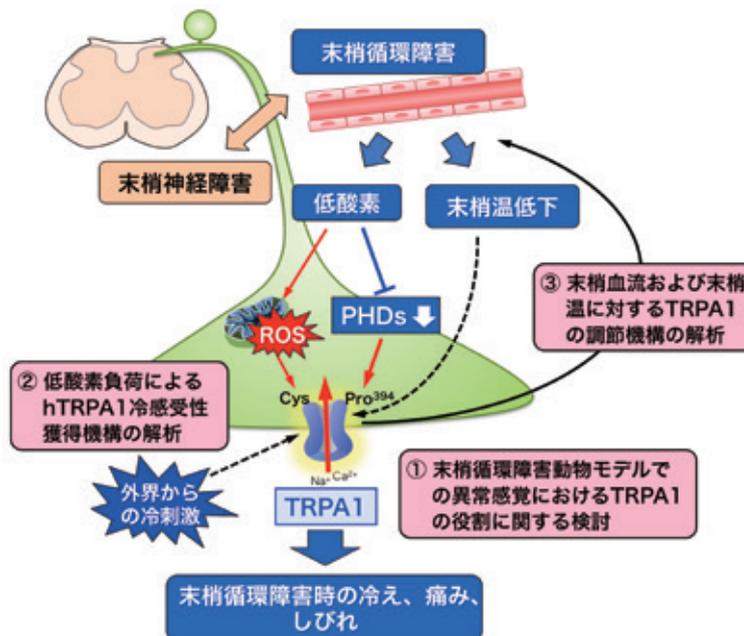


研究課題名

末梢循環障害に伴う末梢温低下による不快な異常感覚におけるTRPA1の役割の解析

研究概要

冷え性の患者や、末梢閉塞性動脈疾患、糖尿病などの患者において、末梢循環障害により末梢温が持続的に低下すると、四肢末端の冷え、痛み、しびれなどの不快な異常感覚が生じる。その原因として、末梢循環障害による低酸素負荷や末梢温低下により感覚神経の機能異常が生じ、外界からの冷刺激により不快な異常感覚が発生すると推察されるが、その詳細は明らかでない。我々はこれまで、白金系抗がん剤オキサリプラチンに特有の副作用として冷刺激により四肢末端のしびれ・異常感覚が誘発されることに着目し、その分子機構を解析してきた^{1,3)}。その結果、オキサリプラチン代謝物oxalateが酸素感受性プロリン水酸化酵素 (PHD) を抑制し、PHDによる侵害受容器TRPA1のN末端394番目のプロリン残基 (Pro³⁹⁴) の水酸化を解除することで、活性酸素種 (ROS) に対する感受性が増大し、さらに、正常時には冷刺激に対して応答を示さないhTRPA1においても顕著な冷感受性を示すことを見出している。本研究では、末梢循環障害に伴う低酸素状態および末梢温低下による冷え、痛み、しびれなどの不快な異常感覚の発生機構を、ROSや冷刺激に対するTRPA1感受性増強/獲得という観点から解明する。さらに、TRPA1による末梢血流や末梢温の調節機構についても検討し、末梢循環障害と末梢温低下、不快な異常感覚とTRPA1の関連の全体像を明らかにする。



論文

1. Miyake T et al. Cold sensitivity of TRPA1 is unveiled by the prolyl hydroxylation blockade-induced sensitization to ROS. *Nat. Commun.* 7: 12840 (2016).
2. So K et al. Hypoxia-induced sensitization of TRPA1 in painful dysesthesia evoked by transient hindlimb ischemia/reperfusion in mice. *Sci. Rep.* 6: 23261 (2016).
3. Zhao M et al. Acute cold hypersensitivity characteristically induced by oxaliplatin is caused by the enhanced responsiveness of TRPA1 in mice. *Mol. Pain* 8: 55 (2012).

公募研究 研究項目A02

藤田 潤【ふじた じゅん】

京都大学大学院 医学研究科 遺伝医学講座 客員研究員



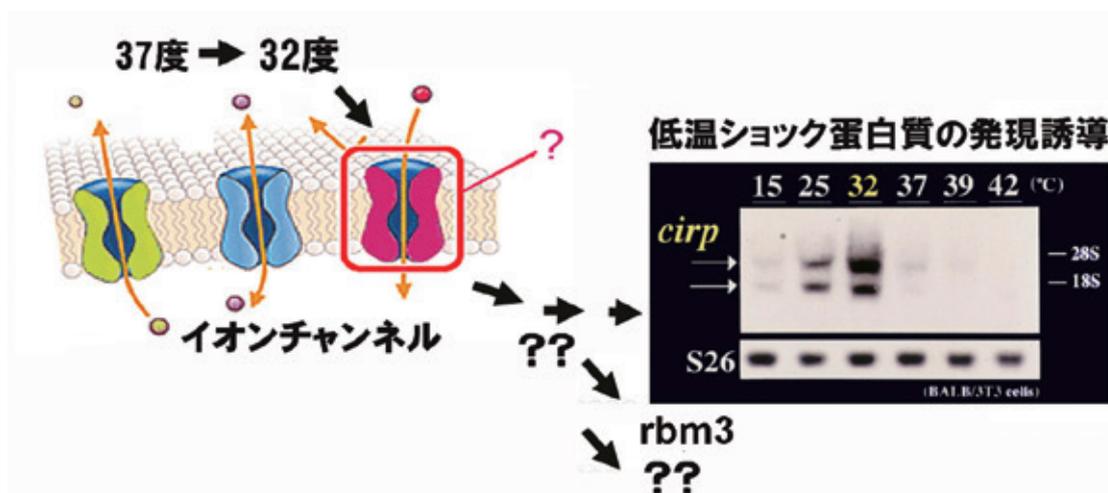
研究課題名

哺乳類低温ショック蛋白質の発現制御機構と機能に関する研究

研究概要

通常で軽度低温環境下にある哺乳類精子形成細胞は、一般の細胞とは逆に、37度環境下に置かれると、増殖・分化が阻害される。我々が発見した哺乳類低温ショック蛋白質Cold-inducible RNA-binding protein (Cirp) 及びRbm3 は、32度で発現が亢進し、増殖促進あるいは抑制作用を示す。Cirpは精子形成、概日リズム、炎症、発癌、創傷治癒、DNA損傷修復にも関係する。

Cirpの発現制御機構、特に温度センサーやシグナル伝達機構は全く解明されていない。最近、あるイオンチャンネルファミリーの阻害剤が、32度でのCirp発現誘導を阻害することを見いだした。本研究では、イオンチャンネルファミリーのどのメンバーがCirp及びRbm3の発現誘導に関与するのかを明確にし、発現誘導へ到るシグナル伝達機構を明らかにする。さらにこの知見をもとに、新たな哺乳類低温ショック蛋白質の同定を試みる。低温ショック蛋白質との関連から、このイオンチャンネルファミリーの新たな生理機能や病因としての意義、Cirpの関係する病態の治療薬の開発を目指す。



論文

1. Qiang X et al. Cold-inducible RNA-binding protein (CIRP) triggers inflammatory responses in hemorrhagic shock and sepsis. *Nat. Med.* 19: 1489-1495 (2013).
2. Masuda T et al. Cold-inducible RNA-binding protein (Cirp) interacts with Dyrk1b/Mirk and promotes proliferation of immature male germ cells in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109: 10885-10890 (2012).
3. Morf J et al. Cold-inducible RNA-binding protein modulates circadian gene expression posttranscriptionally. *Science* 338: 379-383 (2012).

公募研究 研究項目A02

小川 渉【おがわ わたる】

神戸大学大学院 医学系研究科 内科学講座 糖尿病内分泌内科学部門 教授

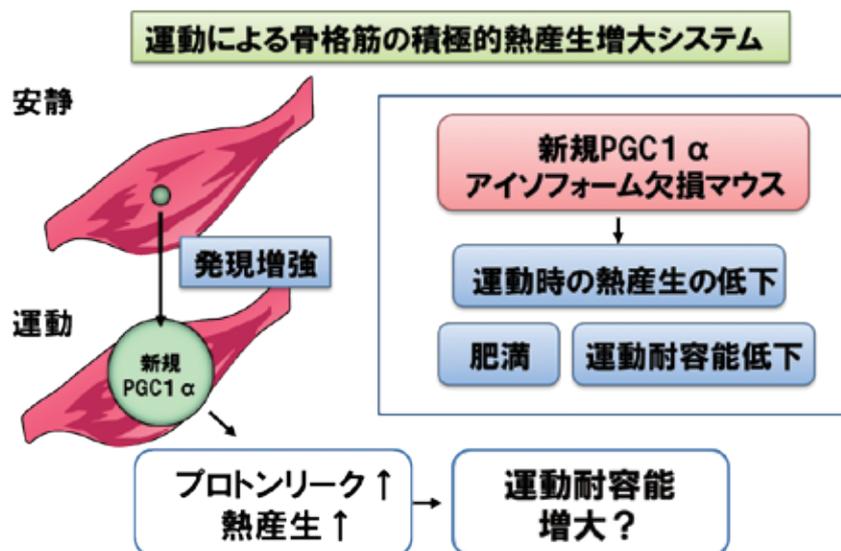


研究課題名

運動による積極的熱産生増大システムの温度生物学的意義とその制御機構の解明

研究概要

PGC1 α はエネルギー代謝制御に重要な機能を担う転写コアクチベーターであり、骨格筋や褐色脂肪の熱産生にも関わる可能性が報告されている。我々は骨格筋で運動により顕著に発現が増加するPGC1 α 新規アイソフォームを特異的欠損マウスを作成した。このマウスでは、運動時のエネルギー消費が特異的に抑制されていると考えられた。このマウスは加齢に伴い肥満すること、低強度の運動は可能だが強度の運動負荷に対する耐容能が顕著に低下していることも明らかとなった。また、PGC1 α 新規アイソフォームを骨格筋細胞に強制発現するとミトコンドリアproton leakが亢進し、新規アイソフォームを欠損マウスは運動時の体温上昇が障害されていた。これらの知見から、PGC1 α 新規アイソフォームは運動時に骨格筋で発現が増加することにより、proton leakの増大を通じて熱産生を促し、運動時の体温/骨格筋温を上昇させる機能を持つこと、また、このような運動時の熱産生の増加は、良好な運動耐容能と適切な脂肪量の維持に重要な機能を果たすと考えられた。また、従来、運動時の熱産生は骨格筋のエネルギー消費増大に伴って、二次的に生じるものが主体と考えられていたが、今回の知見は、骨格筋では運動時にPGC1 α 新規アイソフォームの発現増加によりproton leakの亢進を通じて、積極的に熱産生を増大させるシステムが存在することを示すと考えられる。今後、このような運動による積極的熱産生増大システムの詳細な制御機構と生理的・病理的意義について明らかとしたい。



運動時の骨格筋の熱産生増大が運動能力の維持に寄与？

論文

1. Ohashi K et al. Glucose homeostatic law: Insulin clearance predicts the progression of glucose intolerance in humans. *PLoS ONE*. 10: e0143880 (2015).
2. Kubota H et al. Temporal coding of insulin action through multiplexing of the AKT pathway. *Mol. Cell* 46: 820-32 (2012).
3. Takashima M et al. Role of KLF15 in regulation of hepatic gluconeogenesis and metformin action. *Diabetes* 59:1608-1615 (2010).

公募研究 研究項目A02

浅野 知一郎【あさの ともいちろう】

広島大学大学院 医歯薬保健学研究院 医化学教室 教授



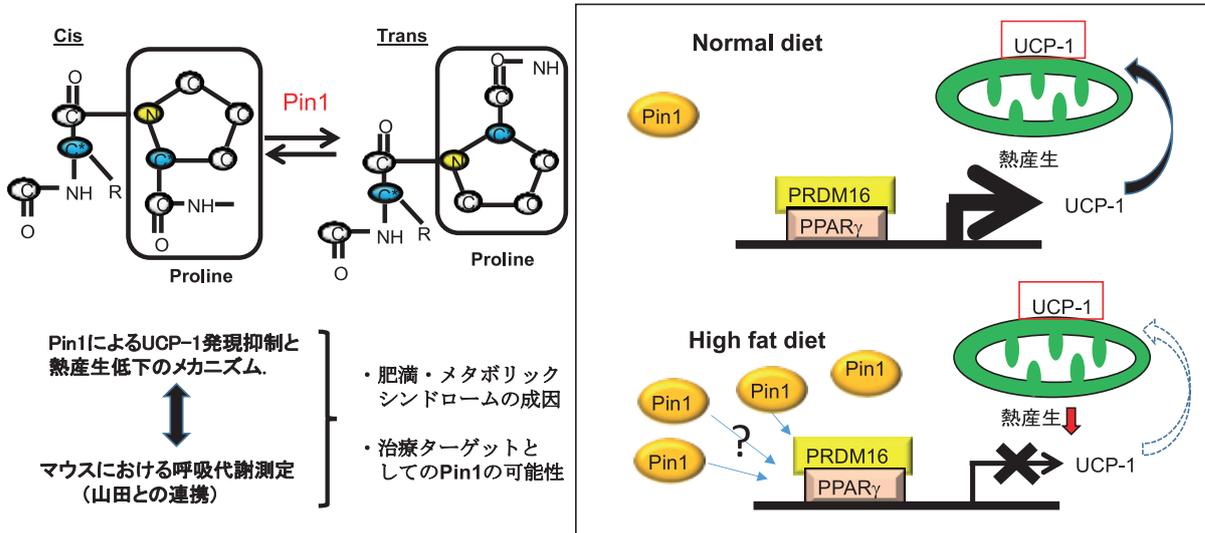
研究課題名

温度変化による生体機能の変化に寄与するプロリン異性化酵素Pin1の役割

研究概要

我々は、マウスを寒冷刺激すると、脂肪組織や筋肉でPin1の発現量が顕著に増加すること、Pin1 KOマウスでは寒冷刺激によるUCP-1の発現増加量が高く、体温低下が軽度であることを発見した。すなわち、Pin1は脂肪組織における熱産生と代謝のバランスや脂肪細胞の褐色化制御に関与することが示唆される。さらに、Pin1は神経機能、炎症、細胞増殖など広範な機能を有しているため、本課題では脂肪組織以外にも高温、低温条件下におけるPin1蛋白質量の変化と、その意義について解明する。また、脂肪細胞では寒冷刺激時のPin1タンパク量の増加は顕著であるがmRNA量には殆ど変化がないことから、温度依存性のPin1タンパク分解速度制御が存在する可能性が高く、その機構を詳細に解明する。

加えて興味深いことに、Pin1が標的タンパクと結合する部位であるWWドメインは、温度によってフォールディング状態が変化することが知られている。これは、Pin1の標的タンパクが温度依存性に变化する可能性を示唆しており、我々は温度変化に伴うPin1結合タンパクの変化を網羅的に解析し、Pin1が温度センサーとして機能する可能性についても検討する。



論文

1. Nakatsu Y et al. Prolyl isomerase Pin1 negatively regulates AMPK by associating with the CBS domain in the γ -subunit. *J. Biol. Chem.* 290: 24255-24266 (2015).
2. Fukushima T et al. Nedd4-induced monoubiquitination of IRS-2 enhances IGF signalling and mitogenic activity. *Nat. Commun.* 6: 6780 (2015).
3. Nakatsu Y et al. Role of Pin1 protein in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis in a rodent model. *J. Biol. Chem.* 287: 44526-44535 (2012).

公募研究 研究項目A02

野村 真【のむら ただし】

京都市立医科大学大学院 医学研究科 神経発生生物学 准教授



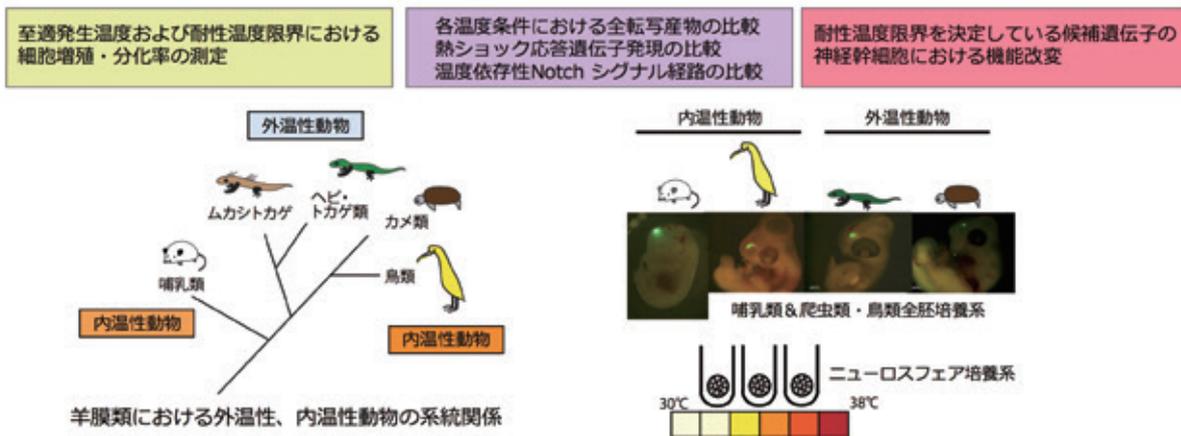
研究課題名

温度依存的・非依存的な胚発生速度を規定する分子機構の解明

研究概要

胚発生プロセスは胚体外の温度環境に強く依存している。一般的に哺乳類や鳥類胚の発生至適温度は37°C前後であり、これは妊娠中あるいは抱卵中の母体の体温と一致する。一方多くの爬虫類胚は30°C前後の至適温度で発生プロセスが進行し、これは生息環境の外気温と一致している。いずれの動物においても、至適温度の範囲内では発生速度は温度に依存して変化するが、耐性温度限界を超えると発生プロセスは急速に停止する。このような生物固有の至適発生温度、さらにその限界値を決定している分子機構については未解明であり、特に脊椎動物の胚発生過程と胚体外温度との関連はほとんど解析されていない。そこで本研究課題では、外温性・内温性を含む様々な羊膜類胚を対象として、胚体外温度依存的・非依存的な発生速度を規定する分子機構を明らかにする。特に中枢神経系の発生速度(細胞増殖・分化率)に着目し、異なる温度条件下での神経幹細胞の動態の種間比較を行い、同時に幹細胞での遺伝子発現の変動を網羅的に解析する。さらに、外温性動物胚の温度非依存的な発生プロセスを保証する機構として熱ショック応答遺伝子群、またNotch受容体のエンドサイトーシス制御遺伝子群に着目する。こうした解析により、胚体外温度変化に依存しない頑強な発生プロセスが内温性獲得に及ぼした進化的意義を解明することが本研究の最終目標である。

温度依存的・非依存的な発生速度を規定する分子機構とその進化過程の解明



論文

1. Nomura T et al. Evolution of basal progenitors in the developing non-mammalian brain. *Development* 143: 66-74 (2016).
2. Nomura T et al. Changes in the regulation of cortical neurogenesis contributed to encephalization during amniote brain evolution. *Nat. Commun.* 4: 2206 (2013).
3. Nomura T et al. EphB controls lineage plasticity of adult neural stem cell niche cells. *Cell Stem Cell* 7: 730-743 (2010).

公募研究 研究項目A02

高橋 将文 【たかはし まさふみ】

自治医科大学 分子病態治療研究センター 炎症・免疫研究部 教授

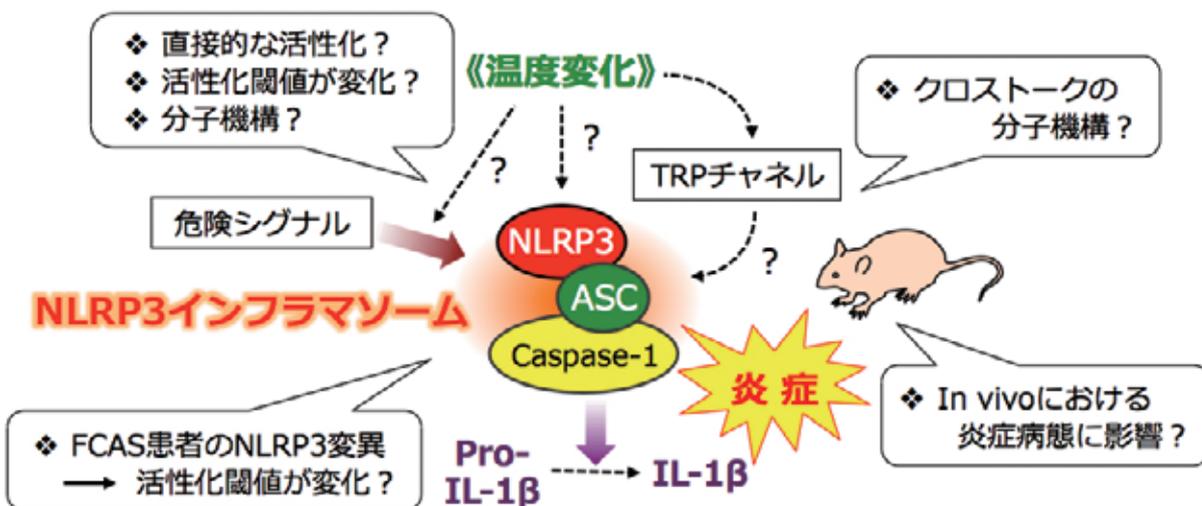


研究課題名

温度変化によって誘導されるインフラマソームを介した炎症惹起機構の解明

研究概要

近年、様々な疾患における無菌性炎症がNLRP3インフラマソームと呼ばれる細胞内に形成される分子複合体を介して引き起こされていることが明らかになってきた。NLRP3インフラマソームは、パターン認識受容体の一つであるNLRP3とアダプター分子であるASC、さらにカパーゼ-1から構成され、その活性化によって炎症性サイトカインであるIL-1 β の前駆体が成熟型へとプロセッシングされて分泌されることにより、炎症が惹起される。一方、NLRP3に遺伝子変異を持つ家族性寒冷自己炎症症候群 (FCAS) では、温度変化によってインフラマソームが活性化されて炎症が惹起されることが知られていることから、温度変化がNLRP3インフラマソームの活性化に直接あるいは間接的に影響を及ぼしていることが推測される。本研究では、温度変化がインフラマソーム活性化に作用する分子機構を解析し、温度変化によって誘導されるインフラマソームの役割を解明するとともに、生体の炎症病態における温度変化による影響を明らかにすることを目的に研究を行う。



論文

1. Usui F et al. Inflammasome activation by mitochondrial oxidative stress in macrophages leads to the development of angiotensin II-induced aortic aneurysm. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 35: 127-136 (2015).
2. Mizushina Y et al. NLRP3 protein deficiency exacerbates hyperoxi-induced lethality through Stat3 protein signaling independent of interleukin-1 β . *J. Biol. Chem.* 290: 5065-5077 (2015).
3. Inoue Y et al. NLRP3 regulates neutrophil function and contributes to hepatic ischemia-reperfusion injury independently of inflammasomes. *J. Immunol.* 192: 4342-4351 (2014).

公募研究 研究項目A02

中村 隼明 [なかむら よしあき]

自然科学研究機構 基礎生物学研究所 生殖細胞研究部門 日本学術振興会特別研究員 (PD)



研究課題名

鳥類精子形成の耐高温戦略の解明

研究概要

本研究の目的は、精子形成の温度感受性を鳥類とほ乳類の間で比較検討し、脊椎動物が恒温性を獲得する際に講じた精子形成の耐高温戦略を解明することである。ほ乳類の精巣は陰嚢内に存在し、腹腔内よりも3~4℃低い温度（低温環境）で正常な精子形成が起こるが、腹腔内（高温環境）に留まると精子形成は著しく障害される。これに対して、同じく恒温動物である鳥類では精巣が腹腔内に留まったまま精子形成を行う。現在の定説では、鳥類の精子形成は高温環境下で進行するとされており、精子形成と温度に関するパラドックスとなっている。しかし、先行研究では精巣温が平常呼吸時に測定されておらず、気嚢（鳥類独自の呼吸器官）によって冷却される可能性が正しく評価されていないなど再検討の余地が残っている。そこで本研究では、ウズラを用いてこの定説を正確に再評価する。その結果を低温環境下で精子形成するほ乳類（マウス）と比較解析することで、恒温動物が示す精子形成の耐高温戦略の分子メカニズムの解明に挑戦する。

脊椎動物が恒温性を獲得する際に講じた 精子形成の耐高温戦略の解明

① 鳥類の精子が高温環境下で産生されるとする定説の再評価



② 鳥類とほ乳類の精巣で異なる温度感受性を示す遺伝子群の探索

③ 高温で精子形成が障害される分子機構の解明

論文

1. Nakamura Y. Poultry genetic resource conservation using primordial germ cells. *J. Reprod. Dev.* (in press)
2. Nakamura Y et al. Germline replacement by transfer of primordial germ cells into partially sterilized embryos in the chicken. *Biol. Reprod.* 83: 130–137 (2010).
3. Nakamura Y et al. Efficient system for preservation and regeneration of genetic resources in chicken: concurrent storage of primordial germ cells and live animals from early embryos of a rare indigenous fowl (Gifujidori). *Reprod. Fertil. Dev.* 22: 1237–1246 (2010).

第2回 領域会議：概要

会期：平成28年6月28日（火）～29日（水）

会場：札幌市教育文化会館

計画班員および公募班による研究発表

第1日目 6月28日（火）

12:55～13:10 領域代表挨拶

A01計画班による発表

13:10～13:30 富永 真琴
 13:30～13:40 高木 昌宏
 13:40～13:50 久原 篤
 13:50～14:10 今本 尚子
 14:10～14:30 梅田 眞郷
 14:30～14:50 原田 慶恵・岡部 弘基

A01公募班による発表

15:20～15:30 西山 賢一
 15:30～15:40 小野 崇人
 15:40～15:50 井上 飛鳥
 15:50～16:00 大倉 正道
 16:00～16:10 藤原 祐一郎
 16:10～16:20 中野 雅裕
 16:20～16:30 井藤 彰
 16:30～16:40 佐藤 陽子
 16:40～16:50 江藤 圭
 16:50～17:00 神谷 厚範

特別講演

17:00～17:40 Prof. Uhtaek Oh
 (Seoul National University)

第2日目 6月29日（水）

A02計画班による発表

9:20～ 9:40 中村 和弘
 9:40～ 9:50 山田 哲也
 9:50～10:10 土居 雅夫
 10:10～10:25 南 雅文
 10:25～10:40 柴崎 貢志

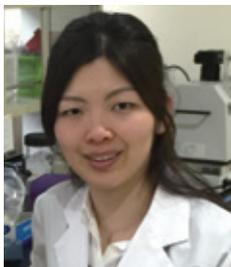
A02公募班による発表

11:00～11:10 深田 吉孝
 11:10～11:20 武田 憲彦
 11:20～11:30 酒井 寿郎
 11:30～11:40 田中 光一
 11:40～11:50 神吉 智文
 11:50～12:00 塩見 邦博
 13:30～13:40 中川 貴之
 13:40～13:50 藤田 潤
 13:50～14:00 小川 渉
 14:00～14:10 浅野 知一郎
 14:10～14:20 野村 真
 14:20～14:30 高橋 将文
 14:30～14:40 中村 隼明

15:00～16:20 ポスター発表



第2回 領域会議：若手の声



人羅 菜津子

北海道大学大学院 薬学研究院 薬理学研究室 助教

私たちの研究室では、快不快情動の生成機構、特に痛みや温度によって情動が変化するメカニズムについて研究をおこなっています。温度と情動は密接に関わっており、温度に起因する不快情動は、私たちの行動を変化させる原動力となります。例えば、暑い夏には、屋外からクーラーの効いた屋内へと“涼”を求めて移動したり、再び暑い屋外に出て行くのが億劫になったりします。このように、温度による不快情動が行動変化を引き起こすというのは身近な現象ですが、そのメカニズムは明らかにされていません。興味深いことに、暑熱環境に入れられたネズミもまた、実験環境中にある低温プレートに“涼”を求めて(?)移動します。私たちはネズミの行動実験系を用いて、温度がどのような脳内メカニズムを介して不快情動を惹起し、行動変化を引き起こすのかを解明したいと考えています。

2016年6月28日から29日まで札幌市教育文化会館でおこなわれた第2回領域会議では、普段聞くことのできない幅広い分野の話聞くことができました。温度感受性TRPチャンネル、細胞内温度センシング、代謝や体温調節、生体リズムなど、「温度」とい

う共通のキーワードに関する研究でありながらも、その研究内容は非常に多岐にわたりました。いずれも、私たち自身のテーマである「温度による不快情動生成機構の解明」にも密接にかわりうるテーマであり、領域会議を通して重要な視点を提供していただきました。さらに、ミクロからマクロまで様々なレベルでの温度の制御、あるいは、温度のモニタリングのためのデバイスの開発とその応用についての話もありました。こうした新しい技術は、研究を進めていく上でどうしても必要になってくるものですが、専門外の者にとってはそのメリット・デメリットの比較が難しく、手を出しにくいのが現状です。今回のように、多分野の研究者が同じ場で研究成果を共有できるのは、新学術領域研究ならではの強みであると改めて感じました。既に共同研究に向けた情報交換も一部では始まっており、領域全体としてこれからどんな新学術領域が拓かれていくのか、期待が高まりました。私たち自身もその成果に貢献できるよう、領域会議で頂いたアドバイスを活かして研究を進めていきたいと思えます。





木下 将希

京都大学大学院 生命科学研究所 ナノ生体科学研究室 修士2回

計画研究原田・岡部班の一員として細胞内局所温度がもたらす生理的現象の解明を目指し、日々研究を行っています。2016年6月に行われた第2回「温度生物学」班会議について、大学院生の視点から感想を述べたいと思います。

まず今回の班会議には、おそらく班会議参加者の中で最年少であった私でも、先生方と積極的に議論ができるチャンスがありました。これは私にとって非常に嬉しいことでした。先生方の研究内容についてお話を伺うだけでなく、私の研究について紹介し、先生方から色々なアドバイスを頂くことができたのは、この領域の親しみやすい雰囲気のおかげであると感じています。

また計画班・公募班の先生方の専門を越えたやり取りを拝見し、研究発表後の質疑応答のみならず、休憩時間などに行われていた議論はとても白熱していて、このように共同研究が生まれていくのだと非常に勉強になりました。私はまだまだ知識不足で、自分の研究分野でさえも勉強することばかりですが、更に知識を深め、先輩方についていかななくてはと決心させる、非常に刺激的な班会議となりました。

私は現在、神経細胞内の温度を観察し、局所の細胞内温度の神経分化現象にもたらす影響について研究を進めています。神経成長因子 (NGF) を作用させることで、神経は分化し神経突起を大きく伸ばします。分化の際には、核内では分化関連遺伝子が積極的に転写され、また細胞質では細胞骨格がダイナミックに重合・脱重合を繰り返します。これらの現象は、最近明らかになってきた細胞内温度不均一性となにか関係しているのではないかと推察されていますが、実際は全くの未知です。神経細胞のみでなく、様々な細胞種で温度不均一性が存在していることは既に知られていますが、その不均一性が持つ生理的意義についての研究は現在、加速度的に進行しています。

今回の班会議を通し、“温度”というパラメータの重要性と、可能性を感じることができました。新学術領域「温度生物学」がスタートして約1年、私がこの領域に求められる存在価値をしっかりと発揮し、領域の更なる発展への貢献に努めて参りたいと思います。



第1回 若手の会：概要

会期：平成28年6月29日 16時20分～6月30日 12時
会場：札幌市教育文化会館（29日）、北海道大学薬学部（30日）

第1日目 6月29日（札幌市教育文化会館）

16:20～17:00 特別講演1
招聘教授 本間 さと（北海道大学 脳科学研究教育センター）
「生物時計と温度同調」

17:00～18:15 フラッシュトーク（36名）



第2日目 6月30日（北海道大学 薬学部）

9:20～10:00 領域代表講演
領域代表 富永 真琴
「温度生物学の現在、過去、未来」

10:00～10:40 特別講演2
教授 吉村 崇（名古屋大学大学院 農学研究科）
「脊椎動物の季節感知機構の解明に向けて」

10:40～11:40 ポスター発表
全体討論



本領域の活動

シンポジウム開催報告：「温度生物学～温度と生命の関わり合い～」

名古屋大学大学院 医学系研究科 統合生理学分野 教授
中村 和弘

学 会 名：第93回日本生理学会大会

開催日時：2016年3月24日（木） 9:00-10:30

会 場：札幌コンベンションセンター

シンポジウムタイトル：温度生物学～温度と生命の関わり合い～

Thermal Biology: Critical Interaction between Temperature and Life

オーガナイザー：中村 和弘・富永 真琴

プログラム

- 富永 真琴 (自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター)
 「温度感受性TRPチャネルの生理機能」
- 梅田 真郷・村上 光・従二 直人・長尾 耕治郎・原 雄二 (京都大学大学院 工学研究科)
 「脂質を介するエネルギー代謝と体温調節行動の制御機構」
- 中村 佳子・中村 和弘 (名古屋大学大学院 医学系研究科)
 「ニューロペプチドYによる代謝抑制を担う神経回路：飢餓を生き延びるための仕組み」
- 大塚 曜一郎 (フリンダース大学 医学部)
 「The role of habenula complex in regulation of autonomic physiological function」

本新学術領域「温度生物学」の支援を受け、日本神経科学学会との連携シンポジウムとして、第93回日本生理学会大会シンポジウム「温度生物学～温度と生命の関わり合い～」を開催しました。

温度は生命機能における重要な因子であり、神経細胞や脳の活動に強い影響を与えます。また、脳は体温を調節することで恒常性を維持し、さらに感染や環境ストレスなどから生体を防御します。このように、「温度」と「生命」は常に関わり合っており、この関わり合いの仕組みと意義を生命科学的に解き明かすことは、本新学術領域「温度生物学」が追究する大きなテーマの一つです。

本シンポジウムでは、このような温度生物学の視点で生命を扱う研究に焦点を当て、その中でも、温度と神経機能に関連した研究を行っている研究者をお招きしました。そして、温度センシング分子機構、代謝状態に依存した環境温度選択、飢餓を生き延びるための省エネ機構、ストレス性体温上昇など、温度生物学を今後牽引するトピックスを紹介していただきました。温度感受性チャネル機能の分子レベルの仕組みから体温・代謝調節などに関わる神経回路のシステムレベルの研究まで、「温度と生命の関わり合い」にまつわる多様な最新の研究成果が報告され、「温度」をキーワードに大きな生命科学的研究を包括する「温度生物学」領域の特色を感じることもできるシンポジウムとなりました。

座席の多くが埋まるほどの多数の聴衆にお集まり頂き、聴衆と演者を交えた活発な議論が行われている光景を見ながら、温度生物学への高い関心と今後への期待を強く認識した次第です。今回は学会から各シンポジウムに割り当てられた時間が比較的短かったのが残念でしたが、オーガナイズする上での今後の課題として、質疑応答にもう少し時間を取り、より深い議論を促すべきであると感じました。しかし、演者による質の高い講演のお陰で、本シンポジウムは聴衆からは好評でした。どうもありがとうございました。



シンポジウム開催報告：「温度生物学の創成（展開を目指して）」

理化学研究所 今本細胞核機能研究室 主任研究員
今本 尚子

学会名：第68回日本細胞生物学会大会

開催日時：2016年6月15日（水） 16:45-19:15

会場：京都市南区東9条 京都テレサ

シンポジウムタイトル：温度生物学の創成（展開を目指して）

Integrative Understanding of Thermobiology

オーガナイザー：原田 慶恵・今本 尚子

プログラム

- 富永真琴^{1,2}（¹岡崎統合バイオ・細胞生理、²総研大・生理科学）
「温度感受性TRPチャンネルの構造と生理機能」
- 岡部弘基^{1,2}、シベニ¹、船津高志¹、原田慶恵³（¹東大・院薬、²JST さきがけ、³京大・iCeMS）
「細胞内温度の計測と操作による温度生物学」
- 今本尚子¹、儘田博志¹、小瀬真吾¹（¹理研・今本細胞核機能）
「細胞質・細胞核の温度センシング」
- 山田幸司¹、世良田聡²、岡正啓¹、藤本穰²、仲哲治²、米田悦啓³
（¹医薬基盤研・核輸送、²医薬基盤研・免疫グナル、³医薬基盤研）
「寒冷刺激は強皮症患者由来抗核抗体の生物活性を惹起する」
- 高木昌宏¹、下川直史¹（¹北陸先端・院・マテリアル）
「膜ダイナミクスと細胞信号伝達」
- 梅田真郷¹（¹京大・院工・合成・生物）
「温度センシングとエネルギー代謝制御」



温度は、細胞内の全ての生化学反応に影響し、その反応に基づいた生命現象に必須の役割を果たしている。代謝、血圧、睡眠、情動、生体リズムなどの個体レベルの生理現象にも温度は深い影響を与えている。生物における温度の重要性は広く認知されているが、「温度」を意識した研究は少なく、既存の学問分野に「温度」という言葉は含まれていない。現在、温度をセンスする分子の発見や細胞内温度の計測技術の発展に伴い、温度生物学という新しい学問分野の創成が可能になってきた。温度に関連する多様な生物分野の研究者の中で、本シンポジウムでは、温度が関わる事象を細胞生物学的観点で捉えた研究者を招き、講演を依頼した。

富永は細胞膜温度感受性TRPチャンネル分子群の機能構造と温度が関わる生命現象を紹介し、岡部は細胞内温度計測で見いだした細胞内温度の不均一分布や刺激に応答した細胞内温度の上昇を、また、細胞内局所温度操作で形成され

るストレス顆粒の特性を紹介した。今本は、熱ストレスで駆動するHikeshiの分子機能を、山田は寒冷刺激で抗核抗体が強皮症発症に寄与する結果を紹介した。高木は、細胞ラフトの動きと信号伝達、モデル膜（リポソーム）の相分離構造の多様性、生理活性物質の膜相互作用を紹介し、温度がこれらに与える影響を考察した。梅田は、環境温度の変動に応答した動物個体と細胞のエネルギー代謝制御を、ショウジョウバエ ミトコンドリア内の脂肪酸輸送に着目して得た知見を紹介した。温度受容という現象が、様々な手法や視点で研究されることで、精巧な分子機構で制御される細胞システムが新たに見えてくるように思われる。学会初日の夕方に開催された本セッションでは、事前に並べられた椅子が間に合わないほど満員になり、多くの学会員の方が「温度生物学」という新しい分野に興味をもって下さっていることを実感した。新しい学問分野の展開に期待したい。

トピックス

シンプルな実験動物を用いた温度応答の分子生理システム

甲南大学統合ニューロバイオロジー研究所 / 理工学部 生体調節学研究室 准教授
久原 篤



はじめに

温度は生体反応に直結する環境情報であるため、温度に対する応答や適応は生命にとって重要です。私の研究室では、温度適応に関する分子生理メカニズムを明らかにするために、シンプルな動物である線虫*C. elegans*を使って解析を行っています。本稿では、そのなかから幾つかの最新のトピックを紹介いたします(参考文献1,2)。特に、(1)光受容ニューロンが温度を受容し腸に働きかけ個体の低温適応が制御されているという生体システムと(参考文献2)、(2)精子が頭部の温度受容ニューロンの感度を調節するという現象を紹介いたします(参考文献1)。

生体が寒さに馴れることで耐性をもつ機構は、高等動物だけでなく、植物や昆虫など様々な生物でも研究が進められてきました。低温に対する耐性機構として、植物から昆虫まで共通してみられる現象としまして、生体膜の不飽和脂肪酸の含有量を増加させ膜の流動性を高め、細胞の凍結を防ぐ機構が知られています。また、細胞内に低分子量のグリセロールやソルビトールなどの糖アルコールや、トレハロースやグルコースなどの糖を蓄積させ、低温や凍結に対する組織を保護することも50年以上前より知られています。そのような耐性を引き起こす体内変化が知られている一方で、温度の感知から耐性を引き起こすまでの分子情報伝達の過程については未知の点が残されています。本稿では、近年明らかになってきた線虫*C. elegans* (*Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*)) が寒さに馴れる仕組みについて、分子と神経細胞を含む組織ネットワークのレベルで紹介いたします。

線虫*C. elegans*は、生命現象の解析に適した実験動物のひとつとして知られています。受精卵から成虫になるまでの細胞系譜が全て同定され、その過程でプログラム細胞死の現象が見つかり、その功績により、ブレナー、ホルビッツ、サルストンの3氏が2002年度にノーベル賞を受賞しました。また、2006年には、RNA干渉法の確立によりファイアー、メロの両氏が、2008年には、緑色蛍光蛋白質GFPを使い線虫の細胞をイメージングした功績により、チャルフィー氏がノーベル賞を受賞しました。また、マイクロRNAの発見やヒトゲノムプロジェクトにも線虫の研究者が大きな貢献をしております。このように生命科学の多面的な分野において、線虫の実験系が用いられてきた歴史があります。

*C. elegans*は、通常、土壌で生活しており、13~27°Cの温度域で卵を産み繁殖することが可能です。*C. elegans*の体は959個の細胞から構成されており、そのうち302個が神経細胞となります。また、体が透明であることから、前述の通り受精卵から成虫に至るまでの全細胞分裂の系譜と、細胞の位置が明らかになっています。さらに、電子顕微鏡を用いた連続切片の解析から、約5000個の化学シナプスと約600個のギャップ結合からなる全神経回路の地図が作られています。このように、線虫は神経を含む細胞ネットワークの解析に適したモデル動物です。*C. elegans*は302個の神経細胞からなるシンプルな神経回路しか持たないにも関わらず、

温度、光、化学物質などの様々な環境刺激を感知して、応答することができます。その中でも温度に対する応答は、行動や耐性-適応など様々な表現型として観察されております。温度に対する応答行動としては、温度走性と呼ばれる飼育されていた温度への走性現象が知られています。恩師の名古屋大学の森 郁恵 教授がその神経回路制御機構を発見され、筆者は恩師の御指導のもとで温度感知や温度記憶の分子生理機構を学びました。代表的な物としましては三量体Gタンパク質を介した温度情報伝達の発見や(参考文献3)、インスリンやカルシニューリンを介した温度学習(参考文献4, 5, 6)、光駆動性チャネルを用いた新規のシナプス処理機構などが挙げられます(参考文献7)。行動によらない温度への応答としましては、28°C以上の温度に置かれると耐性幼虫になる現象が知られています。耐性幼虫は、体内の代謝状態を変化させ、高温で生存できるようになるだけでなく、寿命が長くなるなど多くのストレスに耐性を持つことが知られています。一方で、低温下では耐性幼虫にならないため、低温への応答はあまり解析されてきていませんでした。最近、線虫の低温適応現象が見つかり、その表現型を指標に分子遺伝学的な解析が進展してきましたので紹介します(参考文献1, 2, 8)。

C. elegansの低温適応の頭部神経と腸を介した制御

(参考文献2, 8)

*C. elegans*の低温適応とは、20°Cで飼育された個体は、2°Cで死滅するのに対して、15°Cで飼育された個体は、2°Cで生存できる現象です(図1)(参考文献2)。この現象は、温度応答行動の解析をしていた際に偶然に見つけた現象であり、2011年の研究室スタートの時に、この新しい現象を指標に解析を開始しました。当初は、どのような分子生理機構が見つかるかは全く不明でしたが、宇治澤 知代氏(現博士課程院生、学振特別研究員)と太田 茜氏(現学振特別研究員PD)を初めとするメンバーの頑張りにより、その生体調節機構の一端が見えてきました。具体的には、頭部に左右1対存在するASJと呼ばれる光を受容する感覚ニューロンが温度を受容し、ASJのシナプスからインスリンを分泌することで、腸に働きかけ低温適応が制御されることが分かってきました(図2)。ASJ感覚ニューロンでは、温

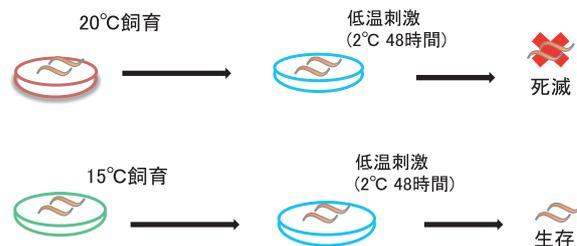


図1. 線虫*C. elegans*の低温適応

*C. elegans*は、20°C飼育後に2°Cに48時間置かれると死滅するが、15°C飼育後に2°Cに48時間おかれても生存できる。

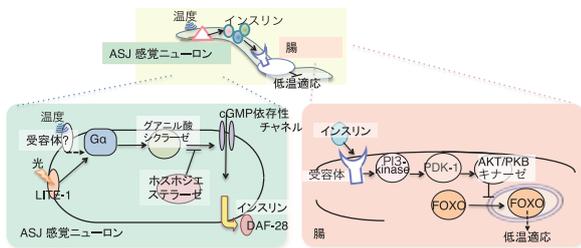


図2. 低温適応の制御機構

温度情報は頭部の感覚ニューロンASJで受容され、三量体Gタンパク質経路で伝達され、シナプス領域からインスリンを分泌する。感覚ニューロンASJは光やフェロモンを受容することで知られているが、温度の受容体は明らかとなっていない。三量体Gタンパク質経路では、 α サブユニットGPA-3やグアニル酸シクラーゼODR-1が関与することが明らかとなっている。

感覚ニューロンASJから分泌されたインスリンは腸や神経系で受容され、最終的にFOXO型転写因子DAF-16が遺伝子発現を変化させ、低温適応をコントロールすることが明らかとなっている。参考文献2より改変して転載。

いて、*C. エレガンス*の長所である分子遺伝学と光学イメージングを駆使することで、温度受容と、温度適応の基本原理解が見つかってくると考えました。

低温適応における精子から頭部神経へのフィードバック制御 (参考文献1)

低温適応に関わるさらなる遺伝子を同定するために、園田悟氏 (現博士課程院生、学振特別研究員) らがインスリン経路の下流ではたらく分子をDNAマイクロアレイ解析で調べました (参考文献1)。具体的には、野生株とインスリン受容体の変異体 (*daf-2*) に温度刺激 (15°C飼育後に25°Cの温度刺激) を与えたとき発現変動する遺伝子を同定しました。その結果、すでに低温適応に関わることが分かっている神経と腸の遺伝子が多数単離されましたが、興味深いことに、生殖に関わる組織で発現変動する遺伝子が多いことが分かり、特に、精子で発現している遺伝子が多数含まれていました。このことから、腸のインスリン経路の下流で精子の遺伝子の発現が調整されている可能性が得られました。精子が低温適応に関与するか調べるために、精子の形成や運動に関わる遺伝子の変異体の低温適応を測定しました。その結果、精子形成や精子運動に関わる精子特異的のプロテインフォスファターゼPP1が欠損している*gsp-3*や*gsp-4*の変異体において、20°C飼育後に2°Cに置かれても生存できる異常が観察されました。この異常は、温度受容ニューロンASJの温度情報伝達や腸のインスリン受容体の変異体で見られる異常と類似していました。さらに、*gsp-4*変異体の雌雄同体に、野生型の雄を交配させ、健康な精子を*gsp-4*変異体に導入したところ、低温適応の異常が部分的に回復しました。また、色素レーザーをもちいて、精子に物理的損傷を与えた野生株では、*gsp-4*変異体と同様の低温適応の異常が観察されました。これらの結果から、精子が低温適応に関与すると考えられました。

精子と、既知の低温適応の組織との関係を調べるために、遺伝学的エピスタシス解析と定量的PCR解析を行いました。腸の変異としてインスリン受容体*daf-2*を使い、精子の変異として精子特異的のプロテインフォスファターゼPP1 (*gsp-4*) をもちいて、それらの二重変異体を解析しました。その結果、*daf-2*; *gsp-4*二重変異体は各々単独の変異体と同じ異常を示しました。さらに、定量的PCR解析、インスリン受容

体*daf-2*変異体において、精子の*gsp-4*遺伝子の発現が上昇していました。つまり、腸のインスリン経路の下流で、精子が低温適応に関与している可能性が考えられました。次に、ASJ温度受容ニューロンの変異と、精子の遺伝子変異の関係を遺伝学的エピスタシス解析と定量的PCR解析で調べました。精子に異常をもつ*gsp-4*変異体は、20°C飼育後に2°Cで生存できる異常を示しま

すが、この異常は予想外にも、ASJ温度受容ニューロンの温度情報伝達に関わる三量体Gタンパク質 (GPA-3) の変異によってサプレッスされました (図3)。さらに、定量的PCR解析から、*gsp-4*変異体において*odr-1*遺伝子の発現が低下していました。これらのことから、遺伝学的に精子の下流に頭部の温度受容ニューロンが位置する可能性が考えられました。

そこで、ASJ温度受容ニューロンの神経活動が、精子の変異によって変化するかを、細胞内カルシウムイメージングで測定しました (図4)。プローブとして遺伝子によってコードされているカルシウムインディケーターであるカメレオンを使いました。

20°Cで飼育した野生株に温度刺激を与えたところ、ASJ温度受容ニューロン内のカルシウム濃度の変化が観察されました (図4)。一方、ASJの温度情報伝達に関わる変異体では、このカルシウム濃度の変動が顕著に低下していました (参考文献2)。同様に、精子特異的のプロテインフォスファターゼPP1の変異体 (*gsp-4*) では、この温度に対する応

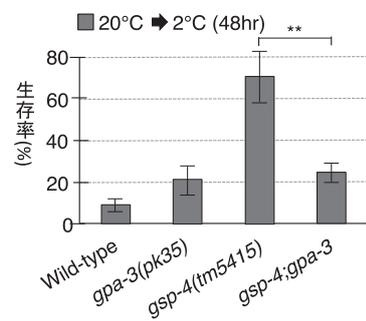


図3. 精子遺伝子の変異体の低温適応と、ASJ温度受容ニューロンの遺伝子変異との遺伝学的関係

精子運動や形成に異常を持つ*gsp-4*変異体は、低温適応が上昇する異常を示す。この異常は、ASJ温度受容ニューロンの温度情報伝達に関わる三量体Gタンパク質の α サブユニットの変異である*gpa-3*によって抑圧される。エラーバーはSEM。**は $p < 0.01$ 。参考文献1より改変して転載。

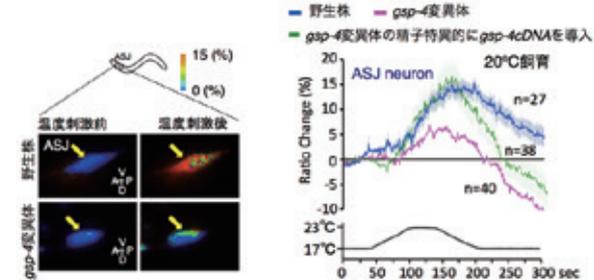


図4. 精子変異体の温度受容ニューロンASJのカルシウムイメージング
頭部に存在する温度受容ニューロンASJのカルシウム濃度変化の測定。温度受容ニューロンASJ特異的にカルシウムインディケーターであるカメレオンを発現させた系統を用いた。20°C飼育した野生株は温度刺激を与えることで細胞内カルシウム濃度が変化した (カラーグラディエントはYFP/CFPのレシオ変化値)。それに対し、精子特異的のプロテインフォスファターゼを欠損する*gsp-4*変異体では野生型に比べて温度に対するカルシウム濃度の変化が低下した。また、*gsp-4*変異体の精子特異的に*gsp-4cDNA*を発現させた遺伝子導入系統では温度に対する応答性が回復した。*は $p < 0.01$ 。参考文献1より改変して転載。

答性が低下していました(図4)。このASJ温度受容ニューロンの神経活動の異常は、*gsp-4*変異体の精子特異的に*gsp-4cDNA*を発現させることで回復しました(図4)。これらの結果から、精子が頭部のASJ温度受容ニューロンの神経活動に影響を与えることが示唆されました。これまでの解析から、ASJニューロンから腸への情報伝達はインスリンを介して行われることが分かっています。しかし低温適応において、精子と腸や、精子と神経系をつなぐ分子は分かっていません。現在、ステロイドホルモンの可能性を考え、その受容体である核内受容体NHRを調べています。これまでに、ASJニューロンから腸をつなぐ情報伝達に関わるステロイドホルモン受容体としてNHR-88とNHR-114が新たに見つかりました。

おわりに

本新学術領域研究から、精子が頭部の温度受容ニューロンをフィードバック調節するという現象が見つかりました(図5)(参考文献1)。これまでの結果から、個体内での温度適応の情報伝達モデルとして、以下のモデルを考えております。まず温度受容ニューロンASJが温度を受容し、インスリンとステロイドホルモンを分泌し腸へ温度情報を伝達します。さらに腸から精子へと情報が送られ、その後、精子がASJ温度受容ニューロンの神経活動を調節している可能性が示唆されました(図5)(参考文献1)。この仕組みは精子が減少した個体において、温度受容ニューロンの感度を調節することで、個体として生き残れる方向に調節し、少なくなった精子を次世代により伝達しやすくする仕組みではないかと思えます。また、飼育温度によってエピジェネティックに温度適応が変化するかについても、興味を持っております。

本稿では詳細にはご紹介できませんでしたが、私の研究室では、線虫の温度適応を指標に(1)三量体Gタンパク質を介した温度情報伝達の新規分子の同定、(2)温度適応における温度メモリーの神経情報処理メカニズム、(3)線虫多型株をもちいた温度適応の多様性と進化の遺伝学的解析を進めております。線虫*C. エレガンス*は下等動物であり、ヒトと共通しない部分も多数ございますが、これまでに線虫の研究者が6名ノーベル賞を受賞されているように、ヒトと線虫の間に共通

する生体調節メカニズムも多数見つかっていることから、高等動物における温度適応メカニズムにおいても何らかの共通性が見つかることを期待しております。

参考文献

1. Sonoda S et al. Sperm affects head sensory neuron in temperature tolerance of *Caenorhabditis elegans*. *Cell Rep.* 2016.05.078 (2016).
2. Ohta, A., Ujisawa T et al. Light and pheromone-sensing neurons regulate cold habituation through insulin signaling in *C. elegans*. *Nat commun.* 5: 4412, 1-12 (2014).
3. Kuhara, A et al. Temperature sensing by an olfactory neuron in a circuit controlling behavior of *C. elegans*. *Science.* 320: 803-807 (2008).
4. Kuhara, A et al. Negative Regulation and Gain Control of Sensory Neurons by the *C. elegans* Calcineurin TAX-6. *Neuron.* 33: 751-763 (2002).
5. Kodama, E et al. Insulin-like signaling and the neural circuit for integrative behavior in *C. elegans*. *Genes Dev.* 20: 2955-2960 (2006).
6. Kuhara, A et al. Molecular physiology of the neural circuit for calcineurin dependent associative learning in *Caenorhabditis elegans*. *J. Neurosci.* 26: 9355-9364 (2006).
7. Kuhara, A et al. Neural coding in a single sensory neuron controlling opposite seeking behaviors in *Caenorhabditis elegans*. *Nat. commun.* 2 : 355, 1-12 (2011).
8. 久原 篤, 宇治澤 知代, 太田 茜: 線虫 *Caenorhabditis elegans* の温度適応を制御する神経と腸を介した情報処理. 比較生理生化学, 32 (2) : 67-75 (2015) .

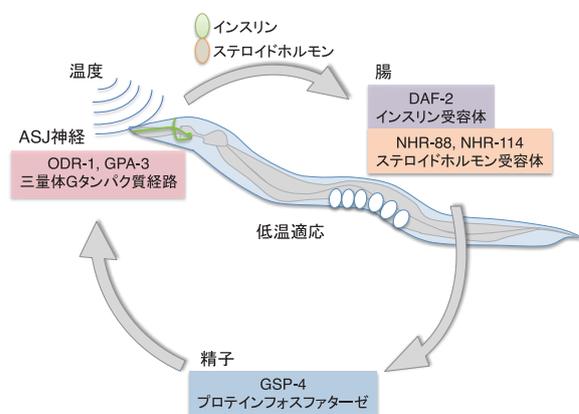


図5. 低温適応の組織ネットワークモデル
頭部の温度受容ニューロンASJで受容された温度情報は、インスリンとステロイドホルモンを介してパラレルに腸へ伝達され、精子に影響を与え、その後、精子からASJへのフィードバックが行われると考えられる。



エネルギー代謝調節における臓器間神経ネットワークの役割

東北大学大学院 医学系研究科 糖尿病代謝内科学分野

山田 哲也



はじめに

肥満・インスリン抵抗性を基盤とするメタボリックシンドローム患者の増加が、社会的な問題にもなっており、体重調節機構の解明は重要課題の一つである。体重を保つことの本質的な意義は、食物を常に得ることができるか不確かな環境下(=飢餓)で、すぐに利用できるエネルギー源を体に蓄えておくことにあると考えられる。一方で、過剰な脂肪の蓄積(=肥満)は個体の活動性を損ない、捕食や外敵からの回避において不利益をもたらす。従って、哺乳類は生存戦略として摂食およびエネルギー消費量を調整し、適切なレベルの脂肪蓄積を維持できるよう進化を遂げてきたものと想定される。脳(視床下部)はこの統御機構において中心的な役割を担っており、図1に示すような臓器連関によってエネルギー代謝情報を入手し、それに基づいてエネルギー摂取(=食事)とエネルギー消費を調整し、最終的に個体の体重を制御している[1]。

脳へのエネルギー代謝情報の伝達経路 (図1)

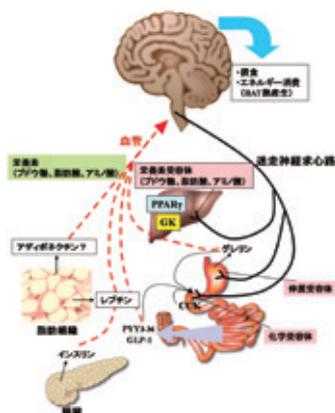


図1. 脳を介するエネルギー代謝調節機構 ([1]より引用改変)

脳へのエネルギー代謝情報の入力経路には、血流と神経経路を介するものがある。例えば、白色脂肪組織 (white adipose tissue: WAT) から分泌されるアディポカインであるレプチン(後述)は、血流を介して視床下部に作用し、褐色脂肪組織 (brown adipose tissue: BAT) にいたる交感神経を活性化させる。一方、求心性神経経路も腹腔内臓器からのエネルギー代謝情報を脳へ伝達する経路として重要である。腹腔内臓器には迷走神経と内臓神経が分布しているが、前者の構成線維の約75~90%が、また、後者の約50%が求心性神経線維であることが知られている。

BATによる熱産生の増加に繋がる臓器連関

体重の過増加(=肥満)を防止するために、個体には液性因子や神経ネットワークを介して体重を一定に保とうとする臓器連関が存在する。ここでは、レプチン系と我々の見出した神経ネットワークによる臓器連関について紹介したい。

1) レプチン

レプチンは、主にWATから分泌され、血流を介して脳(主に視床下部)に作用し、“摂食抑制”や“交感神経の活性化を介してBATの食事誘発性熱産生の増加”などを引き起こすアディポカインである。その産生はWATの中性脂肪の蓄積

(=貯蔵エネルギー量)増加に相関して増えるため、エネルギーの過剰摂取に対して体重増加を抑制するというネガティブフィードバック機構として役立っている。実際、レプチン遺伝子の変異をホモで有するob/obマウスは著明な肥満を来し、その肥満はレプチン注射により改善する。肥満の改善には、レプチンによる食欲抑制とBATの熱産生の増大が寄与しており、その割合は前者が65%、後者が35%と報告されている。レプチンが視床下部に作用し、最終的にBATに至る交感神経活性の上昇に繋がる経路については、視床下部の弓状核、室傍核、背内側核などを通じて伝達され、少なくともブレイモーターニューロンである延髄の縫線核に集約されることが明らかとなっている。

一方、レプチンによる摂食抑制についても、交感神経活性が関与している可能性を以前に見出し、ここで紹介したい。先述のように、エネルギーの過剰摂取の状況下では、レプチンなどによる交感神経活性化により、褐色脂肪組織のUCP1発現が増加し熱産生が増大する。さらに興味深いことに、白色脂肪組織においても、レプチンによる交感神経活性化により異所性にUCP1発現が誘導されることが報告されていた。また、肥満抵抗性のマウス系統では、白色脂肪組織においてUCP1の発現が多いとの報告もあった[2,3]。これらの報告に着目し、腹腔内の白色脂肪組織にUCP1遺伝子を導入する実験を行ったところ、意外なことに、白色脂肪組織からの求心性神経シグナルが視床下部のレプチン抵抗性を改善し、過食を抑制する働きを有していることが見出された[4]。図2に示すように、白色脂肪細胞から分泌されるレプチンは、第一義的に摂食抑制や交感神経活性化によるエネルギー消費亢進をきたす。このシステムが過栄養摂取により継続すると、交感神経活性化によって白色脂肪組織でUCP1発現が増加し、更なるレプチン作用の増強に繋がり得ると思われる。このように、白色脂肪組織から発信される液性因

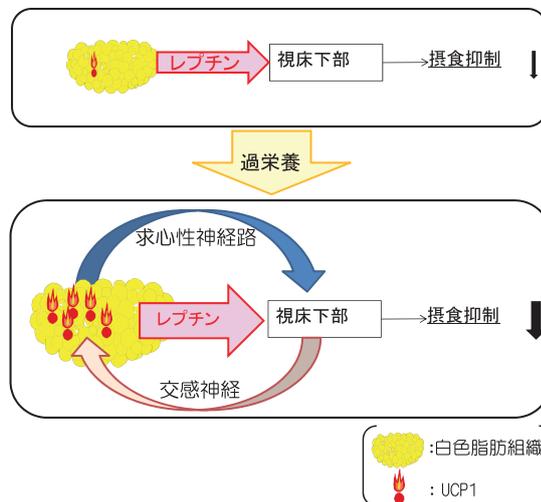


図2. WAT (UCP1) からの神経シグナルによる視床下部レプチン感受性の調節 ([11]より引用改変)

子（レプチン）と神経シグナルが、二段構えのネガティブフィードバック機構を形成することで、上述のような肥満しにくい表現型[2,3]が得られているのかもしれない。

2) 肝臓から発信される神経シグナル

余剰摂取されたエネルギーは、まず、中性脂肪として白色脂肪組織に貯蔵されるが、脂肪肝は余剰エネルギーが肝細胞にまで蓄積した状態、すなわち長期にわたるエネルギー摂取過多を反映しているとも言える。PPAR γ は非肥満状態では主に脂肪組織に発現する転写因子であるが、脂肪肝では肝臓にも発現が亢進する。また、肝臓特異的にPPAR γ を欠損させると脂肪肝の形成が抑制され、末梢脂肪の増加とインスリン抵抗性や耐糖能悪化を引き起こすことも示されていた。これらは、肝臓のPPAR γ が、エネルギー代謝調節における臓器間相互作用において重要な働きを有することを示唆しているが、その具体的な作用メカニズムは不明であった。そこで、マウスの肝臓にPPAR γ 2を過剰発現させてみると（PPAR γ 2マウス）、交感神経の活性化によってBATによる熱産生が増加し、体重の増加が抑制されていることがわかった。さらに、肝臓から脳へシグナルを伝える迷走神経の肝臓枝を選択的に切断したマウスを用いて、同様の実験を行ったところ、PPAR γ 2マウスで認められたBATによる熱産生の増加が抑制された。以上などにより、肝でのエネルギー過剰蓄積の信号が迷走神経求心路を介して脳に伝達され、交感神経を活性化しBATの食事誘発性熱産生を増加させるというネガティブフィードバックにより、肥満や糖尿病の増悪を抑制するという新たな臓器連関が体に備わっていることが明らかとなった（図3）[5]。

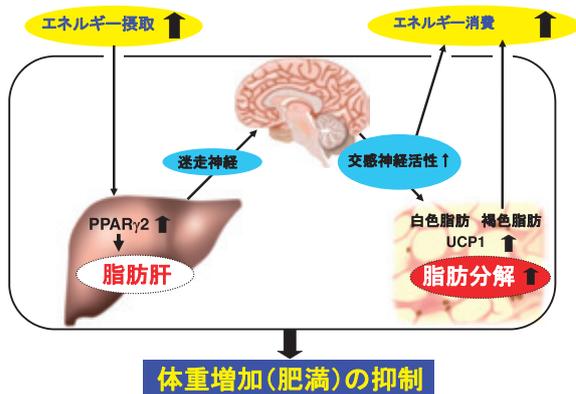


図3. 肝臓PPAR γ からの神経シグナルによるBAT熱産生亢進機構 ([11]より引用改変)

BATによる熱産生の低下に繋がる臓器連関

来るべき飢餓に備えて適切なレベルの脂肪蓄積を維持しておくためには、上述のような肥満を防止するような機構に加えて、①摂取したエネルギーを効率的に脂肪として蓄える、あるいは、②エネルギー摂取が減少した際に、脂肪蓄積の減少を最小限に留めるようなメカニズムが必要である。最近、我々はこれら①、②のメカニズムの一端を説明しうる新たな肝臓からの臓器間神経ネットワークを発見したので紹介したい。

まず、肝臓のグルコキナーゼ（GK）発現の亢進が引き金となって生じる臓器間神経ネットワークが、①の摂取したエネルギーを効率的に脂肪として蓄えるメカニズムに寄与して

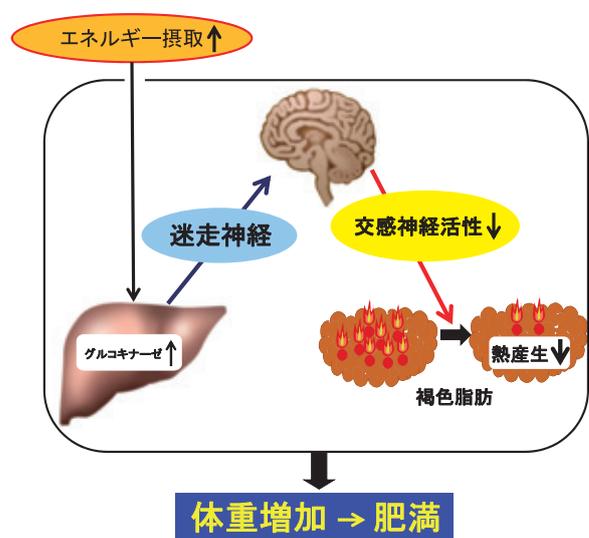


図4. 肝臓グルコキナーゼからの神経シグナルによるBAT熱産生抑制機構 ([11]より引用改変)

ることを見出した。この研究では、まず、高脂肪食をマウスに与えた際、体重増加に先駆けて肝臓のグルコキナーゼ（GK）の発現が速やかに上昇することを観察した。加えて、肝臓特異的にGKを過剰発現するトランスジェニックマウスは肥満を呈することが報告されていたことから[6]、肝GK発現の上昇が体重増加の引き金を引く可能性を有していると考えられた。そこで、マウスの肝臓にGKを遺伝子導入し、臓器間相互作用の解析を試みたところ、褐色脂肪のUCP1など熱産生関連遺伝子の発現が低下し、その熱産生が抑制されていることがわかった。研究を進めると、肝GK発現の亢進が引き金となって生じた代謝シグナルが迷走神経求心路を介して脳に伝達され、交感神経活性の低下→BAT熱産生の低下が生じ、最終的には体重の増加に繋がることが判明した（図4）[7]。さらに、今回見出した臓器連関が、「太りやすさ」の違いに寄与している可能性を考え研究を進めた。なぜなら、エネルギーの過剰摂取が同程度であっても、実際の体重増加の程度に個人差があることが、ヒトにおいて報告されていたからである。マウスにおいても、高脂肪食を与えた際の体重増加の程度に系統間で差があることが判明しており、要因としてBATによる食事誘発性熱産生が関与していることが示されていた

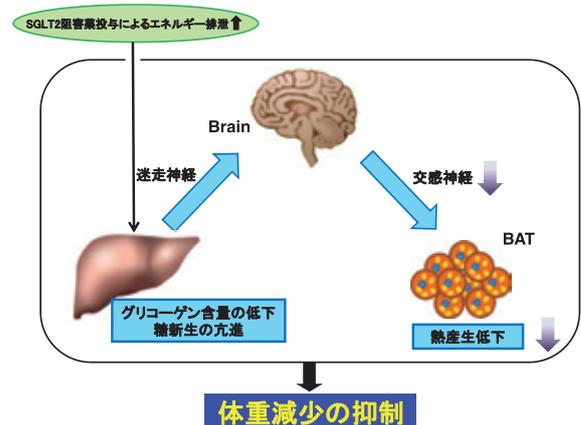


図5. SGLT2阻害薬投与下における肝臓からの神経シグナルによるBAT熱産生抑制機構

が[2,8]、そのメカニズムは不明であった。複数の系統のマウスに高脂肪食を与え、体重増加と肝臓のGK発現誘導の程度を検討したところ、正の相関があることを見出した。さらに、BATのUCP1発現と肝臓のGK発現の間に逆相関があることも分かり、肝臓のGK発現と肥満になりやすさの間に因果関係が存在する可能性が示された。そこで、肥満抵抗性マウスの肝臓へのGK遺伝子導入実験や、易肥満性マウスの肝臓GKノックダウン実験を行ったところ、前者ではBATの熱産生が抑制され体重増加が促進し、逆に後者ではBATの熱産生が亢進し体重増加が抑制された。これらにより、このシステムの働きの違いが、肥満になりやすさに関するマウスの系統間の違いをも説明しうることが明らかとなった[7]。最近、GKに遺伝子異常を有する患者の体重が、健康人に比べて有意に低いことが報告され[9]、ヒトにおいても「肥満になりやすさ」に関与していることが示唆されている。

最近、②のエネルギー摂取が減少した際に、脂肪蓄積の減少を最小限にとどめるようなメカニズムの例としても、肝臓からの神経シグナルが重要な役割を担っていることを、糖尿病治療薬であるSGLT2阻害薬を用いたマウスの実験で見出した。SGLT2阻害薬は腎における尿糖の再吸収を抑制し尿への糖排出を増加させることで、結果的にエネルギー摂取の低下と同様の状態を生じさせるが、体重減少に及ぼす効果は限定的である。SGLT2阻害薬をマウスに投与すると、個体レベルでの酸素消費量が低下し、そのメカニズムに交感神経活性の低下によるBAT熱産生の低下が関与していることがわかった。さらに、この変化は、肝臓を支配する迷走神経を選択的に切断すると認められなくなったことから、肝臓からの神経シグナルが重要な役割を担っていると考えられる(図5)[10]。

このような適切なレベルの脂肪蓄積を維持しようとする個体の性質は、飢餓を頻繁に経験する時代には生存に有利に働いたと考えられるが、飽食の現代においては、肥満発症のみならず肥満治療(減量)を困難なものにしている要因の一つになっていると想定される[11,12]。

おわりに

これまで我々は、個体レベルのエネルギー代謝調節において、肝臓-脳-BATと連なる臓器間神経ネットワークが重要な役割を担っていることを見出してきた。一方、その詳細な機序は不明な点も多く、他のメカニズムを介する臓器連関によるBAT熱産生制御機構の存在も示唆されてきている。本新学術領域における連携を通じて、さらなる研究の発展に寄与できればと考えている。

参考文献

1. Yamada T et al. Inter-organ metabolic communication involved in energy homeostasis: potential therapeutic targets for obesity and metabolic syndrome. *Pharmacol. Ther.* 117: 188-198 (2008).
2. Prpic V et al. Adaptive changes in adipocyte gene expression differ in AKR/J and SWR/J mice during diet-induced obesity. *J. Nutr.* 132: 3325-3332 (2002).
3. Watson PM et al. Differential regulation of leptin expression and function in A/J vs. C57BL/6J mice during diet-induced obesity. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 279: E356-365 (2000).
4. Yamada T et al. Signals from intra-abdominal fat modulate insulin and leptin sensitivity through different mechanisms: neuronal involvement in food-intake regulation. *Cell Metab.* 3: 223-229 (2006).
5. Uno K et al. Neuronal pathway from the liver modulates energy expenditure and systemic insulin sensitivity. *Science* 312: 1656-1659 (2006).
6. Ferre T et al. Long-term overexpression of glucokinase in the liver of transgenic mice leads to insulin resistance. *Diabetologia* 46: 1662-1668 (2003).
7. Tsukita S et al. Hepatic Glucokinase Modulates Obesity Predisposition by Regulating BAT Thermogenesis via Neural Signals. *Cell Metab.* 16: 825-832 (2012).
8. Surwit RS et al. Diet-induced changes in uncoupling proteins in obesity-prone and obesity-resistant strains of mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 4061-4065 (1998).
9. Steele AM et al. Prevalence of vascular complications among patients with glucokinase mutations and prolonged, mild hyperglycemia. *JAMA.* 311: 279-286 (2014).
10. Chiba Y et al. Dapagliflozin, a Sodium-Glucose Co-Transporter 2 Inhibitor, Acutely Reduces Energy Expenditure in BAT via Neural Signals in Mice. *PLoS ONE* 11: e0150756 (2016).
11. Yamada T. Inter-organ communications mediate crosstalk between glucose and energy metabolism. *Diabetol. Int.* 4: 149-155 (2013).
12. Yamada T et al. Identification of a novel interorgan mechanism favoring energy storage in overnutrition. *Adipocyte* 2: 281-284 (2013).

今後の活動予定

2016年9月25日 (日) ~27日 (火)

第89回日本生化学会大会にてシンポジウムを開催

「温度生物学の新展開」

オーガナイザー：梅田 眞郷、岡部 弘基

会場：仙台国際センター／東北大学川内北キャンパス

2016年11月15日 (火) ~18日 (金)

The 22nd International Congress of Zoologyにてシンポジウムを開催

「Learning from sensory molecules: Impact on physiology and evolution」

オーガナイザー：齋藤 茂、小柳 光正

会場：OIST Conference Center

2016年11月25日 (金) ~27日 (日)

第54回日本生物物理学会年会にてシンポジウムを開催

「温度生物学の挑戦 -The developing field of thermal biology-」

オーガナイザー：岡部 弘基、原田 慶恵

会場：つくば国際会議場

2016年12月10日 (土) ~11日 (日)

第1回Biothermology Workshop -生命システムの熱科学

会場：岡崎コンファレンスセンター

2017年1月18日 (水) 第2回若手の会

会場：未定

2017年1月19日 (木) ~20日 (金) 第3回領域会議

会場：岡崎コンファレンスセンター

2017年3月28日 (火) ~30日 (木) 第94回日本生理学会大会にてシンポジウムを開催

「温度生物学の視点から探る生理機能」

オーガナイザー：柴崎 貢志、岡部 弘基

会場：浜松アクトシティコンgresセンター

2017年9月4日 (水) 2017年夏の国際シンポジウム

会場：京都大学

2017年10月28日 (土) ~29日 (日)

第24回日本時間生物学会学術大会にてシンポジウムを開催

「温度情報と時刻情報のモレキュラーインターフェイス」

オーガナイザー：濱田 文香、富永 真琴

プログラム委員：土居 雅夫

会場：京都大学



編集後記

京都大学大学院 工学研究科 合成・生物化学専攻 准教授
原 雄二

平成28年6月に開催された第2回領域会議では、カメラ係(?)として参加させていただきました。計画班員に加え今回は公募班員23名の先生方のご発表を聴講させていただき、大変勉強になりました。今回のニュースレター原稿を拝見しましても、研究分野としてイオンチャネル・シグナル伝達・神経回路機構・概日時計・脂質動態・プローブ開発等、対象動物では、ヒト・げっ歯類・象・鳥類・ショウジョウバエ・線虫・カイコ等、幅広い分野の領域研究であり、温度生物学の重要性・多様性を改めて感じました。今後、計画班・公募班の先生方の有機的な結びつきにより、新たな温度生物学研究の創成が大いに期待されるのではないかと思います。私は現在骨格筋形成機構に係る研究に従事しております。骨格筋は単に運動器官だけでなくエネルギー代謝等で温度生物学に密接に関係する器官でもあり、少しでも温度生物学の発展に貢献できるように情熱を持って精進していきたいと思えます。

最後にご多忙の中にも関わらず原稿をご作成いただきました先生方、表紙デザイン画を提供していただいた中洲幸氏、誌面構成に尽力いただいた梅田研究室 長尾・山口両氏に感謝申し上げます。

平成27年度～31年度

文部科学省科学研究費補助金「新学術領域研究（研究領域提案型）」

温度を基軸とした生命現象の統合的理解（温度生物学）

第2号（2016年9月発行）

<http://www.nips.ac.jp/thermalbio/>

過去のニュースレターをホームページで公開しています。