

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.5



Contents 目次

領域代表挨拶	01
「温度生物学」のさらなる発展を目指して	
富永 真琴 (自然科学研究機構 生命創成探究センター (ExCELLS))	
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	
計画班の研究概要	04
A01: 富永 真琴、高木 昌宏、久原 篤、内田 邦敏、今本 尚子、梅田 真郷、 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	
公募班の研究概要	11
A01: 養王田 正文、清水 啓史、坂口 怜子、藤原 祐一郎、西頭 英起、村上 達也、 江藤 圭、神谷 厚範	
A02: 櫻井 勝康、大西 浩史、畠山 浩人、中山 一大、酒井 寿郎、神吉 智丈、 森 郁恵、西 英一郎、中川 貴之、野村 真、太治 輝昭、関 原明、砂川 玄志郎	
第5回 領域会議：概要	32
会期：2018年2月10日（土）～11日（日）	
会場：東京大学本郷キャンパス・薬学系総合研究棟2F講堂	
第6回 領域会議：概要	33
会期：2018年6月25日（月）～26日（火）	
会場：沖縄コンベンションセンター	
領域会議：若手の声	34
岩崎 広高 (滋賀医科大学)	
橘 大輝 (北海道大学大学院 生命科学院)	
第3回 若手の会：概要	36
会期：2018年1月19日（金）～20日（土）	
会場：邦和セミナープラザ	
第4回 若手の会：概要	37
会期：2018年6月26日（火）～27日（水）	
会場：沖縄コンベンションセンター	
2018年温度生物学公開シンポジウム「温度生物学の展開」	38
会 期：2018年2月11日（日）	
場 所：東京大学本郷キャンパス・薬学系総合研究棟2F講堂	
開催報告：今本 尚子 (理化学研究所)	
本領域の活動	39
国際共同研究加速基金活動報告	
柴崎 貢志 (群馬大学大学院 医学系研究科)	
シンポジウム開催報告	
柴崎 貢志 (群馬大学大学院 医学系研究科)	40
岡部 弘基 (東京大学大学院 薬学系研究科)	
江藤 圭 (生理学研究所)	
中村 和弘 (名古屋大学大学院 医学系研究科)	
温度生物学 技術紹介	44
岡部 弘基 (東京大学大学院 薬学系研究科)	
トピックス	45
「恒温動物と変温動物の神経発生プログラムの共通性と多様性の解明」	
野村 真 (京都府立医科大学大学院 医学研究科)	
「温度受容システムの進化的な変化と環境適応」	
齋藤 茂 (生理学研究所)	
今後の活動予定	51

領域代表挨拶

「温度生物学」のさらなる発展を目指して」



自然科学研究機構
生命創成探究センター（ExCELLS）
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）」は、4月には新たな公募班員を迎えて、4年目がスタートしました。約三分の二が新しい班員で、ヒトや植物の研究者も加わり、温度生物学研究の裾野の広さを実感します。

今年の夏は、猛暑のために熱中症で多くの方が亡くなりました。また、地球温暖化に関する異常気象が目立ちます。「温度」をテーマに推進する新学術領域研究として、社会に何らかの貢献ができないかいつも考えます。しかし同時に、細りゆく我が国の基礎科学研究の中で、世界に誇れる温度生物学研究の成果発信をしていく使命も感じます。

新学術領域研究「温度生物学」の新しいメンバー紹介も含めて、ニュースレター第5号をお届けします。締めくくりを始める4年目ではありますが、新しい班員と温度生物学研究をさらに進めていきたいと思っています。研究領域内での有機的な結びつきをより一層強め、「温度センシング」と「温度応答システム」の両者を結合しうる見通しを研究領域内外に示して「温度生物学」の創成にむけて邁進します。

研究組織

総括班

富永 真琴	自然科学研究機構 生命創成探究センター（ExCELLS）	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
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
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
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	自然科学研究機構 生命創成探究センター（ExCELLS）
高木 昌宏	北陸先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科
久原 篤	甲南大学 理工学部
内田 邦敏	福岡歯科大学 口腔歯学部

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	東京医科歯科大学大学院 歯学総合研究科

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

養王田 正文	東京農工大学大学院 工学研究院
清水 啓史	福井大学 学術研究院
坂口 怜子	京都大学高等研究院 物質-細胞統合システム拠点
藤原 祐一郎	香川大学 医学部
西頭 英起	宮崎大学 医学部
村上 達也	富山県立大学 工学研究科
江藤 圭	生理学研究所
神谷 厚範	岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科

A02班「温度応答システム」の研究連携

櫻井 勝康	筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構
大西 浩史	群馬大学大学院 保健学研究科
畠山 浩人	千葉大学大学院 薬学研究院
中山 一大	東京大学大学院 新領域創成科学研究科
酒井 寿郎	東京大学 先端科学技術研究センター
神吉 智丈	新潟大学大学院 医歯学総合研究科
森 郁恵	名古屋大学大学院 理学研究科
西 英一郎	滋賀医科大学 医学部
中川 貴之	京都大学 医学部附属病院
野村 真	京都府立医科大学大学院 医学研究科
太治 輝昭	東京農業大学 生命科学部
関 原明	理化学研究所
砂川 玄志郎	理化学研究所

班友

深田 吉孝	東京大学大学院 理学系研究科
-------	----------------



計画班の研究成果

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 生命創成探究センター 温度生物学研究グループ、生理学研究所 細胞生理研究部門 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

自己紹介

温度感受性TRPチャネルの異所性発現系を用いた機能解析（パッチクランプ法やカルシウムイメージング法）、変異体等を用いた構造機能解析、感覚神経細胞を用いた電気生理学的な機能解析、組織での発現解析、遺伝子欠損マウスを用いた行動解析などを通して温度受容・侵害刺激受容のメカニズムの全容解明とともに、細胞が温度を感知する意義の解明を目指しています。また、温度感受性TRPチャネルの進化解析やショウジョウバエを用いた温度感受性の研究も進めています。

論文

1. Maruyama K et al. The ATP transporter VNUT mediates induction of Dectin-1-triggered *Candida* nociception. *iScience*. (in press.)
2. Suzuki Y et al. TRPV6 variants interfere with maternal-fetal calcium transport through the placenta and cause transient neonatal hyperthyroidism. *Am. J. Hum. Genet.* 102: 1-11 (2018).
3. Derouiche S et al. TRPV4 heats up ANO1-dependent exocrine gland fluid secretion. *FASEB J.* 32: 1841-1854 (2018).

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 先端科学技術研究科 マテリアルサイエンス系 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：相分離構造の安定性とダイナミクスに関する研究)

自己紹介

我々は、脂質ラフトに代表される膜相分離構造と細胞信号伝達の関係について、生きた細胞と人工細胞膜（リポソーム）の両方を用いて研究を行っている。膜中に存在するコレステロールや脂肪酸、さらには外部から加わった生理活性物質が、相分離構造の温度安定性や、エンドサイトーシス、エキソサイトーシス等の膜ダイナミクスに与える影響を調べ、膜チャネルや受容体を介した細胞信号伝達に与える影響について考察を行っている。

論文

1. Miyake M et al. Membrane permeation of giant unilamellar vesicles and corneal epithelial cells with lipophilic vitamin nanoemulsions. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 169: 444-452 (2018).
2. Phan HTT et al. Strikingly different effects of cholesterol and 7-ketocholesterol on lipid bilayer-mediated aggregation of amyloid beta (1-42). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 500: 98-103 (2018).
3. Gusain P et al. Chirality-dependent interaction of D- and L-menthol with biomembrane models. *Membranes* 7: 69 1-13 (2017).

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 生体調節学研究室 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：温度情報伝達の多様性解析)

自己紹介

温度応答の多様性を捉えるために、線虫*C. elegans*の低温耐性を使い解析している。これまでに、光感覚ニューロンが3量体Gタンパク質経路を介して温度情報を伝達すること、精子が頭部の温度受容ニューロンをフィードバック制御することが見つかった。さらに最近、化学受容ニューロンで受容された温度情報がTRPチャネルを介して、Ca²⁺依存性エンドヌクレアーゼを活性化し、低温耐性を制御することが見つかった。

論文

1. Ujisawa T et al. Endribonuclease ENDU-2 regulates multiple traits including cold tolerance via cell autonomous and nonautonomous controls in *C. elegans*. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**. (in press)
2. Sonoda S et al. Sperm affects head sensory neuron in temperature tolerance of *Caenorhabditis elegans*. **Cell Rep.** 16, 1: 56–65 (2016).
3. Ohta A, Ujisawa T et al. Light and pheromone-sensing neurons regulate cold habituation through insulin signaling in *C. elegans*. **Nat. Commun.** 5: 4412 (2014).

計画研究 研究項目A01-1

内田 邦敏【うちだ くにとし】

福岡歯科大学 細胞分子生物学講座 分子機能制御学分野 講師



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：人工再構成系を用いた温度感受性TRPチャネルの機能解析)

自己紹介

細胞が温度を情報として検知し伝達するためには、温度情報を電気信号に変換する必要があると考えられます。私たちは、温度情報を電気信号に変換するメカニズム、すなわち温度によってイオンチャネルが開くメカニズムの解明を目的として研究を進めています。温度は全ての分子に影響を与えることから、構成要素が単純で制御可能な実験系である人工再構成系を用いて温度感受性TRPチャネルの機能解析を行っています。

論文

1. Ishii T et al. TRPV2 channel inhibitors attenuate fibroblast differentiation and contraction mediated by keratinocyte-derived TGF-β1 in an in vitro wound healing model of rats. **J. Dermatol. Sci.** 90: 332-342 (2018).
2. Uchida K et al. Involvement of thermosensitive TRP channels in energy metabolism. **J. Physiol. Sci.** 67: 549-560 (2017).
3. Uchida K et al. Stimulation-dependent gating of TRPM3 channel in planar lipid bilayers. **FASEB J.** 30: 1306-1316 (2016).

計画研究 研究項目A01-2

今本 尚子【いもと なおこ】

国立研究開発法人理化学研究所 開拓研究本部 今本細胞核機能研究室 主任研究員



研究課題名

細胞核の温度センシング機構の解明

自己紹介

本領域では、温度に関わる核-細胞質間輸送の問題にfocusをしている。細胞は熱ストレスを受けると、核-細胞質間輸送が様々に変化する。例えば、低分子量GTPase Ranに依存するImportin輸送ファミリーが担う輸送は、正常時に活発だが、熱ストレス時に低下する。その一方で、熱ストレス時に、Importinファミリーには属さないHikeshiが担う輸送が駆動する。温度で変化する輸送の細胞機能や、変化するメカニズムに目を向けると、これまで誰も気づいてこなかった新しい問題が見えてくる。

論文

1. Ogawa Y & Imamoto N. Nuclear transport adapts to varying heat stress in a multistep mechanism. *J. Cell Biol.* 217: 2341-2352 (2018).
2. Kimura M et al. Extensive cargo identification reveals distinct biological roles of the 12 Importin pathways. *eLife* 6: e21184 (2017).
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

個々の細胞が如何にして細胞内の温度を感知し、細胞内の物理化学的環境や代謝レベルを変化させ、環境温の変動に適応しているのか依然不明である。脂肪酸不飽和化酵素は、細胞内の温度変化に鋭敏に応答して発現が変動し、細胞膜流動性の調節を始め、脂質・エネルギー代謝制御、性行動や体温調節行動に関与するユニークな分子である。本課題では、同酵素の発現制御機構と生物機能の解明を通して、細胞内温度センシングとエネルギー代謝制御機構を明らかにすべく研究を進めている。

論文

1. Tsuchiya M et al. Cell surface flip-flop of phosphatidylserine is critical for PIEZO1-mediated myotube formation. *Nat. Commun.* 9: 2049 (2018).
2. Suito T et al. Synthesis of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid-rich triacylglycerols in an endemic goby, *Gymnogobius isaza*, from Lake Biwa, Japan. *J. Biochem.* 164: 127-140 (2018).
3. Murakami et al. An N-terminal di-proline motif is essential for fatty acid-dependent degradation of $\Delta 9$ -desaturase in *Drosophila*. *J. Biol. Chem.* 292: 19976-19986 (2017).

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

細胞内の時空間的温度変化が細胞の機能にどのような影響を及ぼすのか、さらには組織や個体といったより高次な生命現象とどのように関わるのか知りたいと思っています。細胞を対象とした実験はこれまで私が主として行ってきた精製タンパク質を使った実験と比べて、結果のばらつきが大きく、得られたデータの解釈も難しいことを痛感しています。実験条件検討に苦労しましたが、神経様細胞の温度計測で面白い結果が得られてきました。

論文

1. Masubuchi E et al. Construction of integrated gene logic-chip. *Nat. Nanotechnol.* (in press)
2. Sotoma S et al. Enrichment of ODMR-active nitrogen-vacancy centres in five-nanometre-sized detonationsynthesized nanodiamonds: Nanoprobes for temperature, angle and position. *Sci. Rep.* 8: 5463 (2018).
3. Han Y-W et al. The application of fluorescence-conjugated pyrrole/imidazole polyamides in the characterization of protein-DNA complex formation. *Biomaterials Sci.* 4: 391-399 (2016).

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

細胞内における温度計測法の改良や細胞内温度に関する新規計測法の開発に加えて、細胞内局所の温度を加熱する方法の開発も行います。細胞内温度計測と操作法を用いることで、細胞内の局所的な温度変化による細胞機能発現「細胞内温度シグナリング」のメカニズムと生理的意義を解明します。また、A01班員との共同により細胞内熱維持の分子機構を解明するとともに、A02班員との共同で神経細胞や脳組織での温度計測法を開発し、生理現象における細胞内熱利用の機構と生理的意義の解明を目指します。

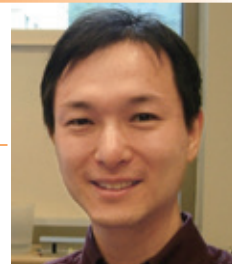
論文

1. Hoshi Y et al. Ischemic brain injury leads to brain edema via hyperthermia-induced TRPV4 activation., *J. Neurosci.* 38: 5700-5709 (2018).
2. Okabe K et al. Intracellular thermometry with fluorescent sensors for thermal biology, *Pflugers Arch.* 470: 717-730 (2018).
3. Okabe K et al. Intracellular temperature mapping with a fluorescent polymeric thermometer and fluorescence lifetime imaging microscopy. *Nat. Commun.* 3: 705 (2012).

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

人間を含めた恒温動物の体温調節システムは、感染、心理ストレス、栄養状態など、様々な環境ストレスに応じて柔軟に機能し、それが生命（恒常性）の維持に大きく貢献します。私達はラット・マウスの様々な個体レベルの解析を通じて、体温調節だけでなく環境ストレスから生命を守るうえで重要な役割を担う脳の神経回路メカニズムを解明しつつあります。この研究によって、「生命とはなにか？」を明らかにしたいと考えています。

論文

1. Nakamura K and Nakamura Y. Hunger and satiety signaling: modeling two hypothalamomedullary pathways for energy homeostasis. *Bioessays* 40: 1700252 (2018).
2. Yahiro T et al. The lateral parabrachial nucleus, but not the thalamus, mediates thermosensory pathways for behavioural thermoregulation. *Sci. Rep.* 7: 5031 (2017).
3. Nakamura Y et al. Medullary reticular neurons mediate neuropeptide Y-induced metabolic inhibition and mastication. *Cell Metab.* 25: 322-334 (2017).

計画研究 研究項目A02-1

山田 哲也【やまだ てつや】

東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 分子内分泌代謝学分野 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

我々は肝臓－褐色脂肪連関に着目して研究を進め（論文2、3）、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してきました。本領域がスタートした後も、糖尿病治療薬であるSGLT2阻害薬投与による肝臓の糖代謝変化が、神経ネットワークを介して褐色脂肪の熱産生低下を引き起こしていることを代表の中村和弘教授らとの共同研究で発見しました（論文1）。さらに、肝臓のインスリンシグナルの減弱が褐色脂肪の熱産生に及ぼす新規の臓器連関を見出しており、そのメカニズムの全容解明を目指して研究を進めています。

論文

1. 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).
2. Tsukita S et al. Hepatic glucokinase modulates obesity predisposition by regulating BAT thermogenesis via neural signals. *Cell Metab.* 16: 825-832 (2012).
3. Uno K et al. Neuronal pathway from the liver modulates energy expenditure and systemic insulin sensitivity. *Science* 312:1656-1659 (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 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、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神経回路、個体・組織・細胞内の局所温度の時間変化を生み出す分子機構の解明を目指している。これまでに、温度と体内時計機構の接点となりえる中核時計蛋白質PER2の蛋白質変動プロファイルをとらえる方法を樹立し、さらには、脳内中枢時計からの体温制御機構において昼寝の体温制御を担うGタンパク質共役受容体CalcRを同定することができた。

論文

1. Gida T and Doi M et al. Calcitonin receptors are ancient modulators for rhythms of preferential temperature in insects and body temperature in mammals. *Genes Dev.* 32: 140-155 (2018).
2. Chao HW and Doi M et al. Circadian clock regulates hepatic polyploidy by modulating Mkp1-Erk1/2 signalling pathway. *Nat. Commun.* 8: 2238 (2017).
3. 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).

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

温度による行動制御の基盤となる快・不快情動生成機構を明らかにするために、暑熱・寒冷環境曝露時の脳内神経伝達物質遊離量変化のマイクロダイアリス法による解析、環境温度選択行動に関わる神経回路に関する薬理遺伝学的手法を用いた解析、ファイバーフォトメトリー蛍光計測による環境温度選択行動中の脳内神経活動計測を行っている。本領域において開発される温度感受性蛍光プローブを活用したファイバーフォトメトリーによる脳内温度計測にも挑戦したい。

論文

1. Kaneko T et al. Activation of adenylate cyclase-cyclic AMP-protein kinase A signaling by corticotropin-releasing factor within the dorsolateral bed nucleus of the stria terminalis is involved in pain-induced aversion. *Eur. J. Neurosci.* 44: 2914-2924 (2016).
2. 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).
3. 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).

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 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
(分担課題：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

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すメカニズムを解析している。今回、脳浮腫領域では3℃程度の発熱が生じ、TRPV4が異常活性化することで病態悪化が進行することを突き止めた。また、従来侵害熱センサーとして報告されてきたTRPV2(52℃以上で活性化)が子宮内の胎児ではメカノセンサーとして神経回路形成を制御するメカニズムも解析中である。

論文

1. Matsumoto H et al. Retinal detachment-induced Müller glial cell swelling activates TRPV4 ion channels and triggers photoreceptor death at body temperature. *J. Neurosci.* (in press)
2. Hoshi Y et al. Ischemic brain injury leads to brain edema via hyperthermia-induced TRPV4 activation. *J. Neurosci.* 38: 5700-5709 (2018).
3. Sugio S et al. TRPV2 activation requires interaction with the actin cytoskeleton and enhances growth cone motility. *FASEB J.* 31: 1014-1019 (2017).

公募研究 研究項目A01

養王田 正文【よおだ まさふみ】

東京農工大学大学院 工学研究院 生命機能科学部門 教授



研究課題名

ユビキタス温度センサーsHspが司る多様な生命現象の解明

研究概要

sHspは全ての生物に存在する熱ショックタンパク質である。文字通り分子量の小さい熱ショックタンパク質であるが、細胞内で重要な機能を担っている。sHspは、常温では不活性型のオリゴマー構造であり、温度の上昇によりオリゴマーが解離してシャペロンとしての機能を発現する細胞内温度センサーである。また、タンパク質の熱凝集抑制以外の様々な生命現象を制御している。本研究では、sHspの温度センシング機構を解明と、高温で活性化したsHspが相互作用するタンパク質を同定し、sHspが司る生命現象解明を目指す。現在我々は、動物細胞においてユビキタスに存在するHspB1とHspB5を対象として研究を進めている。HspB1は最も研究されているsHspの1つである。高温条件やリン酸化によるオリゴマーの解離とシャペロンとしての活性化は知られているが、オリゴマー構造も明らかになっておらず、メカニズムの研究は遅れている。我々は、CHO細胞由来HspB1 (CgHspB1) の機能・構造に関する研究を行ない、CgHspB1が16量体を形成することを示す結果を得ている。しかしながら、過去の報告と異なることから検証を求められている。Native Mass Spectrometryや分析超遠心による解析を行い、16量体であることを検証する。また、分析超遠心により温度上昇によるダイマーへの解離の中間状態の解析を行う。さらに、変性タンパク質存在条件下で解析を行い、変性タンパク質と相互作用するオリゴマー構造を明らかにする。HspB5は α ブクリスタリンと呼ばれており、主に目や筋肉で重要な機能を担っている。HspB5のR120G変異体様々な疾患の原因となることが知られている。この変異体は安定な巨大オリゴマーを形成することから、解離能が欠損することでシャペロンとしての機能を失っている。この変異をレスキューする変異として、IXIモチーフ (IPI) をAAAに変換したIPI変異体が同定される。IPI変異体はオリゴマー形成能を失うが、R120GとIPIのダブル変異体が野生型と同様なオリゴマーを形成することから、IPIとR120の相互作用がオリゴマー形成と解離に重要であることが示唆されている。これらの変異体のオリゴマー形成と解離を解析することで、解離機構の解明につながる結果を得る。また、インタラクトーム解析により、HspB5の細胞内での機能を明らかにする。さらに、生育至適温度の異なる様々な生物由来sHspのアミノ酸配列、構造を比較することで、その温度センシング機構を明らかにする。

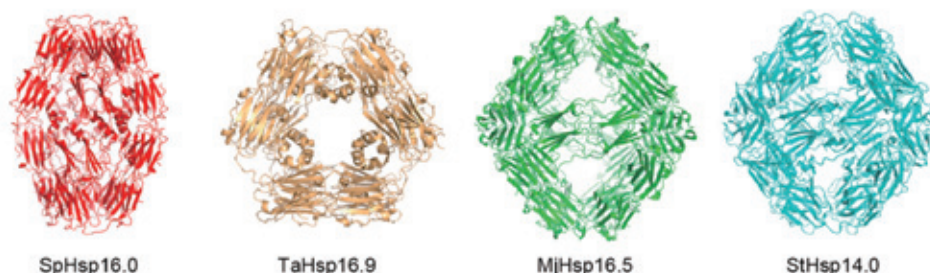


図 様々なsHspのオリゴマー構造

SpHsp16.0: sHsp from *Schizosaccharomyces pombe*, 16 mer; TaHsp16.9: sHsp from wheat, 12 mer;MjHsp16.5: sHsp from *Methanocaldococcus jannaschii*, 24 mer. StHsp14.0: sHsp from *Sulfolobus tokodaii*, 24mer.

論文

1. Hanazono Y et al. Nonequivalence observed for the 16-meric structure of a small heat shock protein, SpHsp16.0, from *Schizosaccharomyces pombe*. **Structure** 21: 220-228 (2013).
2. Hanazono Y et al. Structural studies on the oligomeric transition of a small heat shock protein, StHsp14.0. **J. Mol. Biol.** 422: 100-108 (2012).
3. Abe T et al. StHsp14.0, a small heat shock protein of *Sulfolobus tokodaii* strain 7, protects denatured proteins from aggregation in the partially dissociated conformation. **J. Biochem.** 150: 403-409 (2011).

公募研究 研究項目A01

清水 啓史【しみず ひろふみ】

福井大学 学術研究院 医学系部門 講師

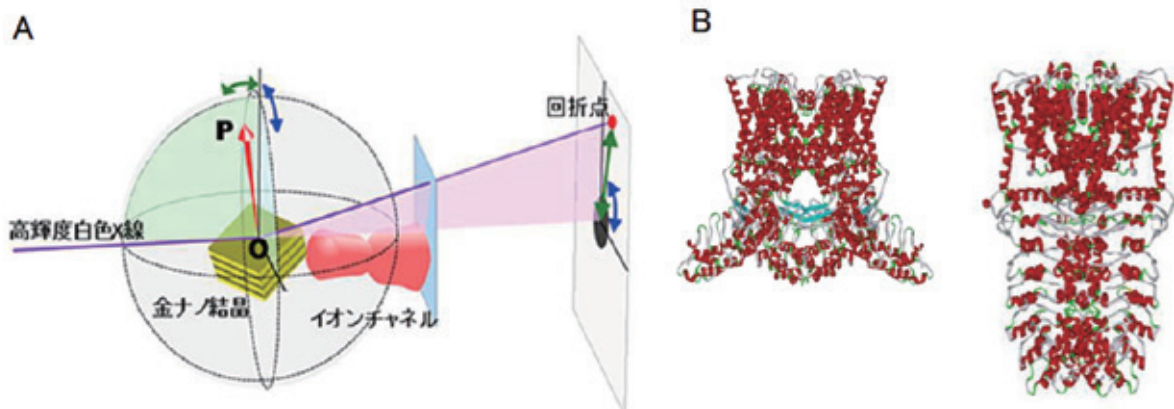


研究課題名

X線1分子動態計測による温度依存性イオンチャネル開閉制御機構の動的解明

研究概要

X線1分子動態計測法は、蛋白質の分子揺らぎや構造変化を1分子で連続的に動画計測することができる計測法である。標的分子の一端を基板に固定し、他端を金ナノ結晶で標識し、放射光白色X線を観測光として用いて、蛋白質の構造変化を金ナノ結晶からの回折点の運動として2次元検出器で動画計測する。X線回折現象を利用した計測法であるため、~0.1度程度の高い空間分解能で運動計測することができる。蛋白質分子のねじれ運動は回折点の回転運動として、屈曲運動は半径方向の運動として検出器上で捉えることができる。これまでにKcsAカリウムイオンチャネルを用いて、その開閉に伴うねじれ構造変化を回折点の回転運動として観測することに成功している。また、金ナノ結晶の標識方法を適切に選ぶことで分子揺らぎも評価することができる。近年、放射光白色X線集光ミラーを設計・導入し、高速観測カメラシステムと組み合わせることでサブミリ秒の時間分解能を実現している。また、赤外レーザーと熱カメラシステムの導入により、動態計測中に温度条件を変化させることが可能になっている。本研究課題においては観測対象分子をTRPチャネルとして1分子動態計測を行い、温度によってどのように開閉が制御されているのか、動的側面からその機構を解明することを目指す。



観測システムの概要とTRPチャネルで予想される構造変化

A. 蛋白質を基板に固定し他端に金ナノ結晶を固定する。金ナノ結晶からの回折点の運動を計測する。観測に放射光X線を用いる。

B. TRPV1（左）とTRPA1（右）の立体構造。構造変化を予測しながら適切な観測部位を探索し機能測定でスクリーニングする。KcsAチャネルでは細胞外ループ領域で基板に固定し、細胞内領域に金ナノ結晶を標識した。

論文

1. Tahara K et al. Photoresist micro-chamber for the diffracted X-ray tracking method recording single-molecule conformational changes. *Procedia Eng.* 168: 1394–1397 (2016).
2. Shimizu H et al. Global twisting motion of single molecular KcsA potassium channel upon gating. *Cell* 132: 67-78 (2008).

公募研究 研究項目A01

坂口 怜子【さかぐち れいこ】

京都大学 高等研究院 物質-細胞統合システム拠点 (iCeMS) 特定助教



研究課題名

蛍光性タンパク質温度センサーを用いた生体内温度分布の意義の解明

研究概要

内温性動物は、体温を一定に保つために、外気温の変化に応じて体内の熱産生を制御する機構を持っている。哺乳類の熱産生に関しては、特定の細胞内小器官からの熱産生が提唱されているが、これを直接的に評価する方法が不十分であったことから、熱産生の定量的な議論や実際の体温変化への寄与はほとんど理解されていなかった。

当研究室では、サルモネラ菌由来の温度感知タンパク質であるTlpAとGFPを融合した、細胞内および細胞内小器官の温度計測を可能とする温度センサータンパク質 (tsGFP) を開発した。tsGFPは37℃付近の温度変化を鋭敏に感知し、励起スペクトルの2つの極大の変化をレシオメトリックな変化として検出することができた。tsGFPはタンパク質ベースであることから、遺伝子を導入するだけで非侵襲的に生細胞内・組織内で発現させることができ、さらに細胞内小器官局在シグナル配列を付与することで、各小器官における特異的な観察が可能である。これらのセンサーを用いて、小胞体特異的な熱産生や、ミトコンドリア内の温度分布の可視化にも成功している (Kiyonaka et al., *Nature Methods*, 2013)。

同一細胞のミトコンドリア内における温度分布の存在は驚くべきことであったが、同様の観測結果が他のグループからも報告されており、議論の余地がありながらも認められつつある。本研究では、この生体内温度不均一性の生理学的な意義の解明のために、tsGFPを用いた検討を行っている。具体的には、細胞周期に依存した細胞核内温度の経時変化や複製・転写の活性化・抑制に伴う熱産生の観測や、脂肪細胞内におけるミトコンドリアの寒冷刺激に応答した熱産生などを観察している。また、熱作動性イオンチャネルの近傍膜上での局所温度変化の計測や、ショウジョウバエ由来細胞内での代謝変化に伴うミトコンドリア内温度変化の測定など、他の研究班との連携も行っている。さらに、蛍光特性の異なる変異体や、鋭敏に検出できる温度領域の異なる変異体など、tsGFPの改良にも着手している。

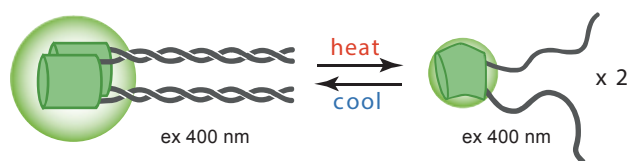


図1 tsGFP1の作動模式図 (Kiyonaka S et al. *Nat. Methods* 10: 1232-1238 (2013)) より改変

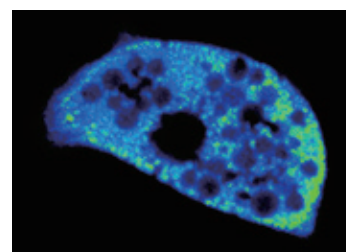


図2 ミトコンドリア型tsGFP1を発現したラット褐色脂肪細胞 (Kiyonaka S et al. *Nat. Methods* 10: 1232-1238 (2013)) より改変

論文

1. Kiyonaka S et al. Validating subcellular thermal changes revealed by fluorescent thermosensors. *Nat. Methods* 12: 801-802 (2015).
2. Sakaguchi R et al. Fluorescent sensors reveal subcellular thermal changes. *Curr. Opin. Biotechnol.* 31: 57-64 (2014).
3. Kiyonaka S et al. Genetically encoded fluorescent thermosensors visualize subcellular thermoregulation in living cells. *Nat. Methods* 10: 1232-1238 (2013).

公募研究 研究項目A01

藤原 祐一郎【ふじわら ゆういちろう】

香川大学 医学部 分子生理学 教授

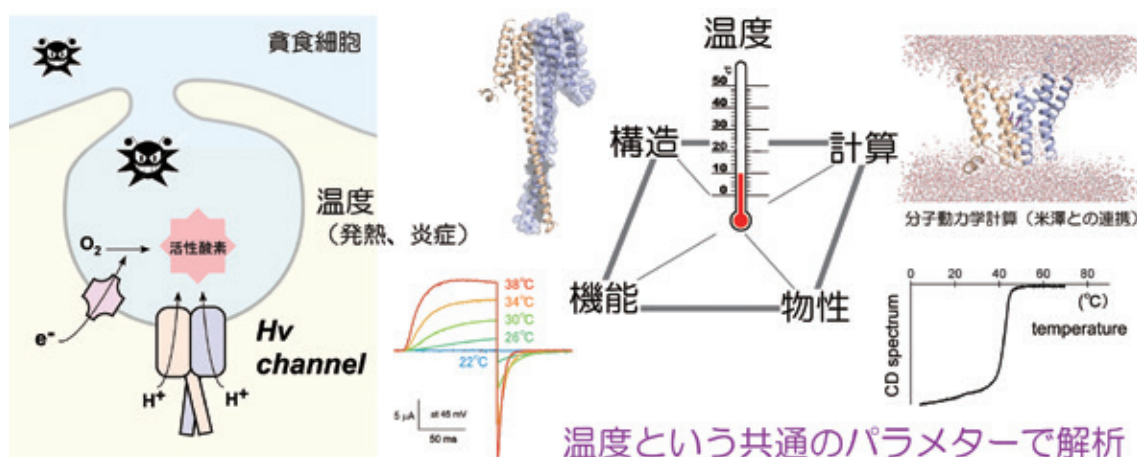


研究課題名

プロトンチャネルの温度感知機構の解明と理論応用

研究概要

好中球やマクロファージなどの貪食細胞に発現する電位依存性H⁺チャネル（Hvチャネル）は、病原菌を退治する際の活性酸素の産生を担うチャネルとして知られている。Hvチャネルの特徴として、体温に近い温度域から急激に活性化キネティクスが上昇し電流が増大することが知られており、発熱と免疫システムの関係の背後に体温を感知するHvチャネルの存在が示唆されている。生体分子センサーが機能するためには、生理的温度にアジャストされた「温度域値」とシャープに温度に応答する「強い温度依存性」の両方の特性が必要となる。それらの分子構造基盤を明らかにし、Hvチャ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チャネルなどのより複雑な構成要素からなるイオンチャ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ネルであるHvチャネルの温度特性を解析することを通じて、チャ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. 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).
2. Takeshita K et al. X-ray crystal structure of voltage-gated proton channel. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 21: 352-357 (2014).
3. Fujiwara Y et al. Temperature sensitive gating of voltage-gated proton channel. *Curr. Top. Membr. "Thermal Sensors"* 74: 259-292 (2014).

公募研究 研究項目A01

西頭 英起【にしとう ひでき】

宮崎大学 医学部 機能生化学分野 教授



研究課題名

小胞体-ミトコンドリア接触場における温度センシング機構の解明

研究概要

ヒトでの脂肪消費による熱産生は、全身性代謝維持の面から重要な生体機能の一つである。褐色脂肪細胞では、脱共役タンパク質 (uncoupling protein : UCP) を介した熱産生機構が詳細に解析されている。しかし、ミトコンドリアでの熱産生は脱共役を伴うため、ミトコンドリア品質が一時的に悪化する。そのホメオスタシス回復のために、産生熱あるいはそれに付随する何らかのミトコンドリア変化をセンシングし、下流ヘシグナルを伝えることによってミトコンドリア品質が管理されていると想定される。本研究では、「褐色脂肪細胞において、どのようにミトコンドリアが品質管理され、熱産生システムの恒常性が維持されているのか」について解明することを目的とする。これまでのオルガネラ研究から、次の点を発見している。①褐色脂肪細胞では、小胞体-ミトコンドリア膜接触が著しく増加する (図1)。②褐色脂肪細胞分化、アドレナリン受容体刺激、細胞温熱刺激依存的に、小胞体受容体PERKが活性化される。③その活性化は、通常の小胞体ストレス応答とは異なる特異的リン酸化に依存する。④PERK欠損によりミトコンドリア内膜構造が破綻する。⑤PERK欠損細胞は、アドレナリン受容体刺激による熱産生が有意に低下する。以上の知見から、「褐色脂肪細胞特有のオルガネラ構造 (ミトコンドリアと小胞体の緊密な接触場) が、ミトコンドリアからの熱産生を受容する“場”となり、小胞体側に存在するPERKが熱またはセカンドメッセンジャーを感知し、下流ヘシグナルを伝達する」との仮説 (図2) を立てている。具体的な研究課題として、「PERKのミトコンドリア熱産生センシングとその活性化機構の解明」「PERKが温度センシングする場 (空間) の解明」「PERKによる温度センシングの生物学的意義の解明」を目指します。

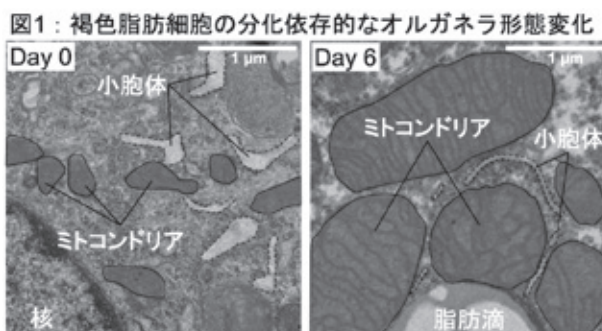
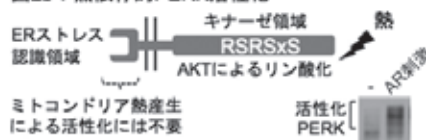


図2a: 小胞体-ミトコンドリア接触場での熱産生によるPERK活性化とその意義(仮説)



図2b: 熱依存的PERK活性化



論文

1. Kadowaki H and Nishitoh H. Endoplasmic reticulum quality control by garbage disposal. *FEBS J.* doi:10.1111/febs.14589 (2018).
2. Kadowaki H et al. Molecular mechanism of ER stress-induced pre-emptive quality control involving association of the translocon, Derlin-1, and HRD1. *Sci. Rep.* 8: 7317 (2018).
3. Kadowaki H et al. Preemptive quality control protects the ER from protein overload via the proximity of ERAD components and SRP. *Cell Rep.* 13: 944-956 (2015).

公募研究 研究項目A01

村上 達也【むらかみ たつや】

富山県立大学 工学研究科 村上研究室 教授



研究課題名

細胞局所ナノヒーターによる細胞の安全かつ迅速な構造機能制御

研究概要

金ナノロッド（AuNR）は長軸長50 nm程度のナノ粒子であり、近赤外光を吸収して発熱する。AuNRの表面をドラッグキャリアで修飾することにより、生理的条件下でもAuNRを凝集させず、細胞質（論文2）あるいは細胞膜（論文3）にAuNRを安全に効率良くに送達することが可能になる。結果として、HSPプロモーターあるいはTRPV1が光活性化される（図1）。本研究では、我々が開発したこれら2つの表面修飾AuNRの動作原理を詳しく調べることを目的とする。

細胞膜標的化AuNR（pm-AuNR）で用いられた標的化原理は、静電相互作用という単純なものである。しかし従来の方法で表面をカチオン化したAuNRでは、光照射すると細胞膜が崩壊し、TRPV1光活性化は検出されなかった。我々はpm-AuNRと脂質二重膜との相互作用に注目し、giant unilamellar vesicle（GUV）を作製して、pm-AuNRとGUVとの相互作用を解析した。このGUVは脂質ラフトのモデルである液体秩序（Lo）相と液体無秩序（Ld）相からなる。幸い、pm-AuNRはGUVsを懸濁している200 mMスクロース溶液（PBSと等張）でも良好なコロイド安定性を示したため、そのままの形でGUV実験を行った。参考までに、このスクロース溶液中でのpm-AuNRのコロイド安定性には、pm-AuNR表面に存在する成分とスクロースとの間のカチオン-双極子相互作用が重要であることを突き止めている（論文1）。GUV実験の結果、pm-AuNRはLo/Ld混合GUVのLo相に特異的に吸着し、そのLo相を徐々に崩壊させ、固体秩序（So）相を生じさせることがわかった。このようなLo → So相変化とTRPV1活性化の関係について、TRPV1再構成GUVを用いて今後研究を進めたいと考えている。

細胞質標的化AuNR（cy-AuNR）は、プラスミドDNAに対してリポフェクタミン2000と同等以上のトランスフェクション試薬として働く。これはcy-AuNRがエンドソームではなく、細胞質に主に局在するためだと考えられる。この状態でcy-AuNRを取り込んだ細胞を光照射すると、cy-AuNRによって導入されたHSPプロモーター駆動型プラスミドの転写が活性化された。活性化に必要な光照射時間はわずか10秒であった。細胞全体を加熱する場合、このプラスミドの転写活性化には30分程度かかる。AuNRのような光線温熱材料をエンドソームに蓄積させた場合、HSPプロモーターの活性化には数十分の光照射が必要との先行研究があることから、cy-AuNRによる迅速活性化は、その細胞質局在と関係していると考えられる。この分子メカニズムを明らかにするため、まずHikeshiの核移行を調べたいと考えている。

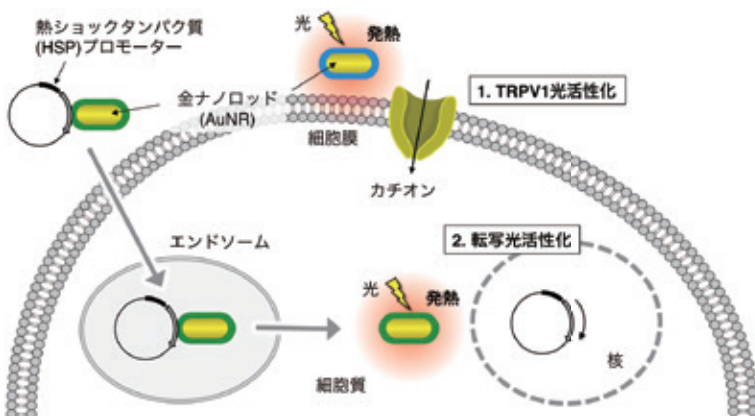


図1 本研究の基盤技術：細胞ナノヒーターによる細胞局所（細胞膜と細胞質）加熱

細胞膜に大量かつ安全に接合し、その後の光照射で細胞膜局所を加熱し、TRPV1光活性化を可能にする金ナノロッド（上）と、熱ショックタンパク質（HSP）プロモーター駆動型プラスミドを細胞内に送達し、細胞質移行後、光照射で細胞質を加熱し、導入遺伝子の転写を光活性化する金ナノロッド（下）

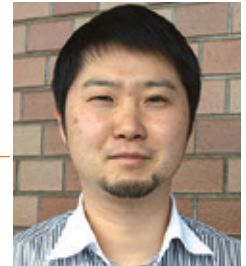
論文

1. Nobeyama T et al. Colloidal stability of lipid/protein-coated nanomaterials in salt and sucrose solutions. *ChemistrySelect*. (in press)
2. Nakatsuji H et al. Surface chemistry for cytosolic gene delivery and photothermal transgene expression by gold nanorods. *Sci. Rep.* 7: 4694 (2017).
3. Nakatsuji H et al. Thermosensitive ion channel activation in single neuronal cells by using surface-engineered plasmonic nanoparticles. *Angew. Chem. Int. Ed.* 54: 11725-11729 (2015).

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 生体恒常性発達研究部門 助教

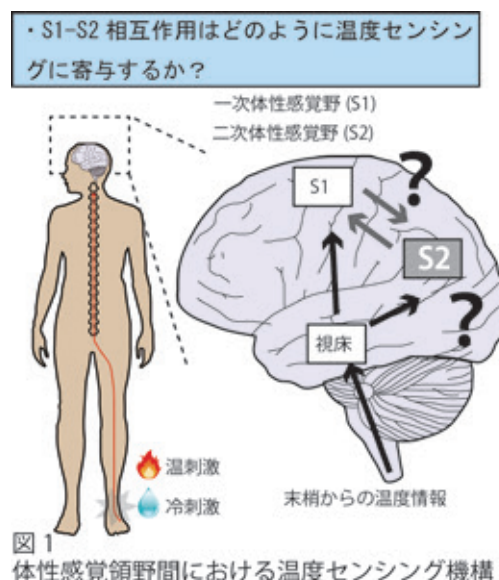


研究課題名

体性感覚領野間相互作用の温度センシングにおける役割

研究概要

温度感覚は外界環境の温度情報を知覚し、状況把握をすると共に危険を回避するために重要な感覚である。末梢で受容された温・冷の温度情報は脊髄・視床を経由し大脳皮質の体性感覚領域（一次体性感覚野（S1）と二次体性感覚野（S2））に伝達される。しかし、温度感覚がこれらの皮質領域でどのように処理されているか全く不明であった。そこで、申請者はこれまでの新学術領域温度生物学の公募班員としての研究で、2光子顕微鏡を用いたin vivoイメージングによりS1神経細胞の皮膚温度処理機構の解明に従事し、S1神経細胞は様々な温度刺激に応答し、温刺激のみ、冷刺激のみ、及び温・冷刺激の両方に応答する神経細胞が存在することが示唆された。一方、体性感覚情報はS1だけでなく複数の領域で処理される。S2はS1と密に情報連絡しており、S2はS1に投射すると共に、S1から入力を受ける。さらに、触覚においてはS1はその強度・部位の認識に寄与し、S2は触刺激のテクスチャーの認識や感覚記憶に寄与すると考えられている。これらのことから、温度感覚においてS1とS2はそれぞれ別の役割を担い、相互に影響し合うことにより情報処理を行っている可能性が考えられる。そこで、本研究では、S1-S2相互作用の温度センシングにおける役割を明らかにすることを目的とし、2光子顕微鏡を用いた生体イメージングにより、マウスS1・S2領域における神経細胞の細胞体・軸索活動を可視化し、温・冷刺激によって誘発される応答を検討する。また、S1神経細胞活動を選択的に光刺激法あるいはDREADD法を用いて活性化・抑制することでS2神経細胞の温度誘発応答を検討する。これにより温度感覚処理におけるS1・S2間の相互作用の寄与を明らかにする。



論文

1. Ishikawa T, Eto K et al. Cortical astrocytes prime the induction of spine plasticity and mirror image pain. *Pain* 159: 1592-1606 (2018).
2. 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).
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】

岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 医学部 細胞生理学分野 教授

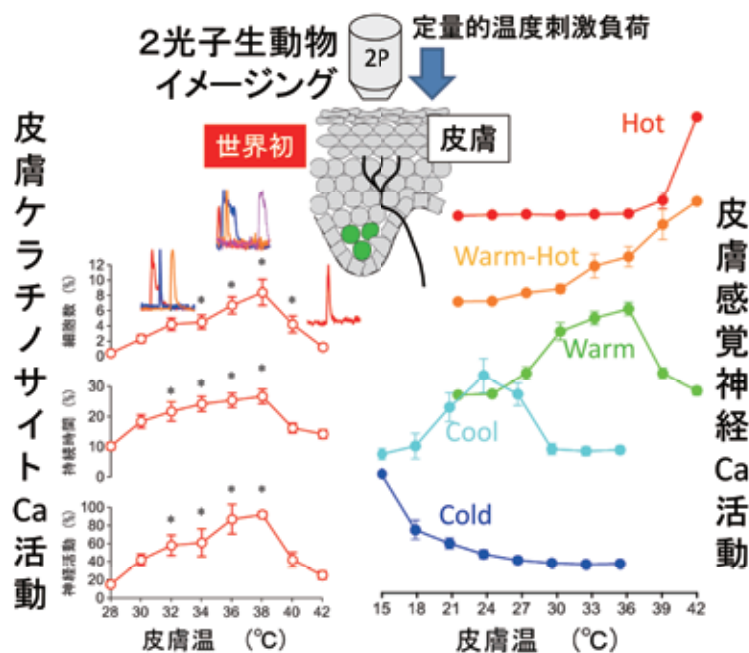


研究課題名

生動物2光子温度・神経イメージングによる皮膚等末梢臓器の温度動態・感知機構の解明

研究概要

恒温動物（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の温度（皮膚温）や、身体深部の温度（深部温）を感知する温度センシングは、極めて重要です。しかし、神経を含めた組織内の細胞が、実際にどのように温度を感知するのか、温度センシングの細胞レベルの実像は明らかではありません。また、恒温動物の体内において、組織内部の細胞や細胞内オルガネラの温度動態の実態は、解明されていません。これらは、生体の体温調節を理解するのに必須な、温度生物学の重要な課題です。本公募研究（平成30-31年度）では、全身の求心性神経や皮膚ケラチノサイトのCa活動が光るラット、ATPイメージング、定量的な動物局所の温度刺激負荷装置（0～50℃）、生動物2光子皮膚イメージング実験系、皮膚ケラチノサイト—ATP—感覚神経の連関からなる皮膚温度センシング（15℃～43℃）を世界ではじめて可視化し、その生理機構を統合的に解明することを目指します。また、全身の温度が見える温度可視化マウスを開発し、生動物における各種臓器組織の温度動態を1細胞レベル・オルガネラレベルで2光子イメージング解析し、恒温動物の体内における細胞温度の不均一性や各種オルガネラ温度動態・細胞内吸熱源を、その意義・役割、臓器間差異を含めて解明することを目指します。



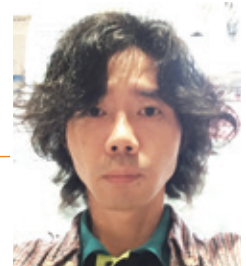
論文

1. Michikami D et al. Interrelations of vasoconstrictor sympathetic outflow to skin core temperature during unilateral sole heating in humans. *Auton. Neurosci.* 91: 55-61 (2001).
2. Michikami D et al. Attenuated thermoregulatory sweating and cutaneous vasodilation after 14-day bed rest in humans. *J. Appl. Physiol.* 96: 107-14 (2004).
3. Kamiya A et al. Heat stress modifies human baroreflex function independently of heat-induced hypovolemia. *J. Physiol. Sci.* 53: 215-22 (2003).

公募研究 研究項目A02

櫻井 勝康【さくらい かつやす】

筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構 Qinghua Liu研究室 助教



研究課題名

三叉神経のTRPA1を介した劇的な体温低下を引き起こす脳内スイッチの同定

研究概要

生物がその生命を脅かすような危機的状況に直面した場合、生体内では何が起きているのだろうか？生物は恐怖刺激に対して生存戦略の中で最も適切な行動・生理的反応を無意識に選択・実行する。この生理反応の中でも顕著な変化が認められる反応は、生命維持に必須である体温の変化である。様々な恐怖刺激やその状況に適切に対応して生存確率を高めるためには非常に素早い反応が求められる。よって脳内には体温を急激に変化させる生体恒常性維持機構を超越した緊急用スイッチが存在すると考えられる。すなわち、感覚器で受容された恐怖刺激の情報は直ちに脳に伝達され、状況に応じて緊急用スイッチのオン・オフを切り替えるのではないだろうか。現在のところ、恐怖刺激に対して体温を劇的に変化させる緊急用スイッチとして機能する脳領域および神経細胞群は同定されていない。

我々の研究室ではランダム点変異マウスを用いたフォワード・ジェネティックスのアプローチにより、先天的恐怖を引き起こす化学物質の曝露に対して恐怖行動（すくみ行動や急激な体温の低下）を全く示さない恐怖反応異常マウスを樹立し、更にその原因遺伝子がTRPA1であることを同定した (Wang et al., 2017)。さらに、三叉神経節に存在するTRPA1陽性細胞がすくみ行動といった恐怖行動の誘発に主要な役割を果たしていることを突き止めた。これらの結果から三叉神経節のTRPA1陽性神経細胞を介した恐怖刺激情報により、体温を急激に変化させる生体恒常性維持機構を超越した脳内の緊急用スイッチが存在するのではないかとの仮説を考えた。そこで、我々は神経活動依存的に特定の神経細胞群を標識・操作することができるCANEシステム (図1) を用いることにより、恐怖刺激情報により、体温を急激に変化させる生体恒常性維持機構を超越した脳内の緊急用スイッチを探索・同定することを目指します。

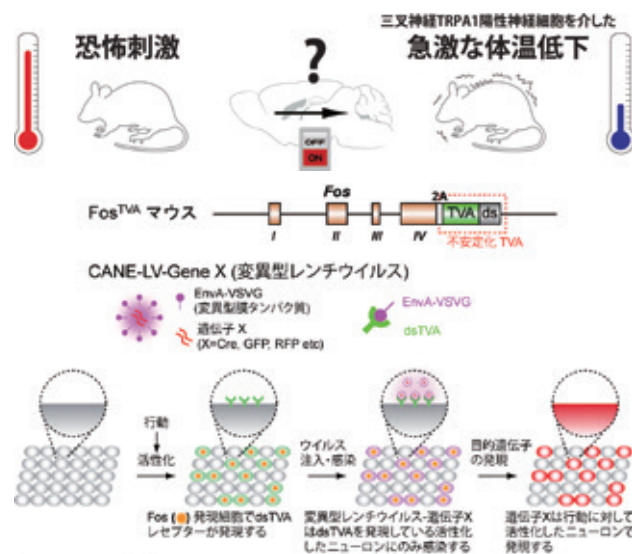


図1: CANEシステムの模式図

論文

- Rodriguez E et al. A craniofacial-specific monosynaptic circuit enables heightened affective pain. *Nat. Neurosci.* 20: 1734-1743 (2017).
- Sakurai K et al. Capturing and manipulating activated neuronal ensembles with CANE delineates a hypothalamic social-fear circuit. *Neuron* 92: 739-453 (2016).
- Sakurai K et al. The organization of submodality-specific touch inputs in the vibrissa column. *Cell Rep.* 5: 87-98 (2013).

公募研究 研究項目A02

大西 浩史【おにし ひろし】

群馬大学大学院 保健学研究科 生体情報検査科学講座 教授



研究課題名

哺乳類神経細胞に秘められた低温応答メカニズムの解明

研究概要

低温には神経保護効果や神経回路の可塑的变化誘導（図1）などの作用が示されていることから、神経細胞の低温応答反応の理解と応用は多様な脳研究分野への展開が期待されるが、哺乳類の細胞・組織の低温への応答性については十分に理解されていない。SIRP α （Signal regulatory protein α ）は成熟後の神経細胞に強く発現する膜タンパク質で、細胞外領域で別の膜タンパク質CD47と相互作用して細胞間接触シグナルを形成する。SIRP α の細胞内領域はチロシンリン酸化を受けてチロシンホスファターゼShp2と結合し強く活性化する（図2）。我々は、強制水泳中のマウスの脳内でSIRP α が強くリン酸化するとともに、このシグナルを欠損したマウスでは、強制水泳中の無動行動が経験依存的に増加することを見出した。さらに、脳内SIRP α リン酸化を誘導する原因が水泳中の低体温であること、培養神経細胞では低温刺激が直接SIRP α のリン酸化を誘導すること、などを明らかにしている。すなわち、SIRP α は低温により神経細胞で活性化し、強制水泳中の行動制御に関わる生体シグナルであると考えられる。さらにこの低温誘導性SIRP α 活性化が、複数のCl⁻チャネル阻害剤で強く抑制されること、細胞外Cl⁻の除去により低温と同様のSIRP α リン酸化が誘導されることなど、SIRP α 活性化が細胞内Cl⁻ダイナミクスと密接に関連することを新たに見出している。細胞内Cl⁻ダイナミクスは浸透圧調節を介して細胞の容積調節に重要な役割を果たすことが知られており、その働きはアポトーシスや突起形成、興奮性の制御、シナプスの消失／再生など、多様な神経細胞機能への関与が予測される。本研究では、SIRP α と細胞内Cl⁻ダイナミクスを起点に、哺乳類神経細胞にそなわった低温応答反応性の理解をすすめ、新規神経機能制御メカニズムの発見を目指す。

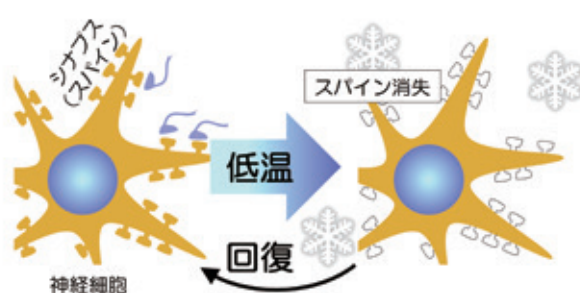


図1（上） 低温によるシナプスの可塑的消失

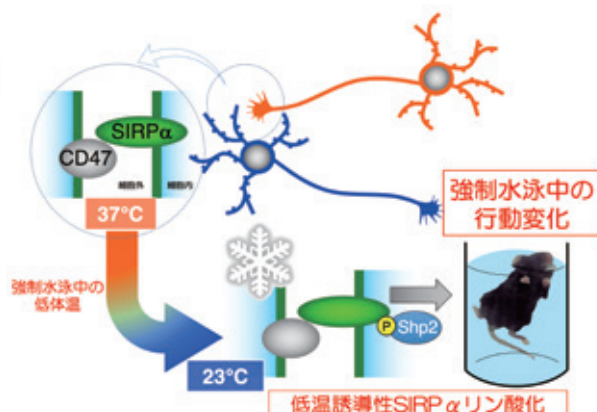


図2（右） CD47-SIRP α シグナルとその低温応答性

論文

1. Kusakari S et al. Shp2 in forebrain neurons regulates synaptic plasticity, locomotion, and memory formation in mice. *Mol. Cell. Biol.* 35: 1557-1572 (2015).
2. Maruyama T et al. Hypothermia-induced tyrosine phosphorylation of SIRP α in the brain. *J. Neurochem.* 121: 891-902 (2012).
3. Ohnishi H et al. Stress-evoked tyrosine phosphorylation of signal regulatory protein α regulates behavioral immobility in the forced swim test. *J. Neurosci.* 30: 10472-10483 (2010).

公募研究 研究項目A02

畠山 浩人【はたけやま ひろと】

千葉大学大学院 薬学研究院 臨床薬理学研究室 助教



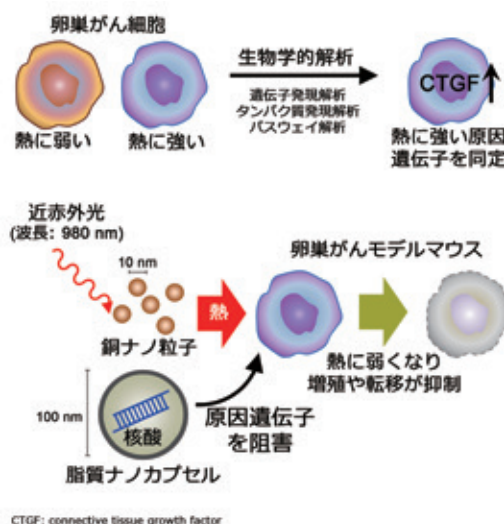
研究課題名

がん細胞および腫瘍微小環境の温熱耐性応答メカニズムの解明

研究概要

一般に“がん細胞は42.5℃程度の温熱下で死ぬ”とされており温熱療法のがん治療への応用研究が行われているが、がん細胞や腫瘍組織の温熱下における応答や、何度でどの程度細胞死が誘導されるか不明な点が多く、温熱療法は期待ほどの効果が得られていない。これまでに、10種のがん細胞の比較から温熱に感受性と耐性を示すがん細胞が存在することを初めて見出し、温熱感受性と耐性細胞間の遺伝子、タンパク質発現の解析とパスウェイ解析から温熱耐性レギュレーターとして結合組織成長因子CTGFを同定した。培養細胞系でCTGFをノックダウンすると耐性細胞は温熱に感受性となること、また卵巣がん同所移植モデルにおいて、腫瘍組織に銅ナノ粒子を集積させ近赤外光照射し腫瘍局所での温熱治療に対して、リボソームを用いてsiRNAを卵巣腫瘍に送達しCTGFをノックダウンすると、腫瘍増殖や転移の抑制が観られ、温熱治療の効果を高めることに成功した (Hatakeyama H, et al. Cell Rep, 17(6):1621-1631, 2016)。

しかし、CTGFが制御する温熱耐性の詳細なメカニズムは不明である。CTGFは分泌タンパク質であり4つの構成ドメインが細胞外の因子などと相互作用し、細胞外情報伝達を担う。これは、がん細胞自身のみならず、がん細胞を取り巻く腫瘍組織微小環境と相互作用する可能性が示唆しているが、生体組織レベルでもCTGFを介した温度応答性の制御が存在するかは不明である。本研究では、温熱耐性ががん細胞におけるCTGFの代謝制御メカニズムや、in vivo 担癌モデルを用いて組織レベルでの温熱下での応答メカニズムの解析を行うことで温熱耐性制御機構の解明を進め治療法標的を見出すことで、新たながん温熱治療法の確立を目指して研究を進める。



論文

1. Court KA, Hatakeyama H et al. HSP70 inhibition synergistically enhances the effects of magnetic fluid hyperthermia in ovarian cancer. *Mol. Cancer Ther.* 16: 966-976 (2017).
2. Hatakeyama H. Recent advances in endogenous and exogenous stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery and therapeutics. *Chem. Pharm. Bull.* 65: 612-617 (2017).
3. Hatakeyama H et al. Role of CTGF in sensitivity to hyperthermia in ovarian and uterine cancers. *Cell Rep.* 17: 1621-1631 (2016).

公募研究 研究項目A02

中山 一大【なかやま かずひろ】

東京大学大学院 新領域創成科学研究科 先端生命科学専攻 人類進化システム分野 准教授



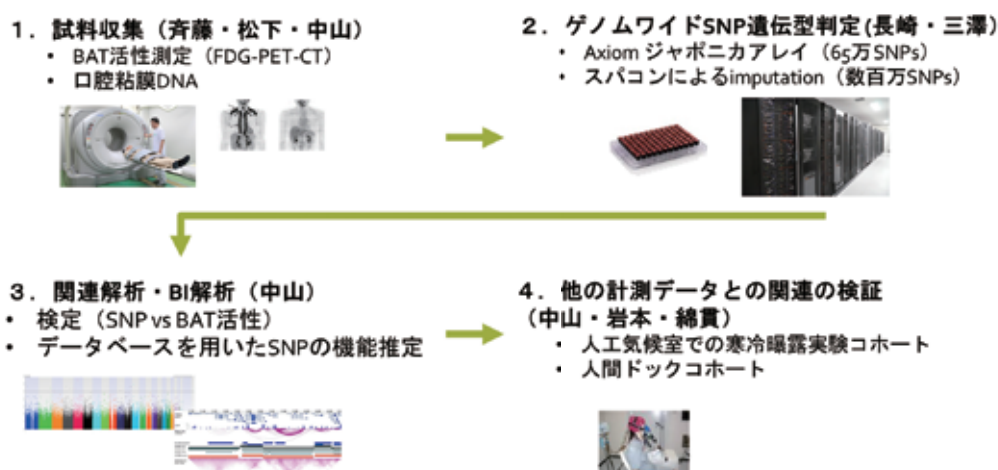
研究課題名

ヒト褐色脂肪組織活性の遺伝学研究

研究概要

褐色脂肪組織（BAT）は哺乳動物での代謝性熱産生の特異的部位として、低温環境での体温の維持に寄与している。ヒトではBATによる熱産生は乳幼児期にのみ機能的で、加齢とともに消失するものと長らく考えられてきた。近年、放射性フッ素標識グルコースと陽電子放射断層-コンピュータ断層撮影法の応用によって、BATの代謝活性を*in situ*で測定できるようになり、寒冷刺激により成人でもBATの活性化が起きることが明らかになった。BATは、肥満予防・治療の標的として注目を受け、その機能・分化を司る分子基盤が、主にマウスを用いて勢力的に研究されている。ヒト成人のBATには、寒冷馴化等によって白色脂肪組織中に誘導されるBAT様の細胞群が多く含まれているなど、マウスとのそれとは異なる性状が観察されており、ヒト独自の分子基盤の存在が示唆されている。

一塩基多型（SNP）等のゲノム多型をマーカーとする関連解析法は、多因子形質に寄与する遺伝子の同定するための強力な方法である。共同研究者である齊藤らのグループは、日本人を対象とした寒冷刺激下でのBAT検出実験により、約4割の被験者はBAT活性が検出されないことを発見した。このようなBAT検出率の個人差の一部分は、遺伝的に決定されているものと考えられる。それを支持する証拠として、同グループは、BATの熱産生に重要な β 3ARおよびUCP1遺伝子のSNP遺伝型を先の日本人集団で調査し、これらのSNPがBAT活性の有無と関連することを報告した。現在は、全ゲノムレベルでSNP遺伝型を一斉調査し、表現型と関連する遺伝子をhypothesis-freeに同定する手法が確立されており、肥満などの多因子疾患の原因遺伝子同定に目覚ましい効果を上げている。本公募研究課題では、世界唯一とも言える寒冷刺激下での健康人BAT検出率の付随したDNA試料群を用いて、ヒトのBATの機能・分化に寄与するSNP、およびそれが効果する候補遺伝子の同定を目指す。



論文

1. Nakayama K et al. Evidence for very recent positive selection in mongolians. *Mol. Biol. Evol.* 34: 1936-1946 (2017).
2. Nakayama K et al. Positive natural selection of *TRIB2*, a novel gene that influences visceral fat accumulation, in East Asia. *Hum. Genet.* 132: 201-217 (2013).
3. Nakayama K et al. Large scale replication analysis of loci associated with lipid concentrations in a Japanese population. *J. Med. Genet.* 46: 370-374 (2009).

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

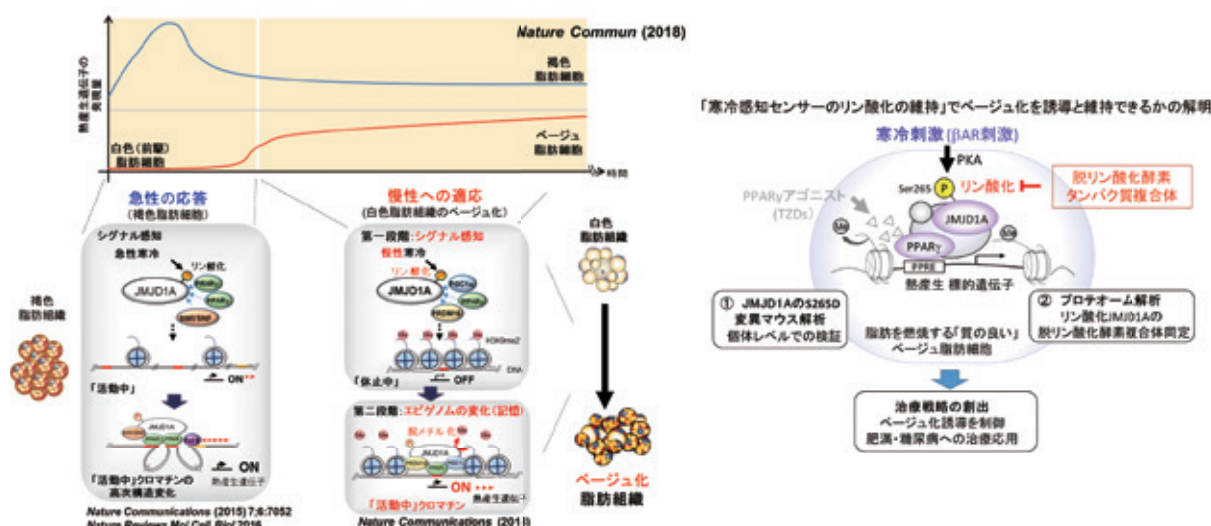


研究課題名

熱産生脂肪細胞を誘導するエピゲノム酵素リン酸化スイッチの解明

研究概要

近年、肥満・インスリン抵抗性、糖尿病、冠動脈性心疾患などの生活習慣病が、社会的に大きな問題となってきた。脂肪を蓄積する白色脂肪細胞に加え、交感神経系支配下で熱産生を担う褐色脂肪細胞が知られている。個体が寒冷に曝されると、白色脂肪細胞は、脂肪燃焼・熱産生能を有したベージュ脂肪細胞と命名された褐色様の脂肪細胞へとリモデリング（ベージュ化）されることが明らかになってきた。ベージュ細胞は脂肪を燃焼することから、過栄養による生活習慣病の代謝を改善する質の良い脂肪細胞として注目を集めている。ベージュ細胞は寒冷刺激によって誘導されるが、寒冷刺激そのものは、血管収縮や心拍数増大などを誘引し、心血管イベントのリスクを増加させるという問題も抱えているため、寒冷刺激をしなくとも、ベージュ化させられる治療が待ち望まれている。しかし、寒冷刺激によるベージュ化のメカニズムは明らかではない。私たちは最近、ヒストン脱メチル化酵素JMJD1Aが寒冷刺激を受けてリン酸化され（265番目のセリン残基、S265と略す）核内受容体PPAR γ と結合することで、褐色脂肪細胞の性質を制御することを見出した（*Nat Commun* 2015）。さらにJMJD1Aはリン酸化によるシグナル感知とエピゲノム書き換えによる二段階機構でベージュ化を誘導することを見出した（*Nat Commun* 2018）（図左）。本研究ではリン酸化を持続させることでエピゲノム変化、ベージュ化を誘導できないか検討し、リン酸化S265を標的とした脱リン酸化酵素複合体を同定し、これを阻害するベージュ化誘導法を提示する。そして、「質の良い脂肪細胞をつくる」全く新しい創薬標的の創出を目的とする（図右）。



論文

1. Abe Y et al. Histone demethylase JMJD1A coordinates acute and chronic adaptation to cold stress via thermogenic phospho-switch. *Nat. Commun.* 9: 1566 (2018).
2. Matsumura Y et al. H3K4/H3K9me3 bivalent chromatin domains targeted by lineage-specific DNA methylation pauses adipocyte differentiation. *Mol. Cell* 60: 584-596 (2015).
3. 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).

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



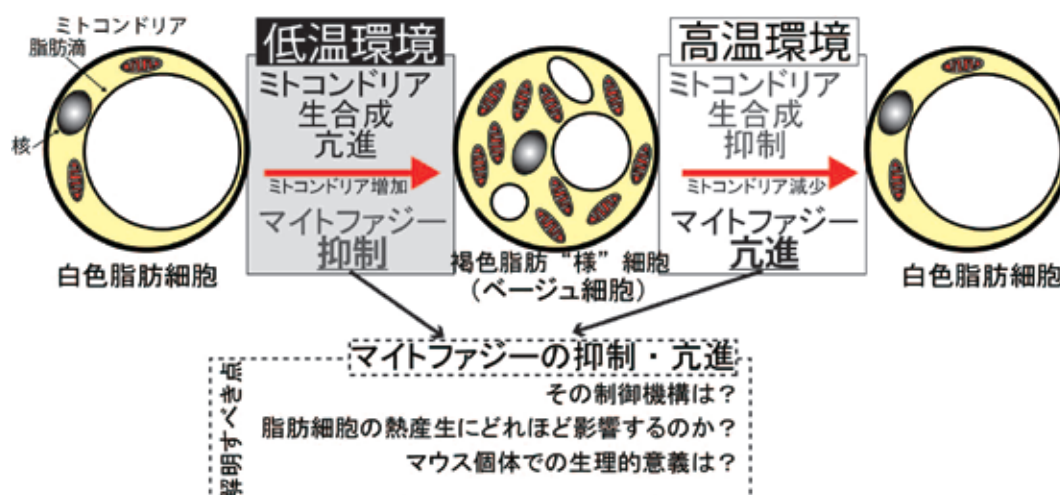
研究課題名

環境温度に応答したミトコンドリア分解制御機構とその生理的意義に関する研究

研究概要

褐色脂肪細胞は熱産生を、白色脂肪細胞は脂肪の貯蔵を本来の役割としているが、褐色脂肪“様”細胞（以下、ベージュ細胞）は、白色脂肪細胞の分化転換によって発生する細胞で、褐色脂肪細胞と同様に熱産生に必要な脱共役タンパク質（UCP1）を持つミトコンドリアを多く含んでいる。動物を低温環境に長期間暴露すると、熱産生を増やすために白色脂肪組織中にベージュ細胞が増加し、逆に高温環境下ではベージュ細胞は不要となり、白色脂肪細胞に戻る。ミトコンドリアが豊富なベージュ細胞に対し、白色脂肪細胞はミトコンドリアが少ないため、環境温度に順応した白色脂肪細胞の分化・退行にはミトコンドリア量の急激な増減が伴う。

オートファジーによるミトコンドリア分解（Mitophagy:マイトファジー）は、細胞内でミトコンドリアを分解することが出来る唯一の機構であることから、申請者はベージュ細胞から白色脂肪細胞へ退行する過程でマイトファジーによるミトコンドリア分解が起こっていると考え研究を進めてきた。これまでに、ミトコンドリアオートファジーを可視化・定量できるマウスを作製し、実際に環境温度の変化に応じてベージュ細胞が白色細胞化する過程でマイトファジーが強く誘導されていることを観察している。さらに、白色脂肪細胞前駆細胞を用いた実験系においてマイトファジー誘導を観察してきた。本研究では、こうしたマウスや培養細胞による実験系を利用して、マイトファジーの制御機構と温度環境変化に応答したマイトファジーの生理的意義を明らかにしたい。



論文

1. Furukawa K et al. The PP2A-like protein phosphatase Ppg1 and the Far complex cooperatively counteract CK2-mediated phosphorylation of Atg32 to inhibit mitophagy. *Cell Rep.* 23: 3579-3590 (2018).
2. Yamashita SI et al. Mitochondrial division occurs concurrently with autophagosome formation but independently of Drp1 during mitophagy. *J. Cell Biol.* 215: 649-665 (2016).
3. Hirota Y et al. Mitophagy is primarily due to alternative autophagy and requires the MAPK1 and MAPK14 signaling pathways. *Autophagy* 11: 332-343 (2015).

公募研究 研究項目A02

森 郁恵【もり いくえ】

名古屋大学 理学研究科附属ニューロサイエンス研究センター センター長／教授



研究課題名

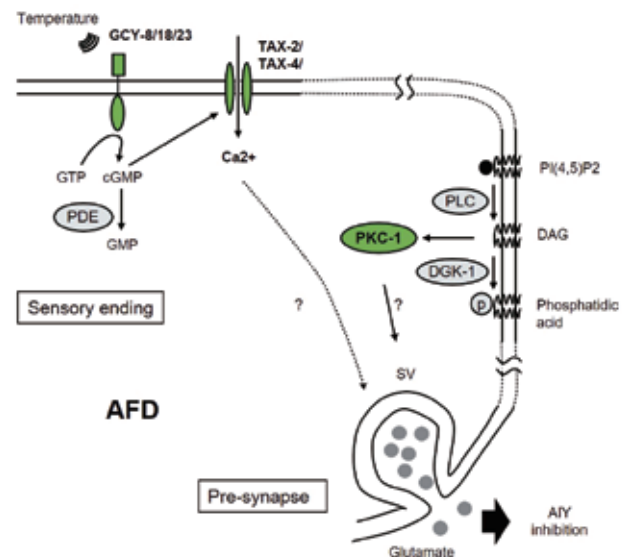
温度情報から神経活動への変換機構

研究概要

温度受容は生物にとって重要だが、神経系がどのように温度情報を神経活動へ変換するかに関しては多くが不明である。線虫 *C. elegans* の温度受容ニューロン AFD は、過去の飼育温度付近からの温度上昇に応答して細胞内カルシウム濃度を増加させる (Kimura 2004, Kobayashi 2016)。本研究では AFD が環境温度の情報を、このような履歴依存的なカルシウム濃度変化に変換するメカニズム、および、カルシウム濃度変化の下流で、伝達物質の放出を制御するメカニズムを解明し、神経系による温度感知の全貌解明に迫る。

温度受容ニューロン AFD が温度情報をカルシウム濃度変化に変換する際には、cyclic GMP (cGMP) の生合成が必須である (Inada 2006, Kobayashi 2016, Takeishi 2016)。最近我々は、cGMP が AFD の感覚末端においてはカルシウムと同様に過去の温度付近からの温度上昇に応じて増加すること、一方で細胞体においては温度上昇に応じて減少することを発見した。本研究ではこの細胞区画依存的な cGMP ダイナミクスがどのように形成されるのか、また cGMP ダイナミクスがどのようにカルシウムダイナミクスに変換されるのかを検討する。具体的には、温度走性行動に必須の Guanylyl Cyclase (GCY) がどのように cGMP ダイナミクスへ寄与するかを、変異株を使って調べる。cGMP の計測には FRET 型の蛍光プローブである cGi500 を用いる。次に、cGMP を分解する Phosphodiesterase (PDE) の変異株を詳細に解析する。PDE 変異株において、温度走性行動と cGMP ダイナミクスを解析し、区画依存的な cGMP ダイナミクスへの PDE の寄与を調べる。さらに、PDE 変異株のカルシウム応答を調べ、AFD における cGMP ダイナミクスのカルシウムダイナミクスへの影響を検討する。

カルシウム流入から、伝達物質の放出に至るまでの制御について、AFD から下流の AIY 介在ニューロンへの出力には Dense core vesicle (DCV) を介する興奮性の出力と、Synaptic vesicle (SV) を介する抑制性の経路があり、DCV からの放出は AFD への低濃度のカルシウム流入で起こるのに対して、SV からの放出には高濃度のカルシウム流入が必要と考えられている (Ohnishi 2012, Kuhara 2011)。PKC-1 は一般的に開口放出を促進するが、PKC-1 の変異株では、AFD のカルシウム流入には特に異常が見られない一方で、行動レベルでは著しい好熱性を示す (Okochi 2005)。逆に PKC の活性を負に制御する DAG kinase (DGK) の変異株は好冷性を示す。AIY を破壊した線虫は好冷性になるため、AFD では PKC は抑制性の SV のみに作用している可能性が考えられる。DAG および PKC が、DCV および SV をどのように制御して 2 段階の閾値を実装しているのかを解明するために、蛍光プローブによって DAG、DCV、SV を AFD において可視化し、細胞内局在を調べる。また、温度刺激に対する DAG の時空間ダイナミクスを計測する。



論文

1. Aoki I et al. SLO potassium channels antagonize premature decision making in *C. elegans*. *Commun. Biol.* (in press)
2. Kuhara A et al. Temperature sensing by an olfactory neuron in a circuit controlling behavior of *C. elegans*. *Science* 320: 803-807 (2008).
3. Mori I and Ohshima Y. Neural regulation of thermotaxis in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 376: 344-348 (1995).

公募研究 研究項目A02

西 英一郎【にし えいいちろう】

滋賀医科大学 医学部医学科 薬理学講座 教授



研究課題名

新規肝栄養センサー分子による熱産生制御ネットワークの検討

研究概要

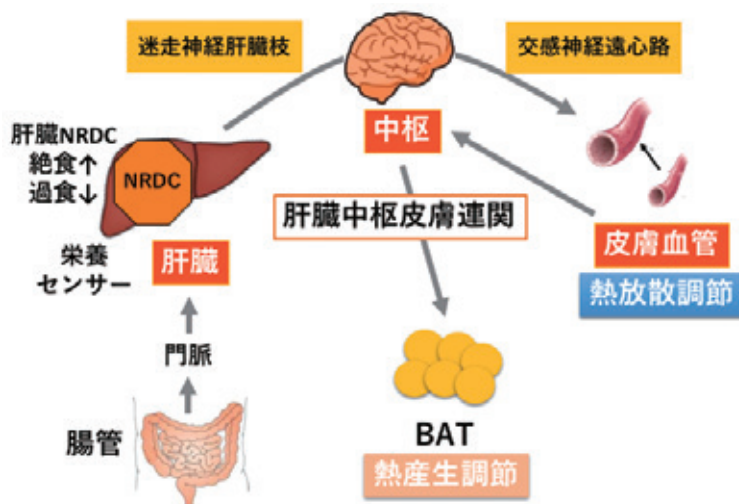
熱産生は、身体活動とともにエネルギー消費の主たる要素である。食物摂取とエネルギー消費のバランス不全是肥満・糖尿病などの疾患の原因になる。熱産生は寒さへの曝露のみならず、摂食によっても亢進し、肥満発症に対する部分的防御機構となり得ると考えられているが、摂食から熱産生に至る分子機構は必ずしも明らかではない。

我々は、ナルディライジン（NRDC）というメタロプロテアーゼの全身欠損マウスが常温で野生型マウスより1.5℃体温が低く寒冷不耐性を呈すること、NRDCが1. 体温セットポイント設定、2. 熱放散、3. 適応熱産生の制御を介して体温恒常性を維持していることを明らかにした（Nat Commun 2014）。

その後、より詳細な分子機構を解明するために種々の臓器特異的NRDC欠損マウスを解析したところ、肝細胞特異的NRDC欠損（LKO）マウスが、1. BATにおける熱産生遺伝子の上昇、2. BAT組織における脂肪蓄積量の減少、3. 酸素消費量（個体レベル）の上昇、など臓器間代謝調節ネットワークを考える上で興味深い表現型を呈することがわかった。

この結果は、肝細胞NRDCがBAT機能を制御する臓器連関の存在を示し、その連関は神経系あるいはホルモンなどの液性因子を介して行われると考えられた。予備的研究においては、迷走神経肝臓枝の離断によりLKOマウスと対照マウスの差は消失した。また熱放散の影響を除外するため、温度中性域（30℃）環境で検討したところ、やはりLKOマウスと対照マウスのBAT表現型、酸素消費量に有意な差はなくなった。以上の結果は、常温では肝細胞NRDC欠損が迷走神経を介して皮膚血管拡張による熱放散を促し、それを補うためにBAT熱産生が亢進している可能性、すなわち肝臓中枢皮膚連関（図）によってBAT熱産生が調節されている可能性が示唆された。

腸管から吸収された栄養分は、門脈を経てまず肝臓に運搬される。本研究においては、肝細胞NRDCの栄養センサーとしての役割、その作用機序およびBAT熱産生との連携機構について明らかにしたい。



論文

1. Kanda K et al. Nardilysin controls intestinal tumorigenesis through HDAC1/p53-dependent transcriptional regulation. *JCI Insight* 3: e91316 (2018).
2. Nishi K et al. Nardilysin is required for maintaining pancreatic β -cell function. *Diabetes* 65: 3015-3027 (2016).
3. Hiraoka Y et al. Critical roles of nardilysin in the maintenance of body temperature homeostasis. *Nat. Commun.* 5: 3224 (2014).

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

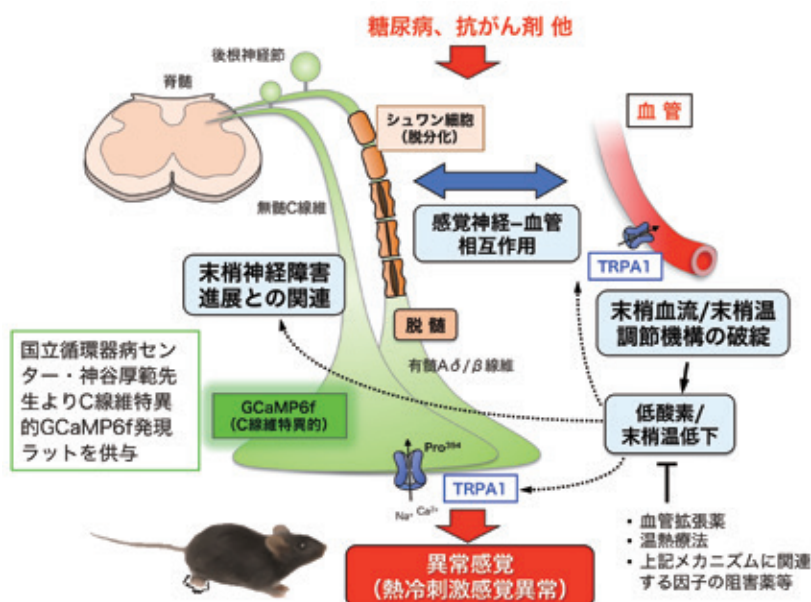


研究課題名

末梢神経障害に伴う末梢温調節機構の破綻と異常感覚発生の機構解明

研究概要

末梢神経障害は、しびれ、触覚/温冷覚の鈍磨や痛みなどの異常感覚のほか、手足の冷えなど様々な症状が現れる。しびれや痛みといった感覚と末梢血流量/末梢温が密に関連することは経験的にもよく知られるが、我々はこれまでに、末梢血流障害/末梢温低下と冷過敏応答に関する研究を実施し、その分子機構として、通常冷感受性を示さないTRPA1が間接的な機構を介して冷感受性を獲得することを初めて明らかにしてきた。一方、感覚神経系と血管が密接に相互作用し、互いの機能維持や血管機能に重要な役割を果たしていることが報告されているが、糖尿病や一部の抗がん剤による末梢神経障害発生時には、感覚神経性の末梢血流/末梢温調節機構が破綻しており、異常感覚の発生に関与するだけでなく、末梢神経障害の進展そのものにも影響する可能性が考えられる。そこで本研究では、感覚神経系-血管の相互関連に着目し、1) 末梢神経障害に伴う末梢温調節機構の破綻のメカニズム解明(感覚神経系-血管相互関連)、2) 末梢神経障害時の末梢温調節機構破綻と異常感覚、特に熱冷刺激感覚異常との関連(C線維神経活動のin vivoイメージング)、3) 末梢血流/末梢温調節機構破綻による末梢神経障害の進展(予防/治療効果の検証)を解明することを目的とし、将来的に末梢神経障害予防/治療法を提案できる基礎データを取得することを目指す。



論文

- Hiyama H et al. TRPA1 sensitization during diabetic vascular impairment contributes to cold hypersensitivity in a mouse model of painful diabetic peripheral neuropathy. *Mol. Pain* 14: 1744806918789812 (2018).
- Miyake T et al. Distinct mechanism of cysteine oxidation-dependent activation and cold sensitization of human transient receptor potential ankyrin 1 channel by high and low oxaliplatin. *Front. Physiol.* 8: 878 (2017).
- Miyake T et al. Cold sensitivity of TRPA1 is unveiled by the prolyl hydroxylation blockade-induced sensitization to ROS. *Nat. Commun.* 7: 12840 (2016).

公募研究 研究項目A02

野村 真【のむら ただし】

京都府立医科大学大学院 医学研究科 神経発生生物学 准教授



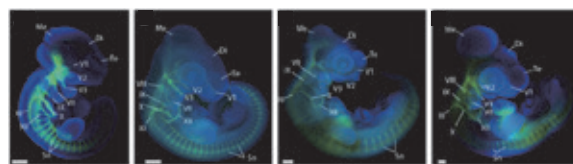
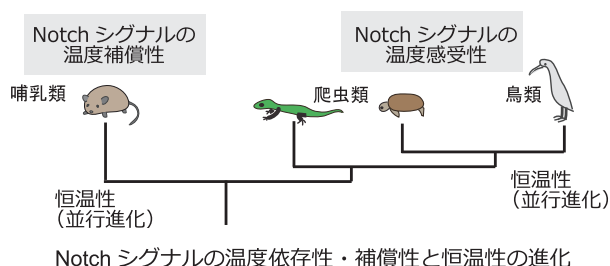
研究課題名

種特異的なNotchシグナルの温度依存性と補償性を制御する分子基盤の解明

研究概要

動物の胚発生過程が胚体外の温度に依存していることはよく知られている。発生過程における細胞の増殖や分化を制御する様々なシグナル分子の中で、特にNotch受容体を介したシグナル（Notchシグナル）は細胞の未分化性の維持や運命決定に重要な役割を果たす。興味深いことに、変温動物であるショウジョウバエの胚発生におけるNotchシグナル活性は温度補償性を示すことが報告されている（Shimizu et al. Cell 2014）。すなわち、胚体外温度が高い場合にはリガンド依存的なシグナル伝達機構が活性化されるが、外気温が低い場合にはリガンド非依存的なエンドサイトーシス経路によりシグナル伝達が選択的に活性化されることにより、外気温の変化に関わらずNotchシグナル活性の強度を補償する機構が存在する。一方、脊椎動物の胚発生過程の温度依存性や温度変化に伴う細胞内シグナル活性の補償機構に関してはほとんど研究が進んでいない。

本領域におけるこれまでの研究により、脊椎動物、特に羊膜類（哺乳類、爬虫類、鳥類）の神経前駆細胞におけるNotchシグナル活性の温度依存性が種によって異なることを見出している。この成果をもとに、本年度からの研究計画では羊膜類各系統におけるNotchシグナルの温度依存性と補償性をコントロールしている分子機構を解明することを目指す。羊膜類各系統におけるNotchシグナルの温度依存性がリガンドにどの程度依存しているのか、またエンドサイトーシス経路がNotchシグナルの温度依存性・補償性をどのようにコントロールしているのかを明らかにする。さらに、こうした種に特異的なNotchの温度依存性・補償性の進化的意義を探るため、実験的にNotchシグナルを改変した個体を哺乳類、爬虫類、鳥類で作製し、それらの表現型を比較する。



本研究で用いる羊膜類（哺乳類、爬虫類、鳥類）胚
(Nomura et al. JEZ 2013 より改変)

論文

1. Nomura T et al. Species-specific mechanisms of neuron subtype specification reveal evolutionary plasticity of amniote brain development. *Cell Rep.* 22: 3142-3151 (2018).
2. Yamashita W et al. Conserved and divergent functions of Pax6 underlie species-specific neurogenic patterns in the developing amniote brain. *Development* 145: dev159764 (2018).
3. Nomura T et al. Future vocation of neural stem cells. Lineage commitment in brain development and evolution. *Neurochem. Res.* 43: 153-156 (2018).

公募研究 研究項目A02

太治 輝昭【たじ てるあき】

東京農業大学 生命科学部 バイオサイエンス学科 植物遺伝子工學研究室 教授

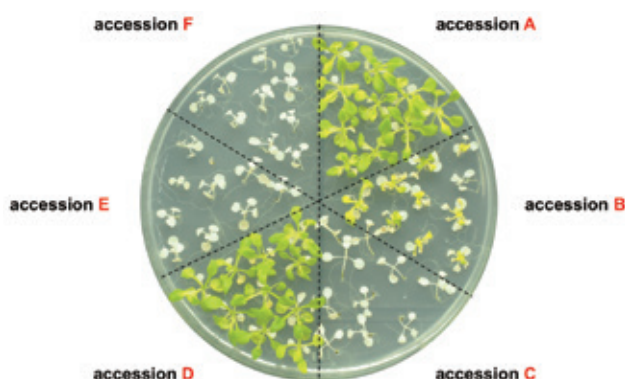


研究課題名

植物の短期・長期高温ストレス適応機構の解明

研究概要

大気温度の変化はあらゆる生物が遭遇しうる普遍的な環境ストレスである。とりわけ高温に対する応答については、その基本制御メカニズムが動物や植物を含め、真核生物に広く保存されており、その対応の重要性が推察される。しかし、高温ストレスを受ける程度やその影響は、生物種によって大きく異なることが予想される。たとえば動物は高温にさらされたとしても、温度の低い場所へ移動することでその影響を小さくすることが出来る。一方、植物は移動の自由を持たないため、その温度条件に適応するほかなく、短時間の極端な高温ストレスや長期間にわたる高温ストレスにも耐えなくてはならない。植物が生き残るためには、様々な高温ストレスにも適応する柔軟なメカニズムが必要になると考えられる。近年の研究により植物の高温耐性メカニズムの一端が分子レベルで明らかになりつつあるが、往々にして植物の成長や他の働きが悪くなるなどの弊害が伴う。そのような制限がある中で植物は様々な環境変動にどのように対応しているのか。自然界には極めて高い耐性を示す植物が存在する一方で、同じ種であってもそのような耐性が失われている例がある。植物が同じ種内でも耐性を持つ植物と持たない植物に分かれてきた進化的要因や、その背景でどんな遺伝子が働いているのかに関しては不明であった。モデル植物として広く利用されているシロイヌナズナは、世界中の様々な地域に生息し、その数は2000以上に上る。これらは様々な環境条件に適応した結果、同じ種でありながらストレス耐性に大きな違いがあることが明らかとなってきた。先行研究において、シロイヌナズナ98 accessionの「短期間の極端な高温ストレス（42℃_50分間）」と「長期間続く高温ストレス（37℃_7日間）」に対する耐性（以後、前者を短期高温耐性、後者を長期高温耐性とする）を評価したところ、それぞれの高温耐性に大きな多様性を見出した（挿入図）。興味深いことに、短期高温耐性を示すaccessionは必ずしも長期高温耐性を示さず、それぞれの耐性は独立したメカニズムに因ることが示唆された。高温耐性に関わる遺伝子座を明らかにするため、それぞれの高温耐性評価結果を用いてGenome Wide Association Study（GWAS）を行ったところ、短期・長期高温耐性に寄与する遺伝子座は大きく異なることが明らかとなった。本研究では「短期に極端な高温を受けた際の温度応答システム」および「長期的に高温を受け続けた際の温度応答システム」を明らかにすることを目的に、短期および長期高温耐性に寄与する遺伝子座の同定を行う。



図：シロイヌナズナaccession間における高温耐性の多様性

論文

1. Ariga H et al. NLR locus-mediated trade-off between abiotic and biotic stress adaptation in *Arabidopsis*. *Nat. Plants* 3: 17072 (2017).
2. Higashi YU et al. HsfA1d, a protein identified via FOX hunting using *Thellungiella salsuginea* cDNAs improves heat tolerance by regulating heat-stress-responsive gene expression. *Mol. Plant* 6: 411-422 (2013).
3. Katori T et al. Dissecting the genetic control of natural variation in salt tolerance of *Arabidopsis thaliana* accessions. *J. Exp. Bot.* 61: 1125-1138 (2010).

公募研究 研究項目A02

関 原明【せき もとあき】

理化学研究所 環境資源科学研究センター 植物ゲノム発現研究チーム チームリーダー



研究課題名

植物の高温・低温ストレス適応におけるRNA顆粒を介した転写後制御機構の解析

研究概要

移動の自由を持たない植物は高温・低温などの環境ストレスに曝されている。植物が高温・低温などの温度変化に適応するためには、多種多様な遺伝子・タンパク質を発現・機能させる必要がある。最近、植物の環境ストレス適応には、遺伝子発現制御だけでなく転写後制御機構が重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。本研究では、高温・低温などの温度変化に対する植物の適応において、ストレス顆粒（SG）やプロセッシングボディ（PB）などのRNA顆粒が関与する転写後制御機構を解明することを目指す。SGは代表的な構成因子である3つのUBP1遺伝子（UBP1a, UBP1b, UBP1c）について、PBは代表的な構成因子であるXRN4遺伝子について解析を進め、研究期間内に高温・低温などのストレス適応におけるSGおよびPBによる転写後制御機構に関して以下の点を明らかにすることを目指す。1) *xrn4*変異体が生ずる凍結ストレス耐性の原因となるXRN4のターゲット遺伝子の同定と分子機構の解明、2) UBP1b過剰発現植物が生ずる高温ストレス耐性の原因となるUBP1bダイレクトターゲット遺伝子の同定と分子機構の解明、3) SGの構成因子（UBP1a, UBP1b, UBP1c）の高温ストレス適応における機能解明、4) 免疫沈降法によるSG構成因子の同定および機能解析。

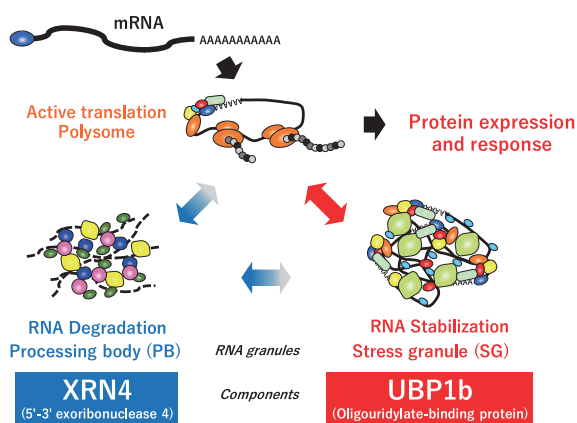


図1. 環境ストレス条件下でのRNAの分解・安定化の制御

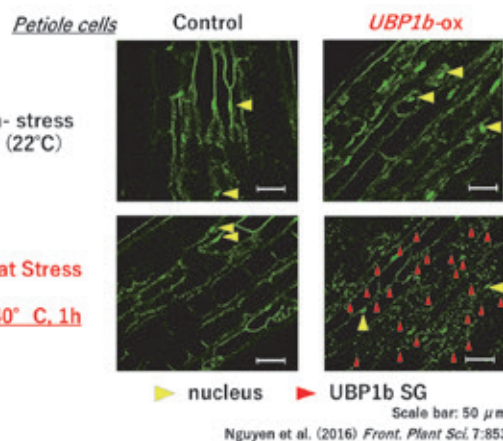


図2. UBP1bストレス顆粒は高温ストレスに応じて細胞質内に生成する

論文

1. Nguyen CC et al. Overexpression of oligouridylate binding protein 1b results in ABA hypersensitivity. *Plant Signal. Behav.* 12: e1282591 (2017).
2. Nguyen CC et al. Oligouridylate binding protein 1b plays an integral role in plant heat stress tolerance. *Front. Plant Sci.* 7: 853 (2016).
3. Nguyen AH et al. Loss of Arabidopsis 5'-3' exoribonuclease AtXRN4 function enhances heat stress tolerance of plants subjected to severe heat stress. *Plant Cell Physiol.* 56: 1762-1772 (2015).

公募研究 研究項目A02

砂川 玄志郎【すながわ げんしろう】

理化学研究所 生命機能科学研究センター 網膜再生医療研究開発プロジェクト 基礎科学特別研究員



研究課題名

近交系マウスを用いた低体温メカニズムの解明

研究概要

哺乳類には恒温動物であるにもかかわらず冬眠（数ヶ月単位）や休眠（数時間単位）といった低体温現象を呈する種が存在するが、その原理は全くわかっていない。マウスは休眠を行う代表的な動物で、休眠時は体温が外気温から高々数度高い状態、酸素消費量は正常時の30%以下にまで低下することが知られている。我々は自由行動下のマウスの体温と酸素消費量を定量する系（Fig. 1）を用いて、マウスにおいて休眠を再現性よく誘導できる手法を開発し、マウスによる低体温・低代謝研究が可能なブラットホームを築いた（Sunagawa GA and Takahashi M, *Sci. Rep.*, 2016）。この手法を用いると24時間の絶食を行うことでC57BL/6Jという近交系マウスでは再現性の高い休眠誘導を行うことができる（Fig. 2）。様々な外気温でマウスに休眠を誘導し、休眠時の体温・酸素消費量を定量することで、マウスの恒温システムが正常時と休眠時にどのように変化するか調べることができる（Fig. 3）。冬眠動物では熱産生フィードバック系の熱感度（ネガティブフィードバックのゲイン） H および理論的目標設定温度 T_R の双方が低下することが知られているが、C57BL/6Jマウスで熱感度のみが低下し、理論的目標設定温度は変化していないことがわかった（Fig. 4左）。さらにゲノムがきわめて近いC57BL/6Nマウスは熱感度の低下がC57BL/6Jよりも低く、浅い休眠表現型を呈することがわかった（Fig. 4右）。

本課題ではゲノムが近いマウスが異なる休眠表現型を呈することに注目し、マウスの休眠表現型に影響を与えている遺伝子を同定することを目指す。特に、マウスは冬眠動物（リス、コウモリ、クマなど）では使用が困難であった最新の遺伝学的手法（遺伝子改変動物の作製、ゲノムワイド遺伝子KOスクリーニング、トランスクリプトーム解析など）を駆使でき、細胞培養系も充実していることを最大限に活用する。具体的にはマウスに休眠を誘導し様々な代謝状態の骨格筋のトランスクリプトーム解析を行い、休眠特異的な遺伝子発現を解析する（Fig. 5; 予備実験で休眠特異的な発現パターンの存在を確認）。また、マウス由来の組織・細胞を用いた代謝評価系を構築し、CRISPR/Cas9を用いて、*in vitro*で包括的遺伝子KOスクリーニングを行い、低代謝に影響を及ぼす遺伝子を探索する。最終的には遺伝子改変マウスを作成することで休眠特異的な遺伝子の検証を行う。

Fig. 1 自由行動下のマウスの体温と酸素消費量を計測するための装置



Fig. 2 マウスは24時間の絶食で休眠を誘導することができる

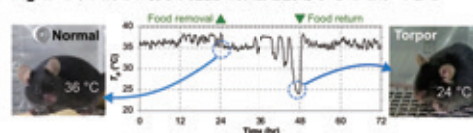


Fig. 3 複数の環境温度における体温および酸素消費量を計測することで個体の恒温維持システムの特徴を知ることができる

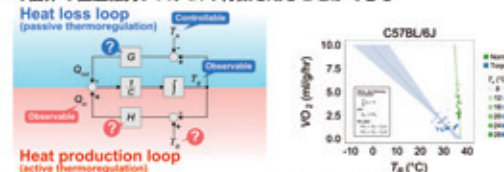


Fig. 4 近交系の中でもB6JはB6Nよりも休眠中に低い代謝を示す

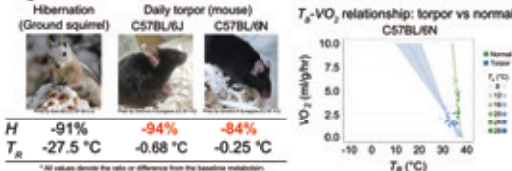
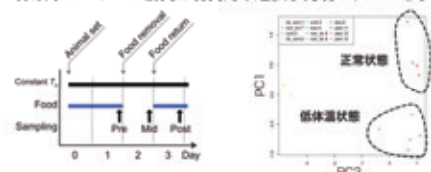


Fig. 5 休眠中のマウスの筋肉は特異的な遺伝子発現パターンを示す



論文

1. Sunagawa GA et al. Hypometabolism during daily torpor in mice is dominated by reduction in the thermoregulatory system. *Sci. Rep.* 6: 37011 (2016).
2. Sunagawa GA et al. Mammalian reverse genetics without crossing reveals Nr3a as a short-sleeper gene. *Cell Rep.* 14: 662-677 (2016).
3. Tatsuki F et al. Involvement of Ca^{2+} -dependent hyperpolarization in sleep duration in mammals. *Neuron* 90: 70-85 (2016).

第5回 領域会議：概要

会期：2018年2月10日（土）－11日（日）

会場：東京大学本郷キャンパス・薬学系総合研究棟2F講堂

第1日目 2月10日（土）

9:00～9:05 領域代表挨拶

A01班による発表

9:00～14:38

A02 公募23	中村 隼明
A02 公募22	高橋 将文
A02 公募21	野村 真
A02 公募20	浅野 知一郎
A02 公募19	小川 涉
A02 公募18	藤田 潤
A02 公募17	中川 貴之
A02 公募16	塩見 邦博
A02 公募15	神吉 智丈
A02 公募14	田中 光一
A02 公募13	酒井 寿郎
A02 公募12	武田 憲彦

A02班による発表

14:38～18:32

A01 公募10	神谷 厚範
A01 公募9	江藤 圭
A01 公募8	佐藤 陽子
A01 公募7	井藤 彰
A01 公募6	中野 雅裕
A01 公募5	藤原 祐一郎
A01 公募4	大倉 正道
A01 公募3	井上 飛鳥
A01 公募2	小野 崇人
A01 公募1	西山 賢一

第2日目 2月11日（日）

A02班による発表

9:00～12:00

A02 計画7	柴崎 貢志
A02 計画7	南 雅文
A02 計画6	土居 雅夫
A02 計画5	山田 哲也
A02 計画5	中村 和弘
A02 計画4	原田 慶恵・岡部 弘基
A02 計画3	梅田 眞郷
A02 計画2	今本 尚子
A02 計画1	内田 邦敏
A01 計画1	久原 篤
A01 計画1	高木 昌宏
A01 計画1	富永 真琴

12:00～12:15

領域代表挨拶・学術専門官・評価者講評



第6回 領域会議：概要

会期：2018年6月25日（月）－26日（火）

会場：沖縄コンベンションセンター

第1日目 6月25日（月）

9:15～9:30 領域代表挨拶

計画班による発表

9:30～11:30

A01 計画1	富永 真琴
A01 計画1	高木 昌宏
A01 計画1	久原 篤
A01 計画1	内田 邦敏
A01 計画2	今本 尚子
A01 計画3	梅田 眞郷
A01 計画4	原田 慶恵
A01 計画4	岡部 弘基

13:30～14:48

A02 計画5	中村 和弘
A02 計画5	山田 哲也
A02 計画7	南 雅文
A02 計画7	柴崎 貢志
A02 計画6	土居 雅夫

公募班フラッシュトーク

14:48～15:36

A02 公募20	関 原明
A02 公募16	西 英一郎
A02 公募12	中山 一大
A01 公募1	養王田 正文
A01 公募2	清水 啓史
A01 公募3	坂口 怜子

特別講演

15:55～16:40

教授 有田 誠（理化学研究所 / 慶応義塾大学 / 横浜市立大学）

「リボクオリティが解き明かす生命現象」

16:40～17:25

教授 柳田 充弘（沖縄科学技術大学院大学）

「Molecular measures of human aging and a new cohesin model」



第2日目 6月26日（火）

公募班フラッシュトーク

9:16～11:20

A01 公募4	藤原 祐一郎
A01 公募5	西頭 英起
A01 公募6	村上 達也
A01 公募7	江藤 圭
A01 公募8	神谷 厚範
A02 公募9	櫻井 勝康
A02 公募10	大西 浩史
A02 公募11	畠山 浩人
A02 公募14	神吉 智丈
A02 公募15	森 郁恵（青木 一郎）
A02 公募17	中川 貴之
A02 公募18	野村 真
A02 公募19	太治 輝昭
A02 公募21	砂川 玄志郎

12:00～13:30

ポスター発表

13:30～14:00

評価者講評、領域代表挨拶



領域会議：若手の声



岩崎 広高

滋賀医科大学 薬理学講座 助教

私は公募班の西英一郎先生の下で、ナルディライジンという分子の研究を中心に、様々な生命現象や疾患メカニズムの解明に取り組んでいます。ナルディライジンは、もともと西先生が増殖因子の受容体として同定したメタロプロテアーゼの1種でしたが、その後の研究から、細胞外ドメインシェディングを増強する機能、核内での転写制御機能など、局在に応じた多機能性を有するユニークなタンパク質であることがわかってきました。私はもともと滋賀医科大学病院糖尿病内分泌内科で糖尿病や肥満症患者さんを中心に診療していたため、ナルディライジンがエネルギー代謝に果たす役割について興味を持って研究を進めています。これまでのナルディライジン欠損マウスの解析などより、ナルディライジンは体温恒常性維持機構において重要な役割を担っていることが明らかになってきました。例えば、肝臓のナルディライジンは、栄養シグナルを感知して皮膚からの熱放散を促し褐色脂肪組織での熱産生を引き起こすという食事誘発性熱産生との関係が示唆されており、現在詳細な解析を進めているところです。このようにナルディライジンは熱代謝と深く関連していることから、私は2018年6月25-27日に

沖縄で開催された第6回領域会議、第4回若手の会にはじめて参加させていただきました。

班会議自体はじめての参加でしたが、温度生物学というテーマで様々な分野の研究者の方々が集まり、白熱した発表、ディスカッションが展開されていました。温度感受性TRPチャネル、細胞内温度センシング、代謝や体温調節など非常に多岐にわたる分野の独創的な研究について学ぶことができ、温度生物学がこれからどんどん発展していく分野だと実感しました。沖縄で開催されたため同世代の若手研究者の方々と泊りがけで交流することができ、多様な研究や留学などの話も聞けて、大変刺激を受けました。また、若手の会では多くの学部学生の発表に研究への純粋な情熱を感じ、初心に帰ることのできるとても有意義な時間を過ごすことができました。会場では私たちの研究に対する建設的なご意見をたくさんいただき、また実験手技の具体的な相談もでき、今後の研究への励みになりました。温度生物学についてまだまだ十分に理解できていないわけはありませんが、領域全体に貢献できるよう研究を進めていきたいと思えます。今後ともご指導いただきますよう、よろしくお願い申し上げます。





橘 大輝

北海道大学大学院 生命科学院 生命科学専攻 修士二年

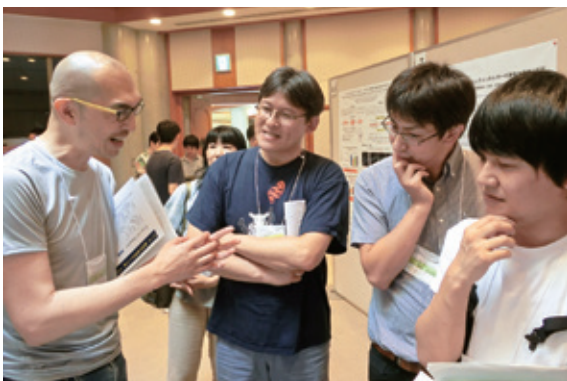
2018年6月25～27日にかけて行われた、第6回領域会議・第4回若手の会に計画研究南班の研究者として参加させていただきました。この度は私の当研究領域に参加した経緯と今回の領域会議の感想を簡単にではありますが述べさせていただきます。

私の研究人生は、温度生物学の研究からスタートしました。まだ研究の「け」の字もわからなかった学部3年生の私は、様々な刺激により生じる不快情動の脳内神経メカニズムを研究していた南研究室へ配属されました。そこで行われていたテーマの中に当時始動したばかりの「環境温度における行動制御に関わる快・不快情動生成機構の解明」がありました。私は、故郷が青森であり、かつ現在住んでいる地域が北海道であるため、極端な環境温度による心身の負担というものは身近であり当テーマに強い関心を持ちました。このような経緯から私は研究生生活の第一歩を踏み出すとともに温度生物学の世界にも足を踏み入れました。

現在私は、特に「暑熱環境」による不快情動生成に関わる神経機構の解明を目的とし、暑熱環境による不快情動を評価するための行動実験系を新たに構築し、暑熱環境において活性化する脳領域を免疫組

織学的解析により明らかにした上で、当該脳部位が暑熱環境による不快情動生成に関わるか否かを脳局所破壊実験、光遺伝学的手法やファイバーフォトメトリー法を用いて検討しています。

初夏と呼ぶには厳しい日差しと暑さのもと行われた第6回領域会議でしたが、議論はその暑さに負けぬほどに白熱したものであったと感じました。その様な白熱の議論の場で強く痛感させられたのは自身の浅学さでした。様々な側面から行われ、発表された温度生物学の研究の多様さに、強い興味とともに十分に理解しきれない悔しさを感じました。一方で、そのような多様なトピックにおいて活発な議論を交わし続ける先生方に改めて深い尊敬と憧憬も感じ、研究、勉学に一層励みたいと決意した領域会議でした。この決意のもと、これからも精進して参りますので、今後ともご指導ご鞭撻のほどよろしくお願いいたします。



第3回 若手の会：概要

会期：2018年1月19日（金）－20日（土）

会場：邦和セミナープラザ

第1日目 1月19日（金）

13:00～13:10 開催の挨拶

13:10～15:02 セッション1

山野井 遊（岡崎統合バイオサイエンスセンター）

李 天邦（岡崎統合バイオサイエンスセンター）

馮 曉娜（岡崎統合バイオサイエンスセンター）

岡畑 美咲（甲南大学）

高垣 菜式（甲南大学）

大西 康平（甲南大学）

村上 光（京都大学）

秋山 大宗（京都大学）

15:20～16:58 セッション2

柳 昂志（東京大学）

今関 眞倫（東京大学）

蔡 翠媛（東京大学）

金 彩銀（東京大学）

賣田 雅治（東京大学）

三堀 高志（東京大学）

橘 大輝（北海道大学）

17:20～18:05 特別講演1

教授 森 郁恵（名古屋大学大学院 理学研究科）

「線虫における温度情報の保持と伝達機構」

18:05～18:50 特別講演2

准教授 沼野 利佳（豊橋技術科学大学大学院 工学研究科）

「ものづくりを生かした神経活動計測とその応用」

21:10～21:55 特別講演3

准教授 曾我部 隆彰（A01 富永班）

「Live Your “Life Science”!」



第2日目 1月20日（土）

9:00～10:20 セッション3（トピカル講演）

A01 Derouiche Sandra

（岡崎統合バイオサイエンスセンター）

A01 長尾 耕治郎（京都大学）

A02 村井 伊織（京都大学）

A02 山下 俊一（新潟大学）

10:40～12:04 セッション4

八尋 貴樹（名古屋大学）

内田 邦敏（福岡歯科大学）

岡部 弘基（東京大学）

片岡 直也（名古屋大学）

人羅 菜津子（北海道大学）

鈴木 喜郎（岡崎統合バイオサイエンスセンター）

12:05～12:45 全体討論会

12:50～14:14 セッション5

齋藤 茂（岡崎統合バイオサイエンスセンター）

高山 靖規（岡崎統合バイオサイエンスセンター）

Erkin Kurganov（岡崎統合バイオサイエンスセンター）

宇治澤 知代（岡崎統合バイオサイエンスセンター）

大屋 愛実（名古屋大学）

唐澤 直義（自治医科大学）

14:15～14:30

発表優秀者表彰・閉会の挨拶



第4回 若手の会：概要

会期：2018年6月26日（火）－27日（水）

会場：沖縄コンベンションセンター

第1日目 6月26日（火）

19:00～19:30 教育講演1

教授 柳田 充弘（沖縄科学技術大学院大学）

「いかにして若手研究者はアンビシャスになれるか？」



19:30～20:00 教育講演2

教授 中村 和弘（名古屋大学大学院 医学研究科）

「いまさら聞けない！？ 体温調節の基礎知識」



20:00～21:00 ミキサー

第2日目 6月27日（水）

9:10～9:50 教育講演3

特命講師 岡本 士毅（琉球大学大学院 医学研究科）

「視床下部室傍核には脂肪と炭水化物の食べ分けを決める食嗜好性制御ニューロンが存在する」

10:00～10:58 フラッシュトーク1 29名

11:15～12:21 フラッシュトーク2 33名

12:21～14:15 ポスター発表

14:15～14:30 若手の会幹事・領域代表挨拶



2018年温度生物学公開シンポジウム「温度生物学の展開」

新学術領域研究「温度生物学」 公開シンポジウム開催報告

国立研究開発法人理化学研究所 開拓研究本部 今本細胞核機能研究室
今本 尚子

学会名：新学術領域研究「温度生物学」公開シンポジウム
会場：東京大学本郷キャンパス・薬学系総合研究棟2F講堂
開催日時：2018年2月11日（日）
シンポジウムタイトル：公開シンポジウム「温度生物学の展開」
オーガナイザー：岡部 弘基（東京大学）、今本 尚子（理化学研究所）



プログラム

- | | |
|-------------|--|
| 14:00~14:05 | 領域代表挨拶 |
| 14:05~14:35 | Dr. Chun-Hsiang Tan
(Kaohsiung Medical University, Kaohsiung, Taiwan)
「The TRPM2 ion channel is required for sensitivity to warmth.」 |
| 14:35~15:05 | 深田 吉孝（東京大学大学院 理学系研究科）
「温度などの環境シグナルに応答する体内時計と時計タンパク質」 |
| 15:05~15:35 | 梅田 眞郷（京都大学大学院 工学研究科）
「昆虫の体温調節とエネルギー代謝」 |
| 15:50~16:20 | 小山 隆太（東京大学大学院 薬学系研究科）
「マイクログリアによる脳内温度情報の感知と神経回路再編成」 |
| 16:20~16:50 | 南 雅文（北海道大学大学院 薬学系研究科）
「不快情動生成の神経機構」 |
| 16:50~17:00 | 領域代表結語 |

新学術領域研究「温度生物学」の第5回領域班会議のあとに、公開シンポジウムを開催した。領域班会議は班員だけが参加できるclosedな会議だが、班員以外の研究者や学生に、「温度生物学」という新しい学問分野に興味を持ってもらいたいと考えた。温度生物学をテーマに新学術領域メンバーと外部研究者の両方の演者に講演をお願いして、半日の講演会を開いた。日曜日の午後にもかかわらず、東大薬学部講堂がほぼいっぱいになるほど盛況だった。

シンポジストに、外部研究者として、台湾Kaohsiung Medical UniversityのTan先生、東京大学の深田先生と小山先生をお招きし、新学術領域メンバーとして、京都大学の梅田先生と北海道大学の南先生に講演をお願いした。それぞれの講演者の講演タイトルにあるように、TRPチャネル

や時計タンパク質といったタンパク質レベルの話から、エネルギー代謝、神経回路再編成、不快情動生成機構など、細胞レベルの解析から個体レベルの解析まで、非常の幅広い研究内容の講演会であった。

殆どの生物学の研究者は、自分の専門分野の中で研究を発表して議論することが多い。「温度」をキーワードにすると、温度に関わる生物現象が広範に及ぶため、研究内容も自然と幅広くなる。成熟した研究分野では、研究内容と議論がディテールになりがちである。勿論、そうしたことも生物学には重要である。若い分野では、大つかみの新しい問題に気づいて、それがきっかけとなって、新しい方向性の研究が生まれることがある。「温度生物学」という新分野には、そうした魅力もある。



本領域の活動

国際共同研究加速基金

群馬大学大学院 医学系研究科 分子細胞生物学分野 准教授
柴崎 貢志

渡 航 先：前橋（ユタ大学からの受け入れ）、米国ユタ大学医学部眼科

渡航期間：2016年8月28日－9月1日（前橋への受け入れ）

2016年10月24日－11月17日（ユタ大学訪問）

現在、柴崎グループでは、米国ユタ大学眼科、ベルギールーベン大学、米国ソーック研究所との共同研究を行っている。このうち、ユタ大学医学部眼科のDavid Krizaj教授からは、網膜の神経節細胞に発現するTRPV1の機能解析を共同研究で行いたいとの相談を受けた。幸い、国際共同研究加速基金を用いた共同研究が可能であると伝えたとこ、Krizaj教授自身が群馬大学医学部を訪問し（下記写真）、約1週間共同研究を行った。滞在中は2重蛍光in situ hybridization法を用いた網膜組織内TRPV1陽性細胞の可視化や温度刺激によるTRPV1活性化電流の計測などを行った。そして、TRPV1が網膜メラノプシン陽性細胞の興奮性を調節することを見だし、昨年論文報告することが出来た（*J. Physiol.* 595: 6499-6516, 2017）。Krizaj教授の群馬大学滞在中には様々なディスカッションを行うことが出来た。その結果、群馬大学眼科と進めていた網膜剥離病態悪化メカニズムの解明に関するプロジェクトについて、Krizajラボと多くの接点があることが分かった。我々は、網膜剥離時にグリオーシスによりミュラーグリアの急激な浮腫が起ることで、TRPV4が異常活性化し、視細胞死が増えることを解明していた。特に、体温環境下でミュラーグリア浮腫が起ることがTRPV4異常活性化を引き起こすことに注目し、検証実験を進めていた。そんな時に、Krizaj教授はマウス網膜からミュラーグリアを急性単離すれば、さらに様々な検証が可能であるとアドバイスをくれた。そこで、ミュラーグリア

急性単離の手技を伝授してもらふこととなり、ポストクの杉尾君を3週間派遣し、実験手法を習い受けた（下記写真）。杉尾君は短期間でその手技に習熟して帰国してくれ、その後多くの検証実験を行うことが出来た。

さらに昨年ひょんなことから新たに国際共同研究をスタート出来た。ベルギールーベン大学のPhillipe Gailly教授が脳アストロサイトTRPV4機能（JBC 2014の我々の論文）に関して様々な質問をしてきた。何度かメールをやりとりするうちにGaillyラボでは独自にTRPV4-floxマウスを作製し体液浸透圧の調節メカニズムを調べる研究を進めていることが分かった。そして、Gailly教授はそのTRPV4-floxマウスを柴崎グループで使えば今後の実験に有用ではないかと提案をくれたのである。そこで、昨年度の国際共同研究加速基金を用い大至急でTRPV4-floxマウスを導入した。現在、様々な細胞種特異的なTRPV4KOマウスの交配を終え、解析を急いでいる。特にミュラーグリア特異的なTRPV4KOマウスを作製し、上述した網膜剥離プロジェクトに用いた。そして、その病態悪化メカニズムを解き明かすことに成功した（Krizaj教授、Gailly教授との国際共同研究成果 *J. Neurosci.* in press. 網膜剥離の新たな治療法につながるため新聞やwebで多数報道された）。

温度生物学領域もあと1年半の期間を残すのみとなったが、この国際共同研究加速基金を有効活用して、さらに多くの国際共同研究成果を発信していきたいと考えている。



群馬大訪問中のKrizaj教授と（TRPV1熱刺激電流測定時）



ポストクの杉尾君とKrizaj研のJo博士（Great Salt Lakeにて）

本領域の活動

学会・シンポジウム開催報告

群馬大学大学院 医学系研究科 分子細胞生物学分野 准教授
柴崎 貢志

学 会 名：次世代脳プロジェクト冬のシンポジウム2017
会 場：一橋大学 一橋講堂 学術総合センター
開催日時：2017年12月20日 (水)
シンポジウムタイトル：「温度生物学」～温度脳神経科学～
オーガナイザー：富永 真琴 (岡崎総合バイオサイエンスセンター)

プログラム

富永 真琴 (自然科学研究機構 岡崎総合バイオサイエンスセンター 細胞生理研究部門)
「温度感受性TRPチャンネルと痒み」
江藤 圭 (生理学研究所 生体恒常性発達研究部門)
「一次体性感覚野の興奮性・抑制性神経細胞による温度センシング機構」
柴崎 貢志 (群馬大学大学院 医学系研究科 分子細胞生物学)
「体温下のメカノセンサーチャンネル活性化が神経回路形成を促進する」
中村 和弘 (名古屋大学大学院 医学系研究科 統合生理学)
「体温と代謝の自律性・行動性調節を担う神経回路機構」
土居 雅夫 (京都大学大学院 薬学研究科 システムバイオロジー)
「脳内中枢時計によるG蛋白質共役受容体を介した体温の概日性制御機構」

温度生物学領域には神経を専門とする研究者が多い。このため、2016年に立ち上がった次世代脳プロジェクトへの支援を毎年継続的に行っている。2017年度は次世代脳プロジェクト冬のシンポジウムにおいて、「温度生物学」～温度脳神経科学～というタイトルでシンポジウムを共催した。会場は多くの聴衆で埋まり、神経科学研究者の温度生物学への関心が高いことが伺えた。シンポジウムの開始にあたって、領域代表の富永先生から温度生物学の目指す方向や実際の研究活動に関する紹介があり、多くの方に温

度生物学の重要性を認識して頂けたと考える。演者からは、痒みの惹起にTRPチャンネルが関与すること、温度感知時の大脳皮質一次体性感覚野における神経応答、発生中の神経細胞内に発熱領域が存在すること、行動性体温調節を制御する神経回路網の同定、活動期の休眠惹起のメカニズムが報告された。質疑時間には非常に多くの質問が飛び交い、活発なディスカッションがなされた。今後の神経科学領域の発展のためには、温度生物学的視点をもった研究が重要なポイントになると実感するシンポジウムであった。



学会・シンポジウム開催報告

東京大学大学院 薬学系研究科
岡部 弘基

学 会 名：第2回 バイオサーモロジーワークショップ
会 場：東京大学薬学系総合研究棟 講堂
開催日時：2017年12月25日(月)－26日(火)
オーガナイザー：岡部 弘基(東京大学)、濱田隆宏(東京大学)

プログラム

Session I 微小空間温度制御と温度センシング技術の最先端
鈴木 団 (大阪大学蛋白質研究所・JSTさきがけ)
「筋肉1細胞の1℃」
井藤 彰 (九州大学工学研究院 化学工学部門 分子・生物システム工学講座)
「機能性磁性ナノ粒子を用いた生体加熱技術」
蛭田 勇樹 (慶應義塾大学 理工学部 応用化学科 分析化学研究室)
「細胞取り込み制御可能な温度応答性蛍光ポリマープローブの開発」

Session II 温度生物学の広がり
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 細胞生理研究部門)
「温度感受性TRPチャネルの構造と機能」
Oleg Gusev (理研-KFUPU応用ゲノム特別ユニット)
「Extreme biothermology: our current state of knowledge about mechanisms of unique tolerance of a turtle leech to deep freezing and desiccation.」
大谷 美沙都 (奈良先端科学技術大学院大学 植物代謝制御)
「RNA代謝を介した植物の温度情報処理戦略」

Session III 熱物性から見た生体とソフトマター
石渡 信一 (早稲田大学 理工学術院 先進理工学部 物理学科)
「さまざまな細胞機能と熱物性」
佐野 雅己 (東京大学大学院 理学系研究科 物理学専攻)
「生物と非生物のあいだにある熱をめぐる話題」
邊見 久 (名古屋大学大学院 生命農学研究科)
「古細菌の耐熱性と膜脂質の関係」

Session IV 温度を知って、使いこなすー利用・制御・再構成ー
神谷 厚範 (国立循環器病研究センター)
「生動物の皮膚温度感知と温度動態の2光子イメージング解析」
中辻 博貴 (大阪大学大学院 工学研究科)
「ドラッグデリバリー技術を利用した光機能性ナノ材料による細胞局所加熱とそれを用いた細胞機能制御」
瀧ノ上 正浩 (東京工業大学 情報理工学システム生命物理学研究室)
「温度冷却過程で油中水滴界面上で生成されるDNAマイクロスケルトン構造」

Session V 熱の危険を回避する
今本 尚子 (理化学研究所 今本細胞機能研究室)
「熱ストレス時における核一細胞質間輸送とHikeshiの機能」
篠崎 和子 (東京大学大学院 農学生命科学研究科 応用生命科学専攻 植物分子生理学研究室)
「植物の熱ストレス応答における転写調節ネットワークと耐性の獲得」

Session VI 生体シグナルとして機能する温度
川上 直人 (明治大学 農学部 生命科学科)
「種子が温度を感知し、発芽を制御するメカニズム」
宮川 信一 (和歌山県立医大 先端医学研究所 遺伝子制御学研究室)
「温度環境に依存する爬虫類の性決定機構」
北野 健 (熊本大学大学院 自然科学研究科 (理学系) 生命科学)
「メダカの温度依存的性決定における熱ショック転写因子の役割」

私は新学術領域研究温度生物学との共催により第二回バイオサーモロジーワークショップを企画・実行いたしましたので、報告申し上げます。

生命は、進化の過程で常に変動する過酷な環境温度に適応すべく複雑なシステムを作り上げてきた一方で、熱は生命にとって効率的に利用すべきエネルギー源でもあります。このように、生命は熱に対して、回避と活用の一見相反する応答システムを備えています。さらに、細胞内では局所温度が大きく変動し、細胞内反応への直接的に関与することも明らかになりつつあります。このような温度と生命現象の接点となる根源的原理は、温度という物理因子の普遍性とは裏腹に、いまだに謎に包まれています。バイオサーモロジーワークショップは、温度が深く関与する種々の生命現象に対して、生物学の枠組みにとらわれずに自由に議論することを目的としています。特に、物理現象としての温度変動や熱応答に関する現象論として「生命の温度

シグナリング」と向き合うことで、そのユニークなメカニズムや意義が深く理解できるのではと期待しています。

第二回目となった本ワークショップでは、新学術領域研究「温度生物学」の研究者を含む多岐に渡る研究者17名を招待し、生命における温度の関わり方を6つのカテゴリーに分けてご講演いただきました。それぞれの発表の研究分野は生物学だけでなく物理学から化学、生理学や進化など、多彩を極めましたが、共通することは生命と温度のユニークな関わり方であり、本研究の魅力がより際立ったと感じました。

まだ温度と生命現象の接点となる根源的原理の解明は始まったばかりですが、このような議論の場を通して今後の温度生物学の推進と発展に供すると決意するとともに、素晴らしい講演をして頂いた演者の先生方に深く御礼申し上げます。



学会・シンポジウム開催報告

生理学研究所 生体恒常性発達研究部門 助教
江藤 圭

学 会 名：第95回 日本生理学会大会

会 場：サンポートホール高松・かがわ国際会議場

開催日時：2018年3月29日（木）16:10～17:55

シンポジウムタイトル：温度感覚の新たな情報処理メカニズム：知覚、情動、そして行動

オーガナイザー：中村 和弘（名古屋大学）、江藤 圭（生理学研究所）

プログラム

加塩 麻紀子（愛知医科大学 生理学講座）

「温度感受性代謝センサーTRPM2」

中村 和弘、八尋 貴樹、片岡 直也、中村 佳子（名古屋大学大学院 医学系研究科）

「温度知覚と体温調節行動は異なる温度感覚伝達路で駆動される」

江藤 圭、鍋倉 淳一（生理学研究所）

「一次体性感覚野の興奮・抑制性神経細胞における皮膚温度処理」

永島 計¹、相澤 優香¹、原田 宗子¹、中田 大貴¹、定藤 規弘²（1.早稲田大学 人間科学学術院、2.生理学研究所）

「温度受容に関わる脳部位の探索」

中村先生と私は、新学術領域研究温度生物学の支援を受け、第95回日本生理学会大会でシンポジウム「温度感覚の新たな情報処理メカニズム：知覚、情動、そして行動」を開催しました。温度は生体において様々な影響を及ぼす重要な物理量です。私たちの体では温度は末梢で受容された後、その情報は脊髄を介して脳へと伝達されます。その際、脳は温度の知覚だけでなく、温度に対する快不快や体温調節に寄与すると考えられます。近年、これまで知られていなかった分子によって末梢における温度知覚が行われていることや、体温調節行動の新たな機構など温度感覚の情報処理について新しい知見が得られてきました。そこで、本シンポジウムでは、このような温度の生体における知覚と温度知覚によって誘発される行動に関する最新の研究について紹介を行いました。

加塩先生は、最近温度感覚に重要であることが明らかにさ

れたTRPM2に着目し、TRPM2の特性を示した後、その膵臓β細胞におけるインスリン放出への寄与と様々な因子によるTRPM2調節機構について発表された。中村先生は、行動性体温調節行動には脊髄視床皮質路ではなく、外側腕傍核を介した経路が重要であることを示されました。また、江藤は末梢から伝達された温度情報が一次体性感覚野で興奮性神経細胞・抑制性神経細胞によってどのように処理されているかについて示しました。最後に永島先生が人を対象とした機能的核磁気共鳴法を用いた実験により、末梢温度刺激によってどの脳領域が活性化されるのかを紹介されました。各講演では、多くの質問が出て活発な議論が行われた。また、多くの聴衆に参加していただくことができたことから温度研究に対する生理学研究者の高い関心を実感すると共に、参加された先生方に温度研究の面白さをお伝え出来たのではないかと感じました。

学会・シンポジウム開催報告

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65回 日本実験動物学会総会

会 場：富山県民会館

開催日時：2018年5月16日（水）9:30～11:30

シンポジウムタイトル：温度生物学

オーガナイザー：富永 真琴（生命創成探究センター（ExCELLS））、中村 和弘（名古屋大学）

プログラム

富永 真琴（自然科学研究機構 生命創成探究センター（ExCELLS））

「温度感受性TRPチャネルと生理機能」

中村 和弘・片岡 直也（名古屋大学大学院 医学系研究科）

「心理ストレスによる体温上昇の仕組み」

土居 雅夫（京都大学大学院 薬学研究科）

「マウスとハエに共通にみられる体温の日内リズムを制御するG蛋白質共役型受容体」

山田 哲也・片桐 秀樹（東北大学大学院 医学系研究科）

「糖代謝と体温調節をつなぐ臓器連関の解明」

本新学術領域「温度生物学」の支援を受け、第65回日本実験動物学会総会シンポジウム「温度生物学」を開催しました。

温度は生命機能における重要な因子ですが、温度は様々な生命機能に強い影響を与えるだけでなく、温度を生命や恒常性の維持に利用する生命機能もあります。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、温度生物学領域の中から、個体レベルでの生理学的解析を主体とした研究を展開している研究者が講演を行いました。内容は、1) 温度受容チャネルとクロライドチャネルの複合体による腺分泌制御、

2) 心理ストレスを受けた時に熱の産生を指令する脳の神経回路、3) マウスとハエに共通した昼寝と体温低下現象に関わるG蛋白質共役型受容体、4) 飢餓状態の時に消費エネルギーを減らして摂取エネルギーを体内に蓄積する脳-肝-脂肪連関など、温度生物学領域で生み出された最新の研究成果を紹介しました。「温度」をキーワードに多様な生命科学分野を包括する温度生物学領域らしさを感じることのできるシンポジウムとなりました。

学会の開会式に引き続くオープニングセッションでもあったことから、大きなホールに多数の聴衆が集まり、演者との活発な議論が行われました。あらためて、温度生物学への高い関心と今後へのさらなる期待を強く感じた次第です。日本実験動物学会総会の久和 茂大会長をはじめ、本シンポジウム開催にあたり御尽力下さいました皆様方に感謝申し上げます。

温度生物学 技術紹介

東京大学大学院 薬学系研究科 助教

岡部 弘基

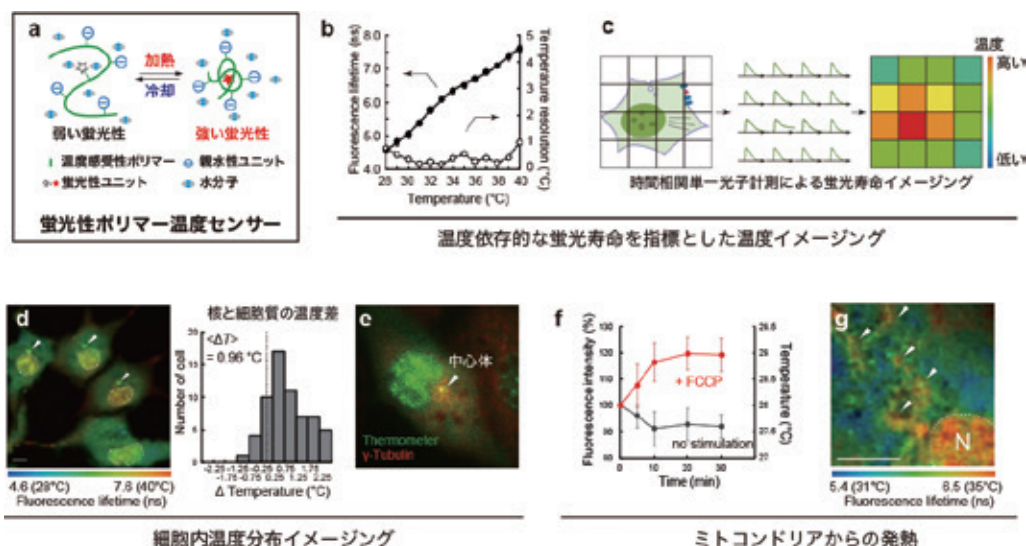


蛍光性ポリマー温度センサー (FPT, 図a) を用いた細胞内温度イメージングについて紹介する (参考文献1-4)。このセンサーの機能は温度感受性ユニットと水分子感受性蛍光団ユニットが担っている。低温では、水分子により蛍光は弱い状態であるが、高温下では温度感受性ユニットの疎水性相互作用によってセンサーは収縮することにより水分子はセンサー外へ排除され、蛍光強度の上昇や蛍光寿命の延長といった蛍光特性の大きな変化が生じる。この温度依存的变化は、温度以外の環境因子 (pH、イオン強度、タンパク質濃度等) にはほとんど影響を受けない。FPTの細胞内への導入にはマイクロインジェクション法により直接注入するか、カチオン型センサー (参考文献4) を用いて自動的に細胞内に取り込ませる。一般的な蛍光イメージングによる検出でも細胞内の温度変化を捉えることは可能であるが、細胞内の温度分布を定量的に検出するためのパラメータとしては、蛍光寿命が優れている。一般に、蛍光寿命はプローブ濃度や励起光強度の影響を受けにくいため、細胞内温度分布の可視化に適している。定量的な蛍光寿命計測法の一つである時間相関単一光子相関法による蛍光寿命イメージング顕微鏡法 (FLIM) を用いた定常状態のCOS7細胞内の温度センサーの蛍光寿命イメージングの結果、細胞内の場所による温度の差が観察された (図d-g) (参考文献2)。特徴的な結果として、核内の温度が細胞質と比較して平均 0.96°C 高温であること (図d)、中心体が高温を示す (図e) といった温度分布が観察された。また、ミトコンドリアでは、ATP合成によるエネルギー産生が行われているが、その駆動力となる内・外膜間に蓄積された高濃度プロトンが細胞質側に漏れることにより発熱することが知られている。実際、図fに示した通り、脱共役剤

FCCPの添加により最大平均 0.98°C の上昇が観察された。また、ミトコンドリアを可視化した細胞内で温度分布イメージングを行った結果、一部のミトコンドリア周辺領域が高温である像が得られた (図g矢頭: Nは核を示す)。これらの結果は細胞機能と細胞内温度変動との有機的な関連を示唆している (参考文献3)。このように細胞内温度イメージングは、細胞内局所での発熱が細胞機能の駆動力として働く「温度シグナリング」の解明に必須の技術である。

参考文献

1. Gota C et al, Hydrophilic fluorescent nanogel thermometer for intracellular thermometry *J. Am. Chem. Soc.* 131: 2766-2767 (2009).
2. Okabe K et al, Intracellular temperature mapping with a fluorescent polymeric thermometer and fluorescence lifetime imaging microscopy. *Nat. Commun.* 3: 705 (2012).
3. Okabe K et al, Intracellular thermometry with fluorescent sensors for thermal biology. *Pflugers Arch.* 470: 717-730 (2018).
4. Hayashi T et al, A cell-permeable fluorescent polymeric thermometer for intracellular temperature mapping in mammalian cell lines. *PLoS ONE* 10: e0117677 (2015).

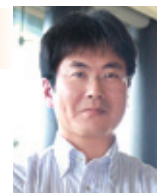


トピックス

恒温動物と変温動物の神経発生プログラムの共通性と多様性の解明

京都府立医科大学大学院 医学研究科 神経発生生物学 准教授

野村 真



はじめに

地球上に生息する生物は様々な温度環境に適応するように進化してきました。すべての生命現象は細胞内外の生化学反応に立脚しているため、個体の体温を調節するメカニズムは生物の生存に極めて重要です。動物の体温調節機構は、外界の温度に依存して体温が変化する「変温（外温）性」と、外界の温度が変化しても固有の体温を維持できる「恒温（内温）性」の2つに区分することができます。陸上の四肢動物の場合、哺乳類や鳥類は恒温動物ですが、爬虫類の多くは変温動物として知られています。これらの動物群は胚が羊膜という膜で包まれたかたちで発生するため「羊膜類」と呼ばれます（図1）。羊膜類は3億年前の共通祖先から分岐したと考えられており、哺乳類や鳥類は進化の過程で独立に恒温性を獲得したと推測されます（参考文献1）。

恒温性や変温性の獲得は胚発生にも大きな影響を与えたと考えられます。子宮内で胚が育つ哺乳類や、母体が孵卵する鳥類の場合、胚発生はほぼ母体の体温と同じ温度環境下で進行します。一方、産卵後卵が放置される爬虫類の場合、胚発生は胚体外の温度環境に大きく影響されます。こうした恒温動物や変温動物の発生プログラムがどの程度共通しているのか、また胚体外の温度変化に胚の発生プログラムはどのように適応してきたのか、という問題についてはほとんど解析が進んでいません。

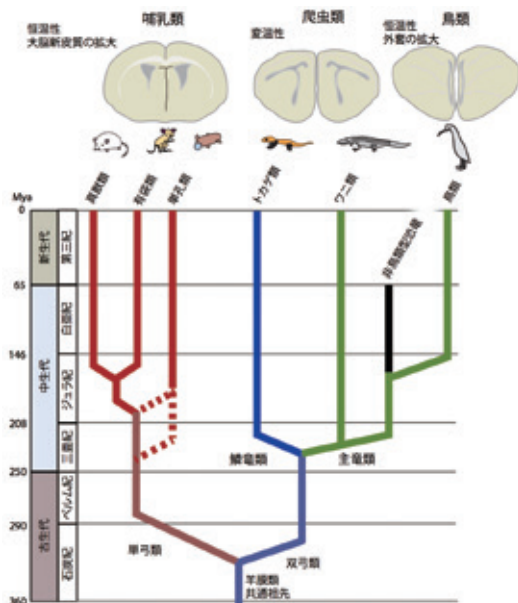


図1. 羊膜類の進化系統樹

現存する羊膜類（哺乳類、爬虫類、鳥類）はすべて古生代に生息していた共通祖先に由来する。羊膜類の進化の過程で、哺乳類と鳥類はそれぞれ独立に恒温性を獲得したと考えられるが、それがいつであったのかは不明である。一般的に「爬虫類」と呼ばれる動物群は双弓類の中の複数の系統を含むため、分岐分類学では認められていない。図は Nomura et al. Neurosci Res 2014 を改変。

恒温動物、変温動物の脳発生とNotch シグナル活性

脊椎動物の脳の大きさや構造は種によって著しい多様性を示します。体重との比率で比較すると、恒温動物である哺乳類や鳥類は爬虫類よりも大きな脳を持っています（参考文献2）。また、大脳の背側（外套）領域の構造は羊膜類の種によって大きく異なっています。哺乳類の背側外套は胚発生の過程で肥大し、内部に6層の層構造を持つ大脳皮質を発達させます。一方、爬虫類の背側外套は相対的に小さな3層構造の皮質を形成します。また鳥類の外套が「ウルスト」と呼ばれる隆起構造となります。こうした大脳の形態的な違いは胚発生時の神経前駆細胞の増殖・分化機構の違いによって生じると考えられてきましたが、実験的な検証はされていませんでした。

そこで我々は、まず哺乳類（マウス）、爬虫類（ヤモリ、スッポン）、鳥類（ニワトリ）の胚の大脳の発生過程を比較し、神経前駆細胞の動態を観察しました。その結果、哺乳類や鳥類と比較して爬虫類の神経分化率が著しく低いことを見出しました（参考文献3）。こうした種に特異的な神経分化率の基盤となる分子機構を探るため、我々は Notch シグナルに着目しました。Notch シグナルは細胞膜上に存在する Notch 受容体にリガンドである Delta, Jagged/Serrate が結合することにより細胞内にシグナルが伝達されます。Notch シグナルが神経前駆細胞で活性化されると、神経前駆細胞の未分化性が維持され、神経分化が抑制されます。Notch シグナルは転写因子である CSL によって伝達されるため、この CSL の結合配列を持つレポーターベクターによりシグナル活性を定量的に計測することが可能です。そこで我々は、羊膜類の神経前駆細胞における Notch シグナル活性の種間比較を行いました。その結果、哺乳類や鳥類と比較して、爬虫類の神経前駆細胞における Notch シグナルは活性が非常に高い状態で維持されていることが明らかとなりました。これは爬虫類における低い神経分化率という現象とよく一致しており、種間での Notch シグナル活性の制御が恒温動物と変温動物の神経発生プログラムの違いを生み出していることが示唆されました（参考文献3）。

恒温動物、変温動物の神経細胞サブタイプの共通性と多様性

哺乳類の大脳皮質6層構造は異なるタイプの神経細胞が整然と積み重なって構築されています。各層を構成する神経細胞は異なる転写因子を発現することにより、層特異的な形態や神経回路を構築します。こうした層特異的な神経細胞が哺乳類以外の動物の大脳に存在するのか、という問題は大きな議論になっています。近年の網羅的なトランスクリプトーム解析により、哺乳類、爬虫類、鳥類に共通した遺伝子発現が明らかとなってきました（参考文献4,5）。一方、こうした遺伝子発現の共通性が神経細胞の共通性（相同性）を意味しているのかどうかについては、未だ論争の決着がついていません。

そこで我々は、哺乳類大脳皮質の属特異的な遺伝子の中からCtip2、Satb2 という2つの転写因子に着目し、爬虫類、鳥類大脳におけるこれらの転写因子の発現を比較検討しました。その結果、哺乳類大脳皮質を構成する神経細胞ではこれらの転写因子はほぼ排他的な発現を示しますが、爬虫類や鳥類の神経細胞の多くは2つの転写因子を同時に発現していました。このような種間での神経細胞の遺伝子発現の違いが神経前駆細胞の種類の違いによるものかを検討するため、各々の神経前駆細胞が異なる蛍光色素で標識可能なCytbow/Nucbow というベクターを用いて、爬虫類や鳥類の神経前駆細胞のクローン解析を行いました。その結果、哺乳類と同様に、爬虫類や鳥類にも異なる神経細胞を産生する能力(多分化能)を持つ前駆細胞が存在することが明らかとなりました(図2)。

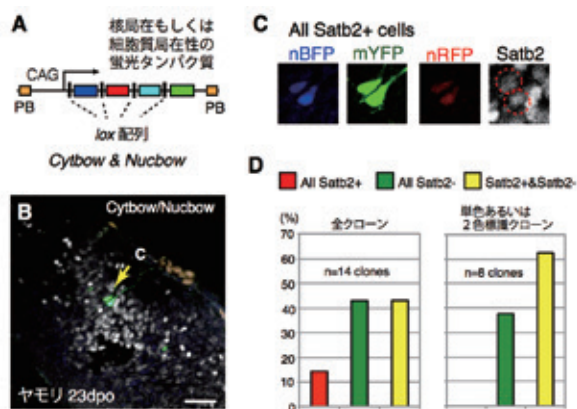


図2. Cytbow/Nucbowベクターによる爬虫類神経前駆細胞のクローン解析

(A) Cytbow/NucbowベクターはBrainbowシステムを応用したものであり、異なる波長と細胞内局在を持つ蛍光タンパク質がCreリコンビナーゼ存在下で発現する。(B、C) 蛍光標識されたヤモリ大脳の背側皮質の神経細胞。同一の蛍光色素の組み合わせで標識される神経細胞は同じ前駆細胞由来(クローン)であると推測される。(C) それぞれのクローンについて Satb2タンパク質の発現の有無を検討した結果、Satb2陽性、陰性の神経細胞を産生する前駆細胞(多分化能を持つ細胞)が存在することが明らかとなった。図は参考文献6を改変。

このような結果から、種間での神経細胞の遺伝子発現の違いは最終分裂後の転写調節機構にあると予測されました。哺乳類の大脳皮質では、Satb2 のタンパク質はCtip2 の発現を抑制することにより、排他的な発現を確立しています。この際、Ctip2 の遺伝子座に存在するMAR (Matrix Attachment Region) と呼ばれる配列にCtip2 が結合することにより、転写の抑制が起こります。そこで、爬虫類、鳥類のCtip2遺伝子座におけるMAR の分布を検討すると、MAR の数や場所が種によって大きく異なっており、特にニワトリではCtip2 遺伝子の3' 側に1つしかMAR が存在しませんでした。さらに、こうしたMAR の転写抑制機能を種間で比較した結果、哺乳類のMAR と比較して、爬虫類や鳥類のMAR は転写抑制機能が有意に低いことが明らかとなりました。したがって、MAR を介した転写抑制機能の獲得が、哺乳類独特の排他的な遺伝子発現機構を生み出したことが示唆されました(図3)。

こうした種特異的な神経細胞サブタイプはどのような神経回路を構築しているのでしょうか? 神経回路と遺伝子発現と

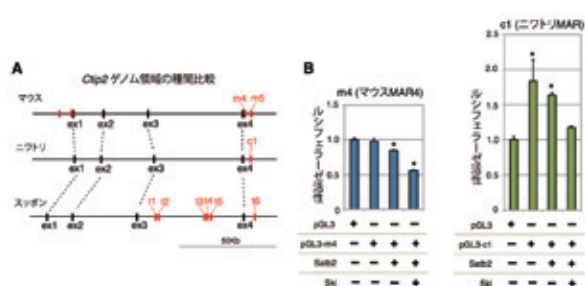


図3. Ctip2遺伝子座におけるMAR配列の種間比較解析

(A) マウス、ニワトリ、スッポンのCtip2遺伝子座における MAR (Matrix Attachment Region) の配列を比較した結果、その数と分布に種間で大きな違いがあることがわかった。(B) マウスとニワトリMARの転写活性をルシフェラーゼアッセイによって比較した結果。Satb2とそのコファクターの存在下ではマウスMAR はその転写を定常状態以下に抑制するのに対し、ニワトリMAR にはそこまでの抑制活性はみられなかった。参考文献6を改変。

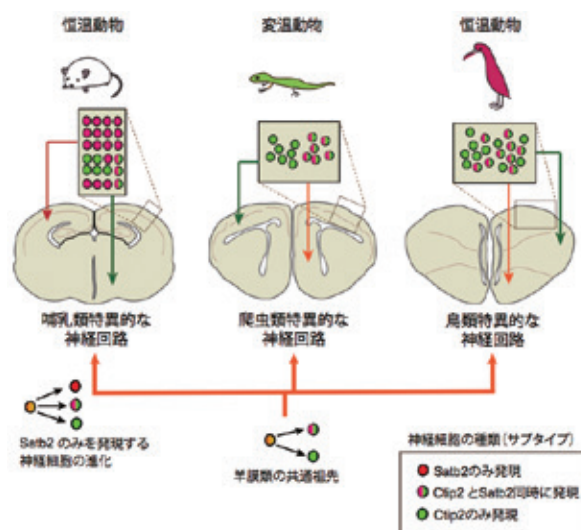


図4. 羊膜類における多様な神経回路網の形成機構の進化

共通祖先に存在していた神経細胞サブタイプを受け継ぎながら、羊膜類の各系統では独自に神経回路を進化させた。種間で相同な転写因子を発現する神経細胞も異なる神経回路を形成しており、各転写因子がどのような神経回路を形成するのに必要か、というプログラムには強い制約はかかっていたと推測される。こうした脳形成プログラムの可塑性が恒温性の獲得とどのような関連があったのか、現在解析を進めている。

の対応関係を種間で比較した結果、興味深いことに、種間で異なる転写因子を発現していても類似した神経回路が構築されている場合があることが明らかとなりました(図4)。すなわち、遺伝子発現と神経回路形成との間には強い拘束関係はなく、羊膜類の各系統でそれぞれ独自の発生プログラムを獲得していることが明らかとなりました(参考文献6)。

Notch シグナルの温度補償性、依存性と脳の発生・進化

これまで明らかにしたような恒温動物と変温動物に特異的な発生プログラムは胚体外の温度にどの程度依存しているのでしょうか? この問題を明らかにするため、我々は現在神経前駆細胞におけるNotch シグナルと細胞外温度との関連について研究を進めています。興味深いことに、爬虫類、鳥類の神経前駆細胞におけるNotch シグナルはより低温で活性化さ

れます。一般に細胞内の様々な代謝経路は温度が下がると抑制されると考えられますので、低温でのシグナルの活性化は非常に特異な現象です。一方、哺乳類の神経前駆細胞における Notch シグナルは培養温度の変化に対して補償性を示します。つまり、哺乳類と鳥類では同じ恒温動物であるにもかかわらず、Notch シグナルの温度依存性に大きな違いがあるわけです。これは、それぞれの動物が独自に恒温性を獲得した、いわゆる収斂進化の証拠の一つであると考えられます。こうした Notch シグナルの温度による制御がどのような分子機構に立脚しているのか、現在解析を進めています。また、このような Notch シグナルの温度依存性の種間差異が進化の過程でどのような適応的意味を持っていたのか、今後の解明が待たれます。

おわりに

恒温動物と変温動物の発生プロセスの違いやその進化に着目した研究はこれまでほとんど報告がありませんでした。我々のこれまでの研究により、羊膜類の脳の発生プログラムの共通性と多様性の一端が明らかとなりました (参考文献 3, 6, 7)。種に特異的な発生プログラムの解明は、温度依存的・補償的な発生メカニズムを解明する上での大きな手がかりを提供します。地質学的なスケールで鑑みると地球の温度は絶えず変動を繰り返しており、生物はこうした環境の温度変化に巧みに適応しながら進化してきました。こうした進化の痕跡を明らかにすることは、グローバルな温度変化が個体発生や生態系に与える影響を予測する上で重要な知見をもたらすと考えられます。

参考文献

1. Lovegrove BG. A phenology of the evolution of endothermy in birds and mammals. *Biol. Rev.* 92: 1213-1240 (2017).
2. Striedter GF. Principle of Brain Evolution. *Sinauer* (2005).
3. Nomura T et al. Changes in the regulation of cortical neurogenesis contribute to encephalization during amniote evolution. *Nat. Commun.* 4: 2206 (2013).
4. Belgard TG et al. Adult pallium transcriptomes surprise in not reflecting predicted homologies across diverse chicken and mouse pallial sectors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 110: 13150-13155 (2013).
5. Tosches MA et al. Evolution of pallium, hippocampus, and cortical cell types revealed single-cell transcriptomics in reptiles. *Science* 360: 881-888 (2018).
6. Nomura T et al. Species-specific mechanisms of neuron subtype specification reveal evolutionary plasticity of amniote brain development. *Cell Rep.* 22: 3124-3151 (2018).
7. Yamashita W et al. Conserved and divergent functions of Pax6 underlie species-specific neurogenic patterns in the developing amniote brains. *Development* dev159764 (2018).

温度受容システムの進化的な変化と環境適応

生理学研究所・細胞生理研究部門, 生命創成探究センター・温度生物学グループ 助教
齋藤 茂



はじめに

動物は感覚神経を介して外界や体内の温度を正確に感じ取り、環境の温度変化に対して行動的・生理的に応答しています。それぞれの動物種は地球上の幅広い温度環境に適応する進化過程で特有の生態的・生理的な特性を獲得し、生存に適する温度域も種ごとに変化してきました。そのため、同じ温度に曝された際に種によって感じ方が異なる場合があると予想されます。私達は進化の過程で温度受容の仕組みがどのように変化してきたか、また、その進化的な変化の分子基盤に興味を持って研究を進めています。

温度受容のセンサー分子として感覚神経に発現する温度感受性イオンチャンネルが同定されています。多くはtransient receptor potential (TRP) ファミリーに分類され、マウスやヒトでは11種類の温度感受性TRPチャンネルが知られています。これらのチャンネルは温度刺激だけでなく、様々な化学物質や温度以外の物理刺激によっても活性化されるマルチモーダルなセンサー分子として働いています(参考文献1)。私達はこれらのなかで、組織を損傷し得る侵害刺激の受容に関わるTRP vanilloid 1 (TRPV1) とTRP ankyrin 1 (TRPA1) に着目しています。両チャンネルは痛みを受容に関わる感覚神経に発現しています。ヒトやマウスなどの哺乳類ではTRPV1は約43℃以上の高温刺激によって活性化され、また、唐辛子の成分であるカプサイシンや酸刺激によっても活性化されます。一方、哺乳類のTRPA1は低温、ワサビに含まれるアリルイソチオシアネート、また、シナモンに含まれるシンナムアルデヒドなど植物に含まれる様々な化学物質によって活性化されます(参考文献1)。侵害刺激受容に関わるTRPV1やTRPA1は環境に存在する危険な刺激を回避するために必須であることから幅広い動物種に共有されています。しかし、侵害刺激として認識される温度域や刺激の種類は種によって異なることが知られています。そこで、脊椎動物種を中心に複数の種からこれらのチャンネルを単離し、電気生理学的手法による機能解析を行いました。また、環境適応に関連した進化的変化を明らかにするために異なる温度環境に生息する近縁種間の比較解析も進めています。

TRPV1およびTRPA1の種間多様性と進化過程

TRPA1は哺乳類だけでなく無脊椎動物の昆虫も保有していることから、8億年ほど前に存在した動物の祖先種には既に備わっていたと考えられます(図1)。哺乳類ではTRPA1は低温感受性であることが報告されていますが、一方で非温度感受性、または高温受容に関わるという報告もあります。ショウジョウバエではTRPA1は24~29℃ほどの温かい温度で活性化され、幼虫が不適な温かい温度を避ける行動に関わっています。私達はTRPA1の機能的な進化過程を調べるために、ニワトリ、グリーンアノールトカゲ、ツメガエル、ヒトデからTRPA1を単離して、電気生理学的な機能解析を行いました。その結果、いずれの種のTRPA1も高温(または温かい温度)によって活性化されることを明らかにしまし

た(図1-A)(参考文献2-4)。一方で、アリルイソチオシアネートのような化学物質に対する感受性はどの動物種のTRPA1にも保持されています。これらのことからTRPA1は脊椎動物の共通祖先において高温(または温かい温度)および化学物質のセンサー分子として機能していたと考えられます。

TRPV1は私達の分子系統学的な解析により脊椎動物の初期の進化過程(3.5~5億年前)に生じた遺伝子であることが分かっています(参考文献5)。私達はツメガエルのTRPV1を単離し、高温刺激により活性化されることを見出しました(参考文献6)。また、TRPV1はニワトリ、ゼブラフィッシュでも高温感受性であることが報告されています。この様なことから脊椎動物の祖先において既存のTRPA1に加えて、新たにTRPV1が誕生し、高温のセンサー分子が増えたと推測されます(参考文献7)。TRPA1とTRPV1は哺乳類だけでなく、ニワトリやネットタイツメガエルでも感覚神経において高度に共発現していることから、これら2種類のチャンネルは脊椎動物の祖先種において協調して高温受容に関与するようになったと考えられます(図1-B)。

TRPA1は哺乳類だけでなく昆虫やプラナリア(扁形動物)においても逃避行動に関与することが知られています。私達はイトマキヒトデの温度走性行動におけるTRPA1の役割を検討しました(参考文献3)。温度勾配を作ったチャンバー内でイトマキヒトデ幼生を遊泳させると温かい側に移

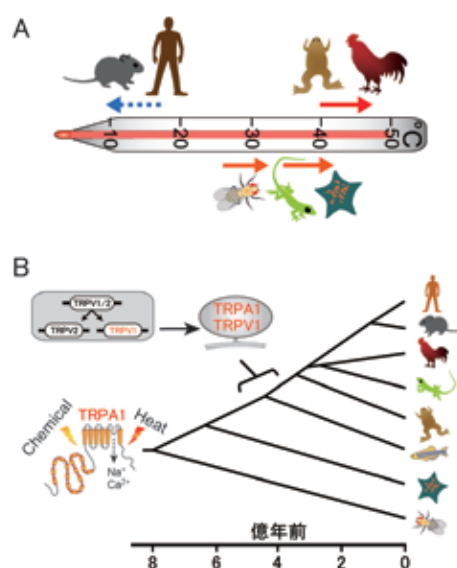


図1 TRPA1の温度感受性と進化過程

(A) 矢印は各種のTRPA1の活性化温度閾値を示す。マウスとヒトの低温感受性については議論があるため点線で示した。(B) TRPA1とTRPV1の進化的な変遷を系統樹上に示した。TRPA1は動物の祖先種において高温および化学物質に対する感受性を有しており、TRPV1はその後に脊椎動物の祖先種で遺伝子重複により新たに生じ、TRPA1と後根神経節細胞で共発現するようになったと考えられる。

動する好温走性を示すことが分かりました (図2-A, B)。意外なことに、26–36℃の温度勾配においても高温側に移動して死に至ることからイトマキヒトデ幼生は生存限界温度を超える高温を忌避しないことが分かりました。次に、TRPA1を単離して機能解析を行ったところ、高温刺激によって活性化されました (図2-C)。更に、TRPA1のノックダウンにより、イトマキヒトデ幼生の好温走性が消失しました (図2-D)。TRPA1は系統的に離れた多くの動物種で忌避応答に関与しており、一般的には環境の危険な刺激から逃避するための役割を担っています。ところが、ヒトデの場合はTRPA1は誘引行動に関与することが私達の研究により示されました。温度センサー分子としての役割は多様な動物種に共有されているのですが、TRPA1はヒトデの系統では他の多くの動物種とは反対の行動応答に利用されるようになったことが明らかになりました。

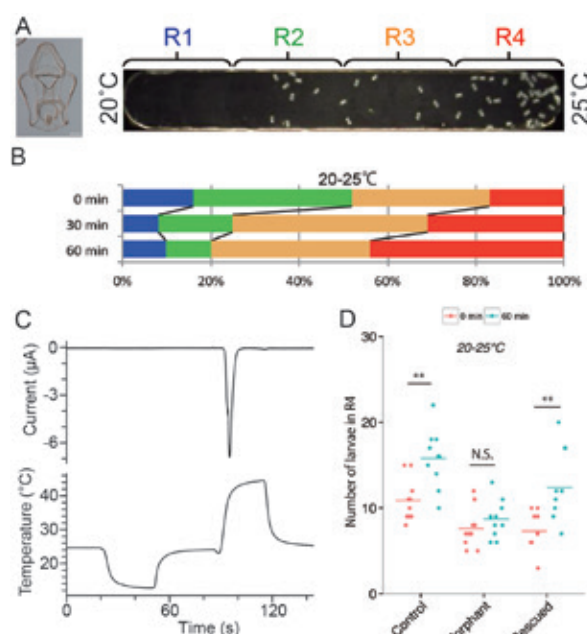


図2 イトマキヒトデ幼生の温度走性におけるTRPA1の役割

(A) 20–25℃の温度勾配を形成したチャンバーにイトマキヒトデのピビンナリア幼生 (左、スケールバーは100 μm) を約50匹入れて遊泳させた。右の図は実験開始から60分後の幼生の分布の一例を示した。(B) チャンバーをR1–R4の区域に分割し、実験開始時、30分後、60分後の各区域の幼生数を割合で示した (R1: 青、R2: 緑、R3: 橙、R4: 赤)。(C) イトマキヒトデのTRPA1をツメガエル卵母細胞に強制発現させ、2電極膜電位固定法によりイオン電流を測定した。低温刺激ではイオン電流は生じなかったが、高温刺激により明瞭な電流応答が観察された。(D) TRPA1をノックダウンした幼生の温度走性行動。各実験における開始時 (赤) と60分後 (青) のR4内の幼生数を点で、それらの平均値を線で示した。アンチセンスモリフォノを用いてイトマキヒトデ幼生のTRPA1をノックダウンすると20–25℃の温度勾配において好温走性が消失した (Morphant)。TRPA1ノックダウン幼生に人工的なイトマキヒトデTRPA1のRNAを導入すると好温走性が回復した (Rescued)。参考文献3から改変引用。

高温センサーの機能進化と温度適応

ある動物種がそれまでとは異なる温度環境に適応する進化過程では、構造タンパク質の熱安定性や酵素タンパク質などの最適温度が変化することにより生体恒常性を維持できる温度域がシフトしていきます。それと同時に、温度受容システ

ムもまた変化していくと考えられます。その様な環境適応と連動した温度感覚の進化的な変化およびその分子基盤の解明にこの数年間取り組んでいます。これまでの比較解析により、ニワトリ、グリーンアノール、ツメガエル、ヒトデのTRPA1の温度感受性が異なることは分かったのですが、これらの種は形態、生態、生理的な特性が大きく異なることから温度センサー分子の機能特性と環境適応との関連性を調べるのには適していません。そこで、私達は近縁な2種のツメガエルを用いた比較解析を行いました。アフリカツメガエルとネッタイツメガエルは幼生だけでなく成体も水中で生活するなど、生態的・生理的な特性が類似しています。両種はアフリカ原産で、ネッタイツメガエルは一般的にアフリカツメガエルよりも暑い地域に生息し、至適温度も前者のほうが高いことが知られています (図3)。

これら2種の高温刺激に対する逃避行動を比較したところ、ネッタイツメガエルはアフリカツメガエルよりも2℃ほど高い温度から逃避行動を示しました。また、感覚神経である後根神経節細胞の活性化温度閾値もネッタイツメガエルは2℃ほど高くなっていました (図3)。そこで、高温センサーとして働くTRPA1およびTRPV1を比較しました。TRPA1の高温刺激に対する活性はネッタイツメガエルのほうがアフリカツメガエルに比べて低く、一方で活性化温度閾値はネッタイツメガエルのほうが2℃ほど高いことが分かりました (図4-A-D)。TRPV1については繰り返しの熱刺激を加えた場合にネッタイツメガエルでは徐々に反応が大きくなるのに対して、アフリカツメガエルでは1回目からほぼ最大の反応を示すことから、後者のほうが熱応答性が高いと考えられます (図4-E)。更に、2種類のTRPV1のキメラチャネルや突然変異体チャネルを用い、アンキリンリピートドメイン2–3の中に位置する3つのアミノ酸置換が熱刺激応答の種間差に関与することを明らかにしました (参考文献8,9)。この様に、高温センサーであるTRPA1とTRPV1を比較したところ、どちらの場合もネッタイツメガエルのほうがアフリカツメガエルに比べて温度応答性が低下しており、これら2種のツメガエルは進化過程で生存に適した温度域が

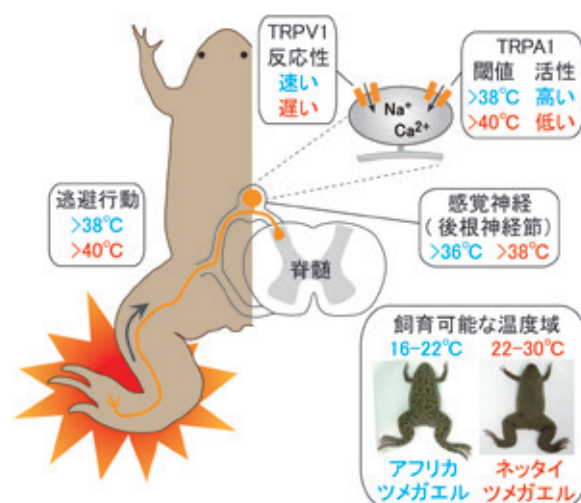


図3 ツメガエル2種間の高温刺激応答の比較

行動、感覚神経、高温センサー (TRPV1とTRPA1) の高温応答特性を2種のツメガエルで比較した。熱刺激を加えた際に逃避 (跳躍) 行動を生じさせる温度、また、後根神経節細胞およびTRPA1の活性化温度閾値をアフリカツメガエルは青で、ネッタイツメガエルは赤で示した。

変化するのに伴い、温度感覚も変化させてきたと推測されます。

また、爬虫類においても生息する環境に応じてTRPA1の機能が変化しているかを検討しました。キューバに分布する近縁な3種のアノールトカゲは同所的に生息していますが、*Anolis allogus*は森林内部に、*Anolis homolechis*は林縁部、*Anolis sagrei*は開けた環境に適応しています。後者の2種は日光浴による体温調節を行います。A. *allogus*は日光に曝される機会があまり多くありません。温度上昇に対する逃避行動を比較すると、A. *allogus*は他の2種に比べてより低い温度を逃避することが分かりました。更に、TRPA1の活性化温度閾値もA. *allogus*は他の2種に比べ低下していました(参考文献10)。

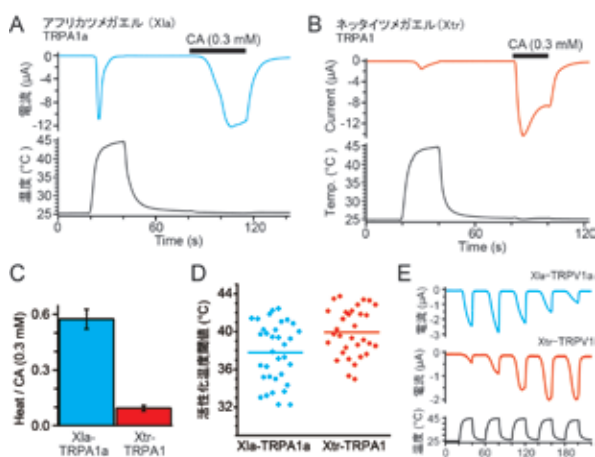


図4 ツメガエルのTRPA1とTRPV1における高温応答特性の種間差。TRPA1またはTRPV1をアフリカツメガエル卵母細胞に強制発現させて、2電極膜電位固定法でイオン電流を測定した。アフリカツメガエル (A, Xla) またはネッタイツメガエル (B, Xtr) のTRPA1の熱刺激およびシンナムアルデヒド (CA) に対する応答。(C) TRPA1の熱刺激に対する活性の比較。熱刺激で生じた電流値をCAによる電流値で標準化した。(D) TRPA1の活性化温度閾値の比較。TRPA1を発現する個々の卵母細胞から得られた値を点で、それらの平均値を線で表示した。(E) TRPV1の繰り返し熱刺激に対する応答性の種間差。参考文献8から改変引用。

今後の展望

感覚神経の末端で取得された温度情報は脊髄を經由して脳に伝達され、複雑な情報処理を経て行動的な応答として出力されます。そのため、温度応答行動の進化的な変化には多くのプロセスが関わり得るのですが、私達の解析により温度受容の初期過程で働く温度センサー分子の機能特性の変化が温度感覚、およびそれに基づいた行動の多様性を生み出し、温度適応に寄与してきたことが分かってきました。しかし、ツメガエルの研究では2種間の比較に留まっており、温度センサー機能の進化的な変遷や、変化を生み出した構造基盤の特定には至っていません。現在、異なる温度ニッチに生息する複数の両生類種を用い、進化的な背景を考慮した比較解析を進めています。また、実験室で観察される温度応答行動と自然条件下における生態的な特徴との関連性も調べることで、分子から生態までをつなげる研究を展開しています。

参考文献

1. Julius D. TRP channels and pain. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 29: 355-384 (2013).
2. Saito S et al. Heat and noxious chemical sensor, chicken TRPA1, as a target of bird repellents and identification of its structural determinants by multispecies functional comparison. *Mol. Biol. Evol.* 31: 708-722 (2014).
3. Saito S et al. Characterization of TRPA channels in the starfish *Patiria pectinifera*: involvement of thermally activated TRPA1 in thermotaxis in marine planktonic larvae. *Sci Rep.* 7: 2173 (2017).
4. Saito S et al. Analysis of transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) in frogs and lizards illuminates both nociceptive heat and chemical sensitivities and coexpression with TRP vanilloid 1 (TRPV1) in ancestral vertebrates. *J. Biol. Chem.* 287: 30743-30754 (2012).
5. Saito S et al. Evolution of thermoTRP ion channel homologs in vertebrates. *Physiol. Genomics* 27: 219-230 (2006).
6. Ohkita M et al. Molecular cloning and functional characterization of *Xenopus tropicalis* frog transient receptor potential vanilloid 1 reveal its functional evolution for heat, acid, and capsaicin sensitivities in terrestrial vertebrates. *J. Biol. Chem.* 287: 2388-2397 (2012).
7. Saito S et al. Functional diversity and evolutionary dynamics of thermoTRP channels. *Cell Calcium* 57: 214-221 (2015).
8. 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).
9. Saito S et al. Evolutionary tuning of TRPA1 and TRPV1 thermal and chemical sensitivity in vertebrates. *Temperature (Austin)* 4: 141-152 (2017).
10. Akashi HD et al. Comparisons of behavioural and TRPA1 heat sensitivities in three sympatric Cuban *Anolis* lizards. *Mol. Ecol.* 27: 2234-2242 (2018).

今後の活動予定

2018年9月24日 (月) 17:00~19:00

第91回 日本生化学会大会 シンポジウム

「モデル生物から理解する感覚受容の新規メカニズム」

オーガナイザー：富永 真琴、曾我部 隆彰

会場：国立京都国際会館 第5会場 (Room E)

2018年11月22日 (木)~23日 (金)

新学術領域研究「温度生物学」第7回 領域会議

会場：大阪大学 豊中キャンパス 南部陽一郎ホール

2018年11月23日 (金)~24日 (土)

新学術領域研究「温度生物学」第5回 若手の会

会場：大阪府池田市

2019年3月29日 (金) FAOPS2019 (神戸) whole-day symposium

「Thermal Biology: a New World of Life Science」

オーガナイザー：富永 真琴、中村 和弘、土居 雅夫

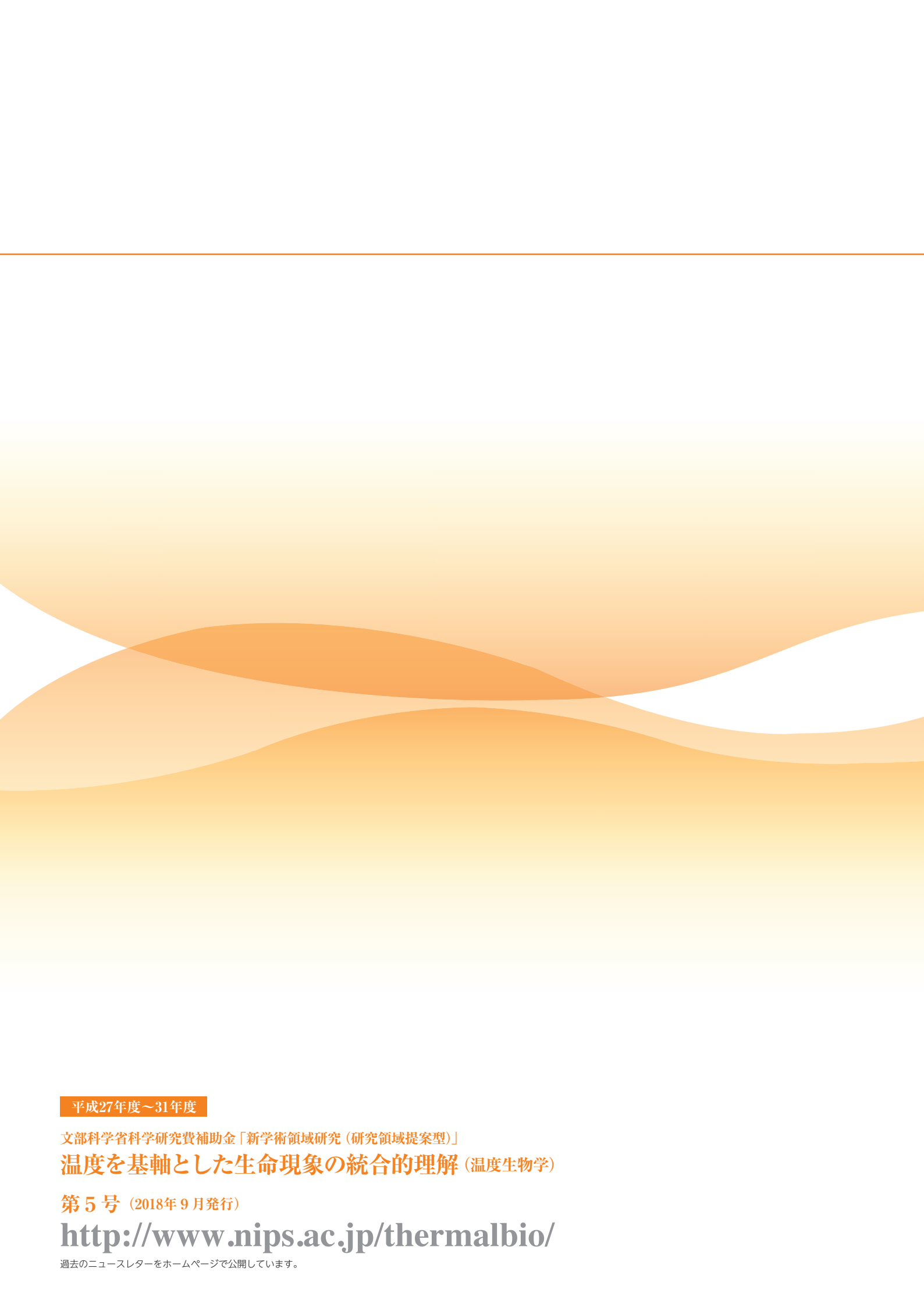
会場：神戸国際会議場

編集後記

京都大学大学院工学研究科 合成・生物化学専攻
原 雄二

温度生物学の領域が立ち上がってから、はや3年が経ちました。今年度からは第2期の公募班の先生方が参画され、6月には領域会議が開催されました。分子レベルから細胞そして動植物における高次レベルでの温度感知まで、幅広い観点から温度生物学について活発に討論されるのを拝見して、温度生物学の重要性、奥深さを改めて感じました。今夏は日本各地で猛暑となりました。熱中症の話題が毎日のように報道されましたが、人体の温度適応やその機構の破綻にともなう疾患や症状について、社会的なニーズとしても非常に注目される重要な研究領域となりつつあるのではないかと思います。温度生物学ニュースレターも、今後少しでも社会へのアウトリーチ活動の一環としてもお役に立てれば幸いです。

最後にご多忙の中にも関わらず、ご執筆いただきました班員の先生方、表紙デザイン画をご提供いただいた中洲幸氏、紙面構成にご尽力いただいた梅田研究室山口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5号（2018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。