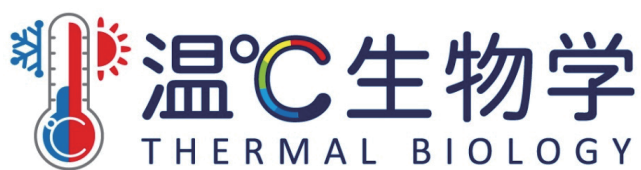


温度生物学ハンドブック



温度生物学ハンドブック 目次

分子・細胞レベルでの温度生物学	1
1-1 温度感受性 TRP チャンネル(概論)	2
Thermosensitive Transient Receptor Potential channel	
1-2 TRPV1	3
Transient Receptor Potential Vanilloid 1	
1-3 TRPV2	4
Transient Receptor Potential Vanilloid 2	
1-4 TRPV3	5
Transient Receptor Potential Vanilloid 3	
1-5 TRPV4	6
Transient Receptor Potential Vanilloid 4	
1-6 TRPM2	7
Transient Receptor Potential Melastatin 2	
1-7 TRPM3	8
Transient Receptor Potential Melastatin 3	
1-8 TRPM4, M5	9
Transient Receptor Potential Melastatin 4, 5	
1-9 TRPM8	10
Transient Receptor Potential Melastatin 8	
1-10 TRPA1	11
Transient Receptor Potential Ankyrin 1	
1-11 膜相分離	12
Membrane phase-separation	
1-12 熱ショックタンパク質(概論)	13
Heat Shock Protein (HSP)	
1-13 熱ショックタンパク質 Hikeshi	14
Heat Shock Protein (Hikeshi)	
1-14 脂肪酸不飽和化酵素	15
Fatty acid desaturase	
1-15 温度感受性を示す電位依存性プロトンチャンネル	16
Thermosensitive properties of the voltage-gated H ⁺ channel	
1-16 タンパク質の膜挿入反応と温度依存性	17
Membrane protein insertion and its temperature dependency	
1-17 低温ショック蛋白質	18
Cold Shock Protein (CSP)	
1-18 PGC-1 α	19
PGC1- α	

1-19	内因性脂質による TRP チャンネルの制御 TRP channel regulation by endogenous lipids	20
1-20	ミトコンドリアオートファジー(マイトファジー) Mitophagy	22
1-21	Sarcolipin Sarcolipin	24
1-22	プロリン異性化酵素 Pin1 Prolyl isomerase Pin1	25
1-23	脱共役タンパク質 Uncoupling protein	26
組織・個体レベルでの温度生物学		27
2-1	自律性体温調節 Autonomous thermoregulation	28
2-2	発熱 Fever	29
2-3	行動性体温調節 Behavioral thermoregulation	30
2-4	条件づけ場所嗜好性試験 Conditioned place preference (aversion) test	31
2-5	即時型場所嗜好性試験 Real-time place preference (aversion) test	32
2-6	線虫における温度感知機構 Thermosensory mechanism of <i>C. elegans</i>	33
2-7	概日時計による体温の制御 Body temperature control by the circadian clock	34
2-8	褐色脂肪組織 Brown Adipose Tissue (BAT)	35
2-9	ベージュ脂肪細胞 Beige adipocyte	36
2-10	摂食と体温調節 Food intake and thermal regulation	37
2-11	インフラマソーム Inflammasome	38
2-12	マクロファージ Macrophage	39
2-13	アストロサイトによる体温調節 Thermoregulation by astrocyte	40
2-14	一次体性感覚野 Primary somatosensory cortex	41

2-15	温度と痛み・しびれの関係	42
	Temperature and pain/dysesthesia	
2-16	皮膚での温度感知機構	43
	Skin thermal sensation	
2-17	胚発生と温度依存性	44
	Temperature dependency of embryogenesis	
2-18	冬眠と休眠	45
	Hibernation and daily torpor	
2-19	精子形成における温度依存性	46
	Temperature-dependent spermatogenesis	
2-20	鳥類における精巢の温度感受性	47
	Thermal sensitivity of spermatogenesis in avian	
2-21	昆虫の休眠と温度	48
	Insect diapause & temperature	
温度生物学に関わる研究手法		49
3-1	蛍光性分子温度計	50
	Fluorescent molecular thermometer	
3-2	蛍光寿命イメージング顕微鏡を用いた細胞内温度イメージング	51
	Intracellular temperature imaging using fluorescence lifetime imaging microscopy	
3-3	蛍光性ポリマー温度センサー	52
	Fluorescent polymeric thermometer	
3-4	遺伝的導入が可能な蛍光性温度センサー	53
	Genetically encoded fluorescent thermometers	
3-5	臓器局所での温度計測・温度操作	54
	Development of new devices for local temperature monitoring and control	
3-6	微細加工技術による高感度熱センサーの開発	55
	Highly sensitive thermal sensor using microfabrication techniques	
3-7	レーザー照射による細胞内局所加熱	56
	Heating of local area in living cells using laser irradiation	
3-8	磁性ナノ粒子による細胞内局所加熱法	57
	Intracellular heating of living cells using magnetic nanoparticles	
3-9	Ca ²⁺ プローブ	58
	Ca ²⁺ probes	
3-10	人工脂質二重膜	59
	Artificial bilayer membrane	
※ 新規追加		
2-22	温度による概日時計の制御	追1
	Thermal controls over the circadian clock	

分子・細胞レベルでの温度生物学

温度感受性 TRP チャンネル

(Thermosensitive Transient Receptor Potential channel)

富永 真琴¹、内田 邦敏²

(¹岡崎統合バイオサイエンスセンター、²福岡歯科大学 口腔歯学部)

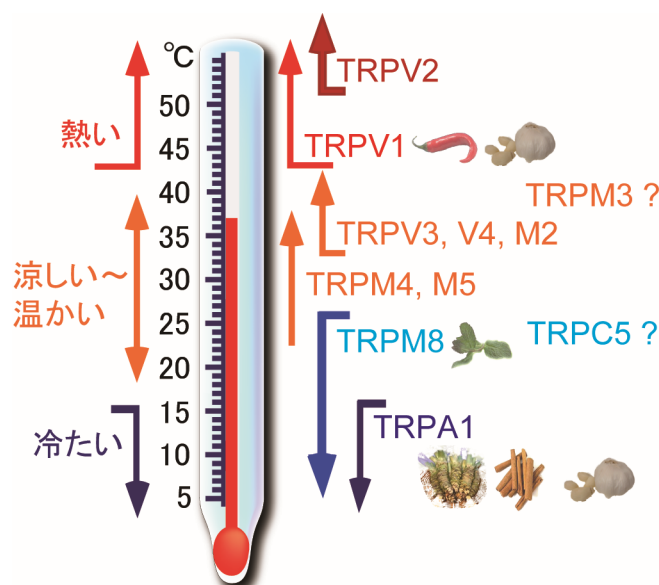
trp (transient receptor potential) 遺伝子は、1989 年にショウジョウバエの光受容応答の異常を示す変異体の原因遺伝子として同定され、*trp* 遺伝子がコードするタンパク質はイオンチャンネル活性を有することが後に報告された。TRP チャンネルは、内因性物質、化学物質のみならず機械刺激などの物理刺激によっても活性化される非選択的陽イオンイオンチャンネルである。1997 年に TRPV1 が 43°C 以上の熱によって活性化される温度センサーであることが報告された。それ以降、様々な温度を感知する TRP チャンネルが次々と報告され、現在では 11 の TRP チャンネルに温度感受性があると考えられている。これらのチャンネルを総称して温度感受性 TRP チャンネルと呼び、低温から高温まで生理的に感じる温度域をほぼ網羅している(図 1)。

温度感受性 TRP チャンネルの多くは感覚神経や皮膚に発現し、環境温度の感知に関わると考えられている。また、温度感受性 TRP チャンネルは大きな温度変化に暴露されない組織にも発現しており、その生理的役割が注目されている。一方、温度感受性 TRP チャンネルが温度によって活性化されるメカニズムの解明が精力的に行われているものの未だ明らかにされておらず、本領域研究の大きなテーマの一つである。

参考文献:

- ・Caterina MJ et al. *Nature* 389: 816-827 (1997)
- ・富永真琴 *医学のあゆみ* 245: 831-837 (2013)

図 1 温度感受性 TRP チャンネル



TRPV1 (Transient Receptor Potential Vanilloid 1)

曾我部 隆彰

(岡崎統合バイオサイエンスセンター)

温度感受性 TRP チャンネルの中で最初にクローニング・機能同定された、TRPV サブファミリーに属する Ca^{2+} 透過性の非選択性カチオンチャンネルである。別名は VR1 (Vanilloid receptor 1)。1997 年に David Julius 博士、領域代表の富永らのグループによって後根神経節 (DRG: Dorsal Root Ganglion) に発現する cDNA ライブラリーから機能的スクリーニングにより発見された。

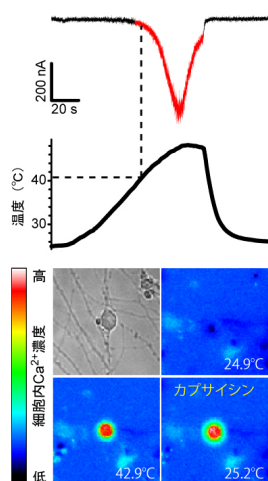
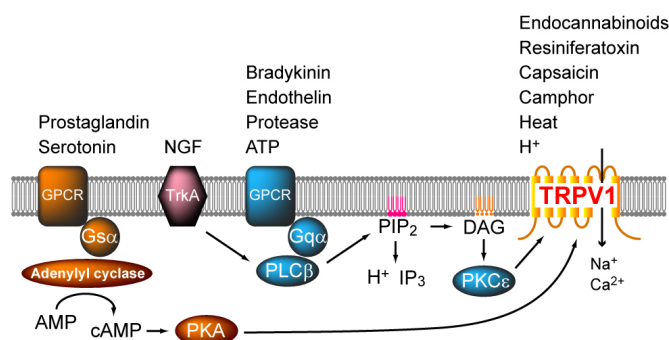
生理的に侵害刺激とされる摂氏 43°C 以上の温度によって活性化し、個体での高温受容に寄与する。温度だけでなく、トウガラシの辛味成分であるカプサイシン (Capsaicin) や酸刺激 (プロトン) によっても活性化することが報告され、これら複数の刺激間で相乗作用がある。内因性カンナビノイドやアラキドン酸カスケードの代謝物、TRPV3 リガンドでもある樟腦 (カンファー) や天然植物成分レシニフェラトキシンによっても活性化する。

一次求心性神経 (感覚神経) の中でも主に C 繊維と呼ばれる小径の侵害刺激受容ニューロンの神経末端に発現し、活性化にともなう痛みや灼熱感を惹起する。炎症部位で産生される複数の炎症系メディエーター (Prostaglandin や Bradykinin など) が GPCR 受容体に結合すると、下流の PLC や PKC、PKAなどを介した PIP_2 加水分解やリン酸化によって TRPV1 が体温レベルで活性化するようになり、痛覚過敏 (Hyperalgesia) や異痛症 (Allodynia) の発症原因の一つとなる。このような末梢での侵害刺激受容に加え、様々な消化器・内臓機能および疾患、体液浸透圧や体温調節にも関わるということが報告されている。

特定の温度による開ロメカニズムは不明であるが、近年、Julius 博士らによってクライオ電子顕微鏡を用いた 3 次元構造が明らかとなり、温度活性化の構造基盤解明が期待されている。

参考文献:

- Caterina MJ et al. *Nature* 389: 816-827 (1997)
- Liao M et al. *Nature* 504: 107-112 (2013)
- Basso L et al. *Curr. Opin. Pharmacol.* 32: 9-15 (2017) (review)

熱活性化電流と Ca^{2+} 応答

TRPV1 のリガンドと感作メカニズム

TRPV2 (Transient Receptor Potential Vanilloid 2)

柴崎 貢志

(群馬大学大学院 医学系研究科)

TRPV2はTRPV1に高い相同性を持つ分子として1999年にクローニングされた。TRPV1とは異なり、後根神経節(DRG)において、 $A\delta$ あるいは $A\beta$ 線維を有する中型から大型の有髄神経に局限して発現する。また、 52°C 以上の侵害熱刺激により活性化する。現在までに同定されている温度センサーチャネル分子群において、最も高温で活性化することが大きな特徴であろう。DRG 感覚神経においては、胎生初期にその発現が開始し、この時期にはメカノセンサーとして、伸長中の軸索にかかる膜伸展刺激をリガンドとして活性化し、神経回路形成を促進する。また、腸管神経節においては、抑制性運動神経に発現しており、TRPV2が腸管の動きをメカノセンサーとしてキャッチすることにより、一酸化窒素(Nitric oxide; NO)放出が起り、腸管蠕動運動を制御する要分子として機能している。

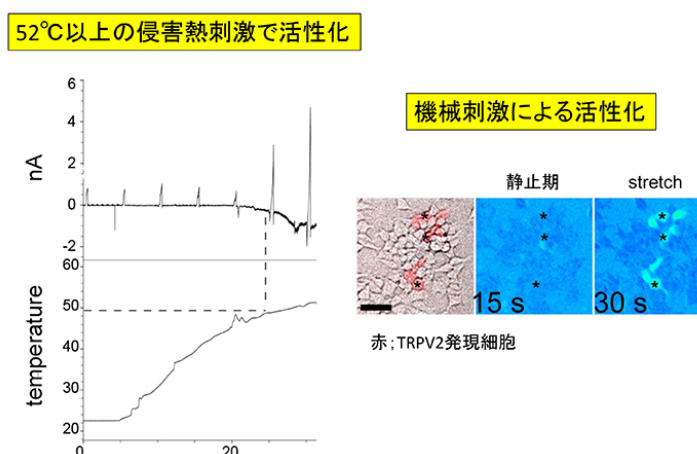
神経系以外にも非常に多くの組織・細胞に発現しており、この点からも様々な生理現象に関与するマルチモーダルセンサーであると考えられる。実際、膵臓 β 細胞からのインスリン分泌調節や血管内皮細胞や平滑筋細胞の swelling に関与することが報告されている。また、褐色脂肪細胞ではTRPV2が熱産生や細胞分化を制御することも見いだされた。今後も様々な生理機能が発見されるに違いない。

52°C 以上という超高温の侵害熱刺激が、どのように TRPV2 分子の開口を惹起するのは未だ不明であり、その解明が待たれる。

参考文献:

- Caterina MJ et al. *Nature* 398: 436-441 (1999)
- Shibasaki K et al. *J. Neurosci.* 30: 4601-12 (2010)
- Mihara H et al. *J. Neurosci.* 30: 16536-44 (2010)
- Sun W et al. *EMBO Rep.* 17: 383-399 (2016)
- Shibasaki K et al. *J. Physiol. Sci.* 66: 359-365 (2016)

図1 熱・機械刺激による
TRPV2 活性化



TRPV3 (Transient Receptor Potential Vanilloid 3)

鈴木 喜郎

(岡崎統合バイオサイエンスセンター)

TRPV3 は TRPV1 との配列の類似性から同定された TRPV サブファミリーの一員であり、表皮や毛胞、口腔上皮のバリア機能に重要な角化細胞(ケラチノサイト)に多く発現する Ca^{2+} 透過性の非選択性陽イオンチャネルである。TRPV3 は暖かい温度(33-35°C)で活性化することや、温感をもたらすハーブの成分によっても活性化することから、体性感覚における温感の受容と伝達に何らかのメカニズムで関与することが示唆されたが、感覚神経における発現があまり認められないことや、ノックアウトマウスを用いた解析での否定的な結果などから、感覚神経における温受容体の分子実体としての証拠は不十分である。

近年、TRPV3 は手足および開口部周辺の角質の異常増殖(角皮症)、脱毛、激しいかゆみや痛みを伴う Olmsted 症候群の原因遺伝子であることが明らかになった。脱毛は TRPV3 が常時活性化した自然発症マウス(Ds-Nh マウス)やラット(WBN/Kob-Ht ラット)においても認められることから、毛胞ケラチノサイト TRPV3 の過剰活性化により細胞死が誘導され正常な発毛が妨げられていることが示唆されている。TRPV3 は表皮バリア機能維持を行っているケラチノサイトの増殖や分化、細胞死の制御に重要な役割を果たしていると考えられる。

参考文献:

- Peier AM et al. *Science* 296: 2046-2049 (2002)
- Cheng X et al. *Cell* 141: 331-343 (2010)
- Lin Z et al. *Am. J. Hum. Genet.* 90: 558-564 (2012)

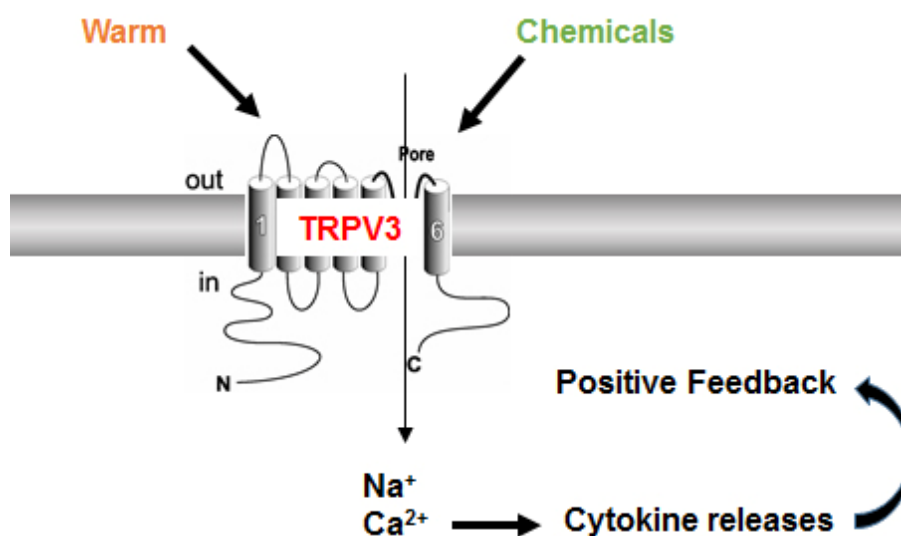


図1 ケラチノサイト TRPV3 の活性化と情報伝達系

TRPV4 (Transient Receptor Potential Vanilloid 4)

杉尾 翔太、柴崎 貢志

(群馬大学大学院 医学系研究科)

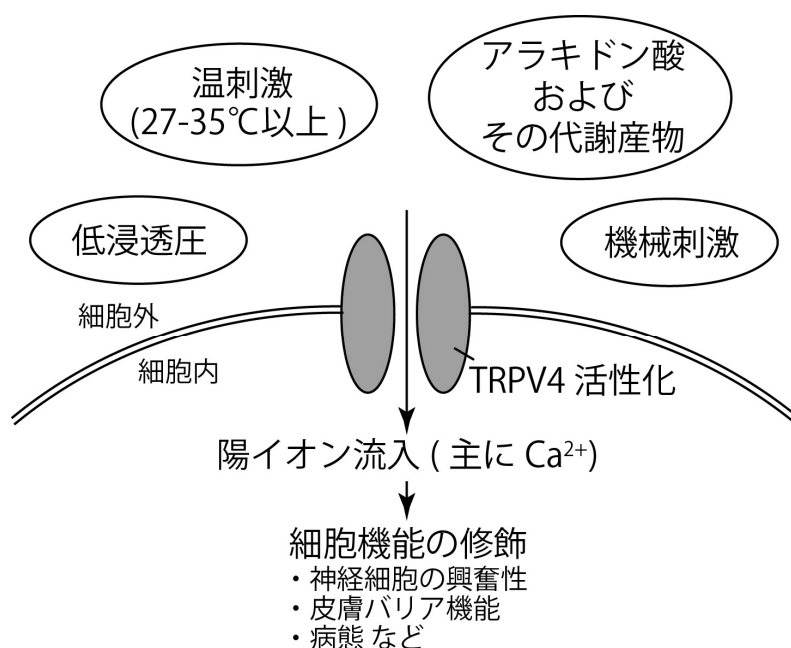
TRPV4は、2000年にLiedtke らのグループとStrotmann らのグループによってほぼ同時期に浸透圧センサーとして機能同定された非選択性陽イオンチャネルである。TRPV1 と高い相同性を示す。その後の解析から、TRPV4 は低浸透圧刺激のみならず、アラキドン酸やその代謝産物、エンドカンナビノイド、機械刺激といった刺激によっても活性化される多刺激受容体であることが明らかになった。また、温刺激 (27~35℃以上) によっても活性化することから、現在では温度感受性 TRP チャネルの一つに数えられている。

我々は、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明らかにしている。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。また、皮膚バリア機能は TRPV4 が恒常的に皮膚温により活性化することで維持されることも明らかになっており、体温センサーとしての TRPV4 の生理学的意義は大変大きい。TRPV4 は神経系・腎臓・皮膚・血管・肺・膀胱といった多くの臓器に発現しており、浸透圧変化・温度変化・血流によって生じる shear stress・臓器の容積変化といった身体に負荷される様々な物理化学的刺激を感じ細胞に伝達するセンサー分子としても機能すると考えられている。また、先天的 TRPV4 点変異異常がシャルコーマリートゥース病、脊髄性筋萎縮症の原因と成っている点は非常に興味深い。

参考文献:

- Liedtke W et al. *Cell* 103: 525-535 (2000)
- Shibasaki K et al. *J. Neurosci.* 27: 1566-1575 (2007)
- Shibasaki K. *J. Anesth.* 30: 1014-1019 (2016)

図 TRPV4 チャネルの
活性化機構と生理機能



TRPM2 (Transient Receptor Potential Melastatin 2)

内田 邦敏

(福岡歯科大学 口腔歯学部)

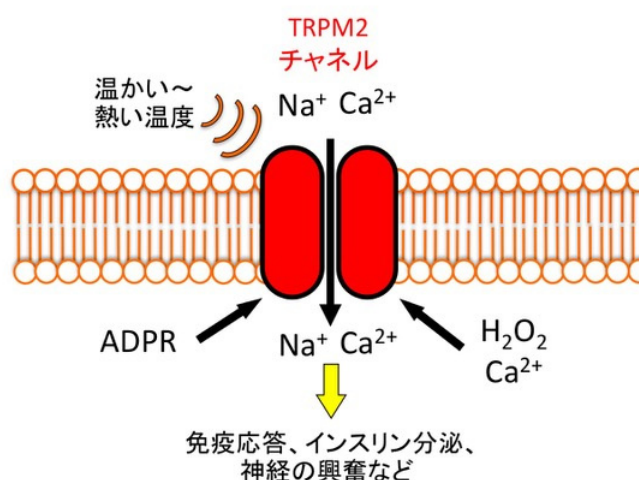
TRPM2 チャンネルは、 Ca^{2+} 透過性を持った非選択的陽イオンチャンネルであり、adenosine diphosphate ribose (ADPR) や cyclic adenosine diphosphate ribose (cADPR) などの pyridine dinucleotides、レドックスシグナル、細胞内 Ca^{2+} などで活性化される。主に中枢神経、免疫細胞、脾臓、肝臓、膵臓などに発現している。活性刺激から TRPM2 チャンネルが活性化されると、細胞が Ca^{2+} 過負荷となり細胞死に至ると考えられていたが、細胞死以外の役割がいくつか報告されている。例えば、ミクログリアを含む免疫細胞においてはケモカインやサイトカインの産生や遊離、食食に参与しており、また、膵臓においてはインスリン分泌に参与している。

領域代表の富永らのグループによって TRPM2 チャンネルが温かい温度で活性化することが明らかにされた。温度依存的な TRPM2 チャンネル活性は過酸化水素によって強く増強され、TRPM2 チャンネルの活性化温度閾値(約 47°C)を体温域まで低下させる。温度依存的な活性化の生理的意義について、近年いくつかの報告がなされている。感染が起こると体温は上昇するが、この上昇によってマクロファージに発現する TRPM2 チャンネルの活性が上昇して免疫機能が增強される。マウス視床下部視索前野の神経細胞の一部に脳内温度を感知すると考えられている warm-sensitive neuron が存在するが、これら神経は TRPM2 チャンネルを介して脳内温度を感知していることを示唆する報告がなされている。また、末梢感覚神経に発現する TRPM2 チャンネルが外界の温かい温度の受容に参与しているという報告もあり、今後のさらなる研究が期待される。

参考文献:

- Faouzi M & Penner R. *Handb. Exp. Pharmacol.* 222: 403-426 (2014)
- Kashio M & Tominaga M. *Channels (Austin)* 20: 1-8 (2017)

図1 TRPM2 チャンネルの
活性化機構および生理機能



TRPM3 (Transient Receptor Potential Melastatin 3)

内田 邦敏

(福岡歯科大学 口腔歯学部)

TRPM3 チャンネルは、 Ca^{2+} 透過性を持った非選択的陽イオンチャンネルであり、ストア作動性陽イオンチャンネルとしてクローニングされた。神経ステロイドである硫酸プレグネノロン、ニフェジピン（電位作動性 Ca^{2+} チャンネル阻害剤）、クロトリマゾール（抗真菌剤）等の薬剤によって活性化される。TRPM3 チャンネルは中枢、末梢神経、腎臓、脾臓などに発現している。感覚神経では TRPM3 チャンネルは TRPV1、TRPA1 チャンネルとは異なる神経に発現しており、TRPV1 チャンネルよりも低い温度域の侵害熱刺激受容、炎症性疼痛における熱痛覚過敏に関与することが明らかになっている。また、ミエリン形成や視覚への関与も示唆されている。

TRPM3 チャンネルは、少なくとも HEK293 細胞などを用いた解析では TRPV1 チャンネルや TRPM8 チャンネルのような明確な温度閾値を持たないようである。精製タンパク質、人工脂質、電解質、水のみで構成される人工再構成系においては、精製した TRPM3 タンパク質の温度依存的な活性化がほとんどみられないことから、TRPM3 チャンネル分子自体が温度を感じているかは不明である。

参考文献:

- Oberwinkler J and Philipp SE. *Handb. Exp. Pharmacol.* 222: 427-459 (2014)
- Held K et al. *Temperature (Austin)* 2: 201-213 (2015)
- Uchida K et al. *FASEB J.* 30: 1306-1316 (2016)

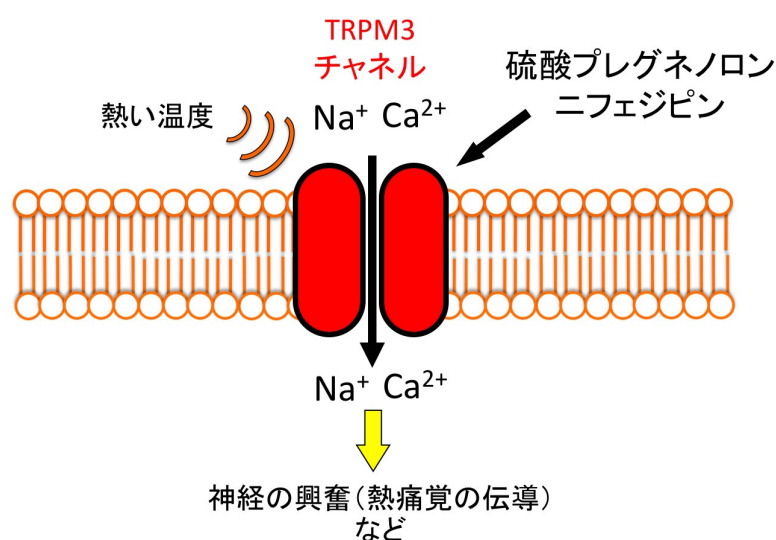


図 TRPM3 チャンネルの活性化機構と細胞機能

TRPM4, TRPM5 (Transient Receptor Potential Melastatin 4, 5)

内田 邦敏

(福岡歯科大学 口腔歯学部)

TRPM4 並びに TRPM5 チャンネルは1価の陽イオンを選択的に透過するイオンチャンネルであり、細胞内 Ca^{2+} によって活性化されるが、 Ca^{2+} に対する感受性は TRPM5 チャンネルの方が高い。細胞内 Ca^{2+} 以外に有効な活性化剤は見出されていない。

TRPM4 チャンネルはほぼ全ての組織に発現している。TRPM4 欠損マウスの解析から、細菌感染後の炎症性単球の増加やサイトカイン産生、心房筋の活動電位の調節や血管平滑筋の脱分極、並びに軸索の変性に関与することが報告されている。その他にも中枢神経に発現している。TRPM4 チャンネルは膜の興奮性を調節している可能性やインスリン分泌に関与する可能性が示唆されているが、TRPM4 チャンネルの生理的役割は未だ十分には明らかにされていない。

一方、TRPM5 チャンネルの発現部位は限局しており、味細胞、膵臓、嗅神経などに発現がみられる。TRPM5 チャンネルは、味細胞の中でも甘味・旨味・苦味を受容するII型細胞に発現しており、特に甘味受容体の下流のシグナル伝達に関与することが明らかになっている(図1)。膵臓の β 細胞に発現する TRPM5 チャンネルは、インスリン分泌に関与している。また、フェロモン受容に関与していることが報告されている。

TRPM4、TRPM5 チャンネルともに、細胞内 Ca^{2+} 存在下において温度が上昇するとその活性は大きく増強される。しかし、この温度依存的な活性化の生理的意義は、熱刺激によるマウスの甘味応答増強に TRPM5 の活性化が関係している可能性以外、ほとんど明らかになっていない。これらチャンネルの温度依存的活性化に関する電気生理学的解析の報告も少なく、さらなる研究が期待される。

参考文献:

・Guinamard R et al.

Adv. Exp. Med. Biol.

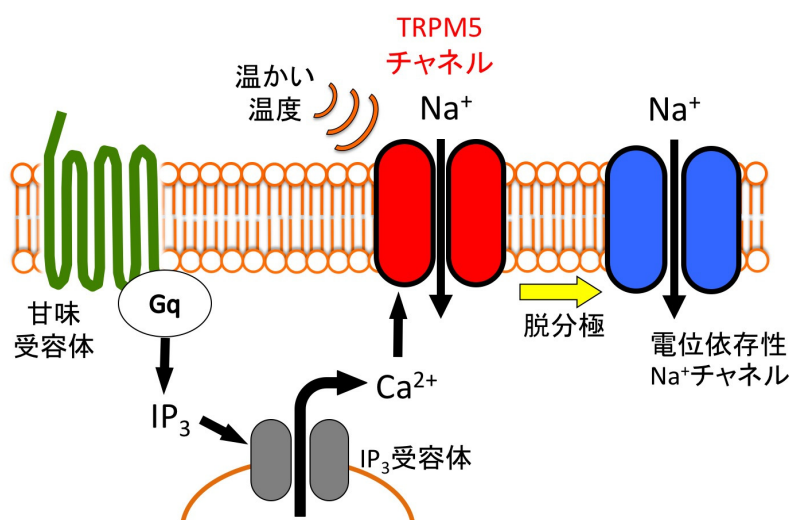
704: 147-171 (2011)

・Taruno A et al.

Nature 495: 223-226

(2013)

図 TRPM5 チャンネルの活性化機構および機能



TRPM8 (Transient Receptor Potential Melastatin 8)

鈴木 喜郎

(岡崎統合バイオサイエンスセンター)

TRPM8 はハッカ油の主成分であるメントールの受容体として同定された TRPM サブファミリーに属する Ca^{2+} 透過性の非選択性陽イオンチャネルである。TRPM8 はメントールやイシリンなどの冷感を惹起させる化合物の他に、非侵害性の冷刺激 ($23\text{-}26^{\circ}\text{C}$ 以下) によって活性化し、一部の感覚神経に発現していることから、体性感覚における冷受容体として機能していると考えられている。つまり TRPV1/TRPA1 とは異なる一次感覚神経において発現し、皮膚などからの冷刺激情報を感知し中枢へ伝達する役割を担っている。メントールなどの化合物存在下では活性化温度閾値が上昇することによってより常温に近い温度で開くようになる。ノックアウトマウスを用いた解析によって、TRPM8 は個体の温度嗜好性というよりはむしろ不快な冷刺激を避けるための忌避行動の惹起に関与することが示唆されている。TRPM8 のカバーする温度領域が他の TRP チャネルと比べて広いため、未同定の冷受容体の存在や、TASK-3 などの共役因子、ホスファチジルイノシトールニリン酸 (PIP_2) などの補因子による複数の活性化制御メカニズムが提唱されている。

参考文献:

- McKemy DD et al. *Nature* 416: 52-58 (2002)
- Bautista DM et al. *Nature* 448: 204-208 (2007)
- Dhaka A et al. *Neuron* 54: 371-378 (2007)

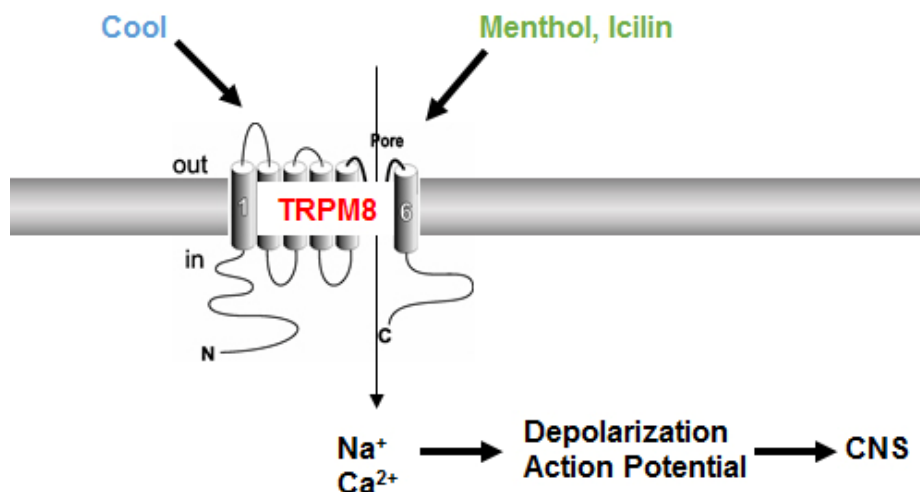


図 TRPM8 活性化と情報伝達系

TRPA1 (Transient Receptor Potential Ankyrin 1)

齋藤 茂

(岡崎統合バイオサイエンスセンター)

TRPA1 は主に感覚神経に発現し、刺激性の化学物質や侵害性の温度刺激を受容するセンサー分子である。マウスやヒトの TRPA1 は低温により、また、ワサビの辛み成分(アリルイソチオシアネート)によっても活性化されることが報告されている。他にも TRPA1 はシナモンに含まれる辛み成分、タバコや排気ガスに含まれる成分など様々な化学物質によっても活性化される特性を持っており、痛みとして知覚される刺激の受容に関わっている。TRPA1 の詳細な立体構造も解明されており、活性化や抑制の分子メカニズムも明らかになりつつある。

TRPA1 は脊椎動物だけでなく、無脊椎動物である昆虫なども持っており、動物の進化過程の初期に獲得された起源の古い遺伝子である。ほとんどの動物種の TRPA1 はアリルイソチオシアネートなどの化学物質の感受性を保持している。一方で、哺乳類以外の複数の脊椎動物種や昆虫の TRPA1 は暖かい温度または高温により活性化され、温度感受性が動物種間で異なることが知られている。

(補足1) TRPA1 は最初にマウスで機能解析が行われ、低温感受性のチャネルであると2003年に報告された。しかし、その後、マウスやヒトの TRPA1 の温度感受性の有無について相反する研究成果が複数報告されており、研究者の間でも意見が分かれている。一方で、TRPA1 の化学物質に対する感受性については多くの研究によって支持されている。

参考文献:

- Nilius B et al. *Pflügers Arch.* 464: 425-458 (2012)
- Saito S & Tominaga M. *Cell Calcium* 57: 214-221 (2015)

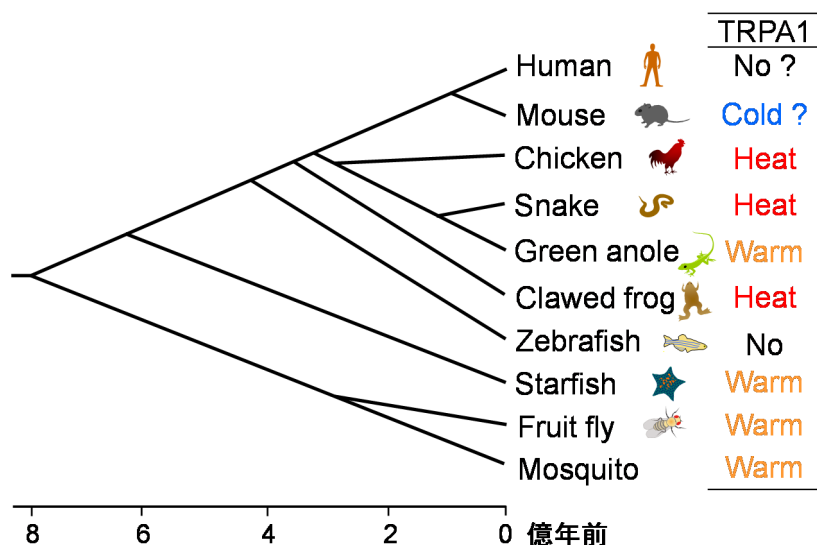


図1 TRPA1 の温度感受性の種間多様性

膜相分離 (Membrane phase-separation)

下川 直史、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)

【相分離とは？】 リン脂質から成る脂質二重膜は細胞膜・生体膜の基本構造である。構成成分であるリン脂質は膜内を流動的に動き回っているが、温度・構成成分比などの特定条件下においてすべての成分が均一に混ざりあわずに、ドメインと言われる構造を形成することがある。これは水と油が混ざり合わないことと同様の物理現象であり、相分離と呼ばれている。相分離とは同種脂質間の引力と混合によるエントロピーの競合から記述される物理現象である。一般に高温では混合のエントロピーが支配的となり構成成分は混ざり合うが、低温では同種脂質間引力が支配的となり、相分離構造が形成される。

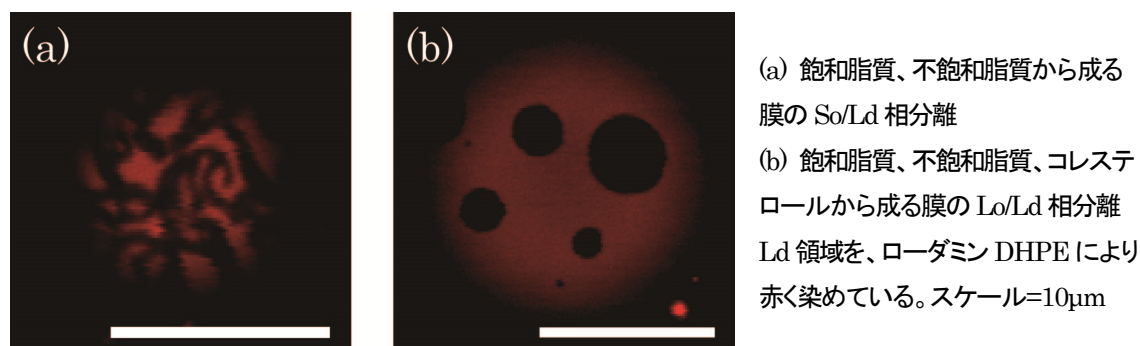
【相分離の種類】 数種類のリン脂質などから成る脂質二重膜における相分離には大きく2つのパターンが存在する。飽和脂質と不飽和脂質から成る脂質二重膜では飽和脂質に富む固体秩序 (Solid-ordered, S_o) 相と不飽和脂質に富む液体無秩序 (Liquid-disordered, L_d) 相とに相分離する。 S_o 相が形成するドメインは形状が異方的で、ドメインがブラウン運動し衝突しても融合しないという特徴がある。飽和脂質/不飽和脂質の系にコレステロールを加えた三成分系では、飽和脂質とコレステロールに富む液体秩序 (Liquid-ordered, L_o) 相と不飽和脂質に富む L_d 相との相分離が観察される。 L_o 相や L_d 相が形成するドメインは液体であるが故に、形状はドメイン界面張力により円形となり、ブラウン運動などにより2つのドメインが衝突すると1つの大きなドメインへと成長する。

【相分離の生理学的意義】 生体膜においても、膜中にコレステロールや糖脂質を多く含むナノサイズの相分離ドメイン(ラフト)が存在し、受容体や脂質アンカー型シグナル伝達分子が濃縮されシグナル伝達のプラットフォームを形成しているというラフト仮説がある。 L_o ドメインは飽和脂質とコレステロールから成るため、ラフトドメインのモデル系として注目され研究が進められてきている。

参考文献:

- ・下川直史、高木昌宏 *生物工学会誌* 94: 746-768 (2016)
- ・Elson EL et al. *Annu. Rev. Biophys.* 39: 207-226 (2010)
- ・Simons K & Ikonen E. *Nature* 387: 569-572 (1997)

図1 リボソームにおける相分離



熱ショックタンパク質 (Heat Shock Protein; HSP)

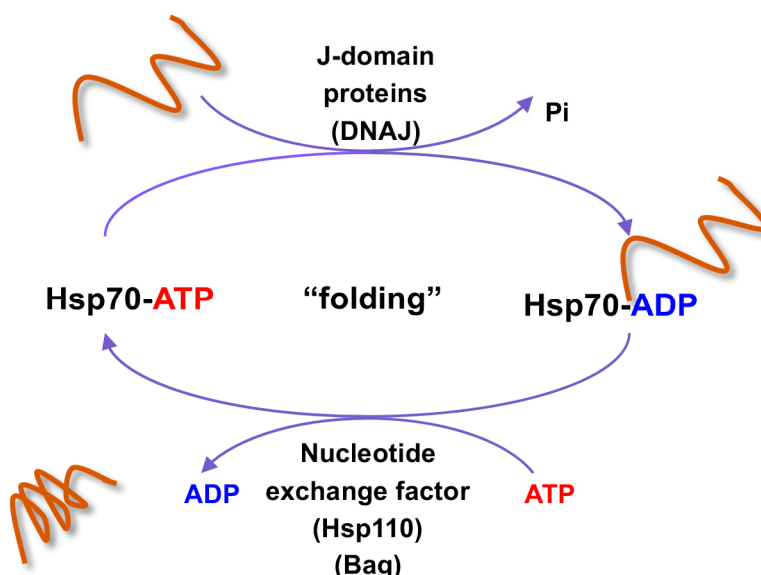
今本 尚子
(理化学研究所)

生物が、通常の生育温度より 5～20℃高い温度に曝された時におこる細胞応答を熱ショック応答といい、それに伴って発現誘導される一群のタンパク質を熱ショックタンパク質(heat shock protein; HSP)という。熱ショック応答は、異常なタンパク質の蓄積を感知して、タンパク質の恒常性を維持するために細胞が備えている反応機構で、細菌からヒトに至るまで進化的に保存されている。熱ショックタンパク質には、ストレスダメージから細胞を保護する働きがあり、タンパク質の正しい折りたたみ(フォールディング)と機能獲得を介助する分子シャペロンとして機能する。分子量によって、small HSPs、HSP40、HSP60、HSP70、HSP90、HSP100 などと名付けられている。それぞれに、細胞質/細胞核、ミトコンドリア、葉緑体、小胞体などに局在するものがある。細菌感染や炎症、エタノール、活性酸素、重金属、紫外線、飢餓、低酸素状態など細胞に対する様々なストレスにより誘導されることが知られており、ストレスタンパク質とも呼ばれている。代表的な熱ショックタンパク質である Hsp70 ファミリーは、コシャペロン(DNAJ、Hsp110、Bag など)の働きで、ATP 型と ADP 型に変換することで、変性タンパク質を正しい立体構造に折りたたむ機能を持つ。

参考文献:

- Richter K et al. *Mol. Cell* 40: 253-266 (2010)
- Hartle FU et al. *Nature* 475: 324-332 (2011)

図1 熱ショックタンパク質 Hsp70 のシャペロンサイクル



熱ショックタンパク質 (Hikeshi)

小瀬 真吾
(理化学研究所)

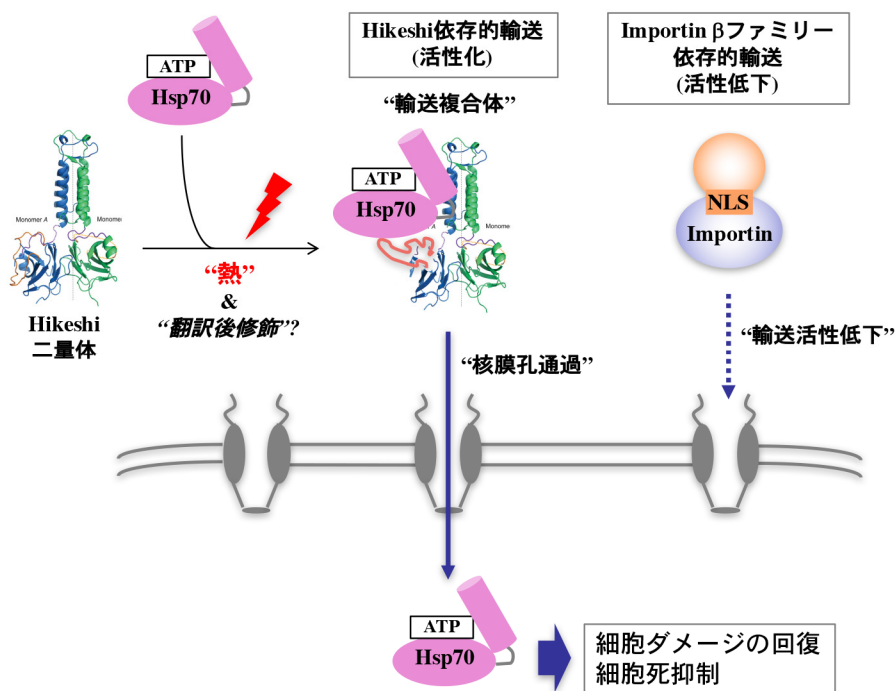
代表的分子シャペロンである Hsc70/Hsp70 (HSPA8, HSPA1) は、正常時には細胞質に局在するが、熱などのストレスに細胞が曝されると速やかに核に集積する。Hikeshi (火消し) は、熱ストレス時に ATP 型 Hsc70/Hsp70 を核に運搬する分子として同定された。この輸送経路は、熱ストレスによる細胞ダメージからの回復に重要である。Hikeshi 遺伝子は真核生物において非常によく保存されているが、一般的な核-細胞質間運搬体分子である Importin β ファミリー分子とのアミノ酸相同性は見られない。

Hikeshi 依存的輸送が熱ストレス時に活性化する機構の詳細はまだ解明されておらず、熱ストレス時以外の Hikeshi 機能もまだ十分理解されていない。しかし、ノックアウトマウスでの解析や、ヒト Hikeshi 遺伝子の点変異 (V54L や C4S) がミエリン形成不全を伴う遺伝性白質脳症の原因となることが明らかとなるなど、個体発生・分化における Hikeshi の生理的役割が注目されている。

参考文献:

- ・Kose S et al. *Cell* 149: 578-589 (2012)
- ・Edvardson S et al. *J. Med. Genet.* 53: 132-137 (2016)
- ・小瀬真吾 *生化学* 87: 27-33 (2015)

図 1 熱ストレス時の核-細胞質間タンパク質輸送モデル



脂肪酸不飽和化酵素 (Fatty acid desaturase)

長尾 耕治郎

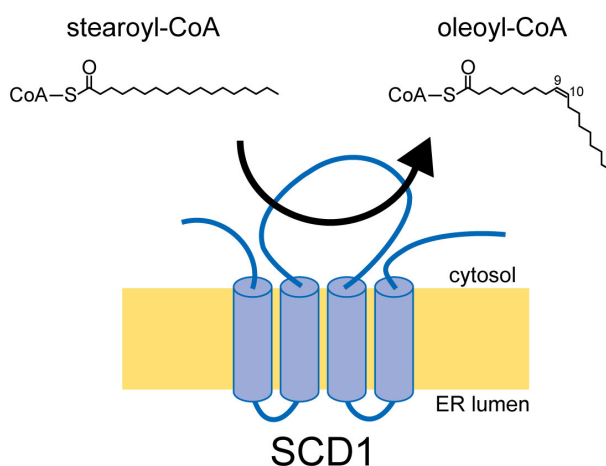
(京都大学大学院 工学研究科)

脂肪酸不飽和化酵素は脂肪酸の炭化水素鎖に二重結合を導入する酵素の総称であり、酵素により二重結合を導入する位置や基質の構造が異なる。例えば、最も研究されている脂肪酸不飽和化酵素の1つである哺乳動物の stearoyl-CoA desaturase (SCD) 1 は小胞体に局在する 4 回膜貫通タンパク質であり、カルボキシル基から数えて 9 番目と 10 番目の炭素の間に *cis* 二重結合を導入する(下図)。また、SCD1 はアシル CoA を基質とし、Cyt-b5 による電子伝達と分子状酸素を必要とする。

脂肪酸に含まれる二重結合は脂肪酸を含む脂質の相転移温度などの物理化学的パラメーターに影響を与える。また、温度変化によっても脂質の分子運動や分子間相互作用が変化する。このため、細菌から昆虫、魚類、植物に渡る幅広い生物において、低温環境への暴露により二重結合を含んだ脂肪酸が増加することで、脂質分子の集合体である生体膜の恒常性が維持されている。このような脂質組成の変化が引き起こされるのは脂肪酸不飽和化酵素が温度変化に応答した制御を受けるためであり、例えば *Saccharomyces cerevisiae* の脂肪酸不飽和化酵素である Ole1 は温度変化に応答した遺伝子発現制御を受ける。しかし、生物がどのように温度変化を感知し、脂肪酸不飽和化酵素の発現を制御しているのかはよく分かっていない。また、脂肪酸不飽和化酵素は生体膜の物性の制御のみならず、貯蔵脂質としての脂肪酸の代謝や脂質メディエーターの産生にも関わっている。このため、脂肪酸不飽和化酵素は温度変化への適応において多岐の役割を果たしていると考えられる。

参考文献:

- Bai Y et al. *Nature* 524: 252-256 (2015)
- Nakagawa Y et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 291: 707-713 (2002)



SCD1 による二重結合の導入

温度感受性を示す電位依存性プロトンチャネル

(Thermosensitive properties of the voltage-gated H⁺ channel)

藤原 祐一郎

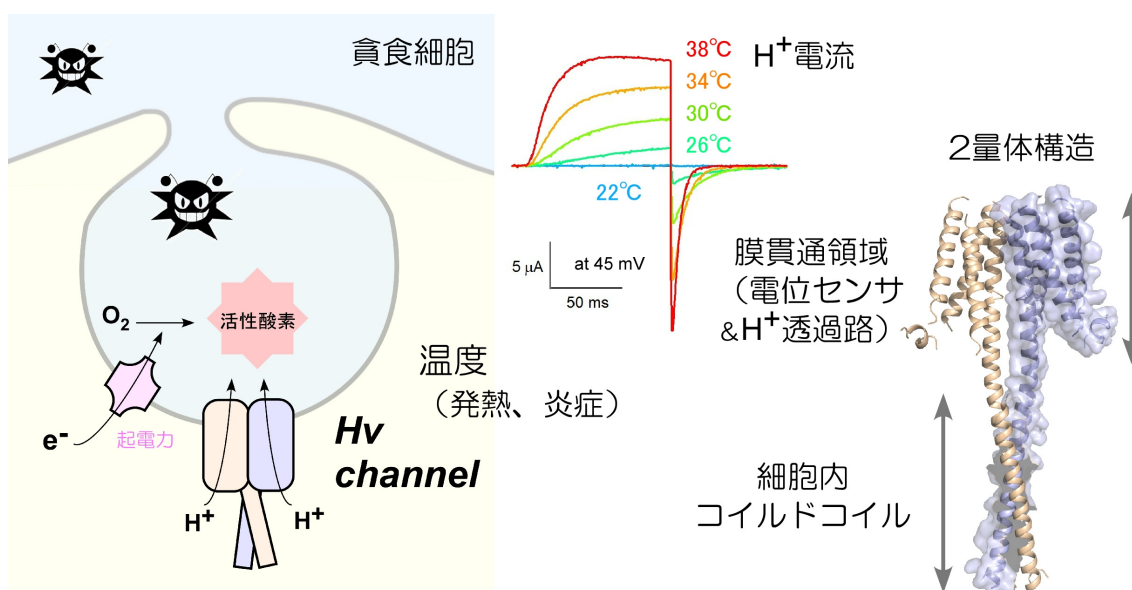
(大阪大学大学院 医学系研究科)

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 (H_v チャネル) は、病原菌を退治する際の活性酸素の産生を制御するチャネルとして知られている。H_v チャネルの H⁺輸送量はチャネルの開閉と H⁺透過度によって決まり、細胞膜を介する電圧と pH 勾配により制御される。他の電位依存性チャネルと比較して特徴的に、H_vチャネルの開閉と H⁺透過度はどちらも温度依存性が高いことが報告されており、発熱と免疫システムの関係の背後に体温を感知する H_vチャネルの存在が示唆されている。貪食細胞においては、H⁺透過度は 10°C の温度上昇あたり 2-3 倍となり、チャネルの開閉キネティクスは 6-9 倍に上昇することが報告されている。それらの相乗効果で体温に近い温度域から急激に H⁺輸送量が増大することが知られている。

H_v チャネルは H⁺透過能を有する電位センサードメインからのみなる膜蛋白質で、最小単位から構成される電位依存性チャネルとして機能する。細胞内領域に存在するコイルドコイルドメインを介してホモ2量体を構成し、2つのチャネルサブユニットが相互抑制的に機能することで1量体よりも遅い開閉キネティクスを呈する。コイルドコイルドメインは熱に不安定で体温と同程度の温度で解離し、温度依存的なチャネルの開閉に影響を与えることが報告されている。近年、膜貫通領域も含めた全長の結晶構造が解かれ、H⁺輸送の高い温度依存性の構造基盤解明が期待されている。

参考文献:

- DeCoursey TE et al. *Physiol. Rev.* 83: 475–579 (2003)
- Fujiwara Y et al. *Nat. Commun.* 3: 816 (2012)
- Fujiwara Y et al. *Curr. Top. Membr.* "Thermal sensor" 74: 259-292 (2014)



タンパク質の膜挿入反応と温度依存性

(Membrane protein insertion and its temperature dependency)

西山 賢一

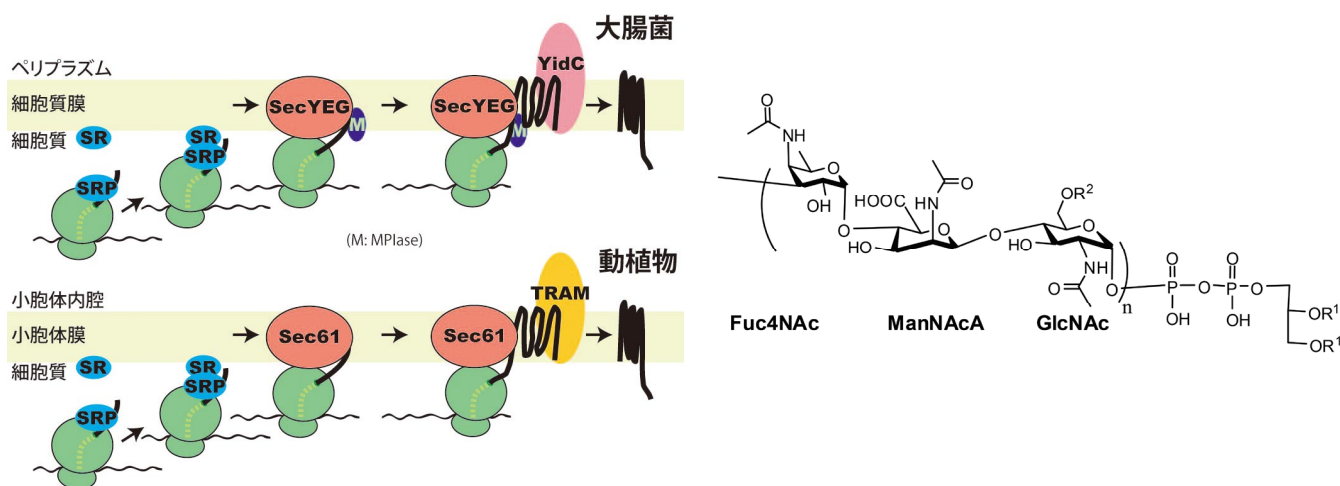
(岩手大学 農学部附属寒冷バイオフィロンティア研究センター)

膜タンパク質はその生合成に共役して膜挿入する。タンパク質膜挿入の仕組みは、基本的なレベルで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。膜の流動性が低下する低温下では、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進行しづらくな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。タンパク質膜挿入に関わる因子群(タンパク質膜透過チャネル SecYEG や Sec61、シグナル認識粒子 SRP など)の発現レベルは、低温下でもほとんど変化しない。

MPIase (Membrane Protein Integrase)は、タンパク質膜挿入に必須の糖脂質である。MPIase は大腸菌を用いた解析により同定された。MPIase 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)」という概念が提唱されている。MPIase 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が見出されている。MPIase の発現量増加により、タンパク質膜挿入反応の低温感受性は、部分的に抑制されていると考えられる。

参考文献:

- Pogliano KJ & Beckwith J. *Genetics* 133: 763-773 (1993)
- Nishiyama K et al. *Nat. Commun.* 3: 1260 (2012)
- 西山賢一 *生化学* 88: 744-747 (2016)



タンパク質膜挿入反応の分子機構

タンパク質生合成に共役した膜挿入反応を示す。上段は大腸菌、下段は動植物の小胞体における膜挿入機構を示す。

低温ショック蛋白質 (Cold Shock Protein; CSP)

藤田 潤

(京都大学大学院 医学研究科)

低温ショック蛋白質は、1987 年に大腸菌の培養温度を 10℃に低下させると発現誘導される蛋白質群として見出された。その後、*CspA* 遺伝子が単離され、枯草菌、酵母、植物、魚類などでも、低温により誘導される遺伝子群が報告、単離された。CSP は低温下の細菌の生育に不可欠で、これには低温下における RNA の構造変化を制御する機能(RNA シャペロン活性)が重要だと考えられている。

動物にも、細菌 CSP と相同な配列(低温ショックドメイン)を持つ分子(UNR、Lin28、YB-1 等)があるが、低温による発現誘導は知られていない。しかし 1997 年、マウス精巣から同定された CIRP (cold-inducible RNA-binding protein)が、10℃ではなく 32℃の軽度低温で発現誘導されることが報告された(図 1)。さらに、CIRP 同様スプライシング因子 hnRNP に似た Rbm3、及び SR スプライシング因子である SRSF5 も、32℃での発現誘導が報告された。

CIRP と RBM3 は構造がよく似た RNA 結合蛋白質で、ヒトやマウス細胞の培養温度を 32℃に下げると発現が亢進し、増殖促進(細胞により抑制)作用、抗アポトーシス作用を示す。CIRP は主に核に局在し、精子形成、概日リズム、発癌、創傷治癒、DNA 損傷修復に関係するが、細胞外に移行すると炎症を引き起こし、敗血症や出血性ショックを悪化させる。RBM3 は脳虚血や神経変性疾患による細胞死やシナプス再形成不全から神経を防護する。SRSF5 はアポトーシス促進作用が示唆されている。これら軽度低温で誘導される蛋白質は、低酸素、紫外線、低浸透圧などいろいろなストレスでも発現誘導されるが、通常の非ストレス状態でも発現が認められ、その生理機能の解明が待たれる。

参考文献:

- ・Fujita T et al. *Sci. Rep.* 7: 2295 (2017)
- ・Zhu X et al. *Cell. Mol. Life Sci.* 73: 3839-3859 (2016)

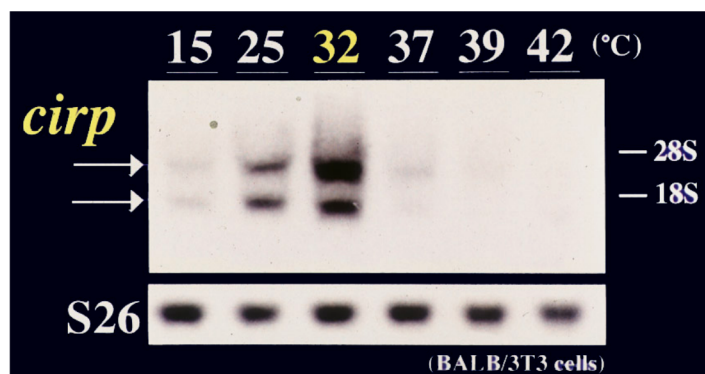


図 1 マウス BALB/3T3 細胞の培養温度を 37 度から各温度に 6 時間変化させた時の *Cirp* 遺伝子と S26(コントロール)の RNA 発現量を Northern blot 解析した。

PGC-1 α

小川 渉

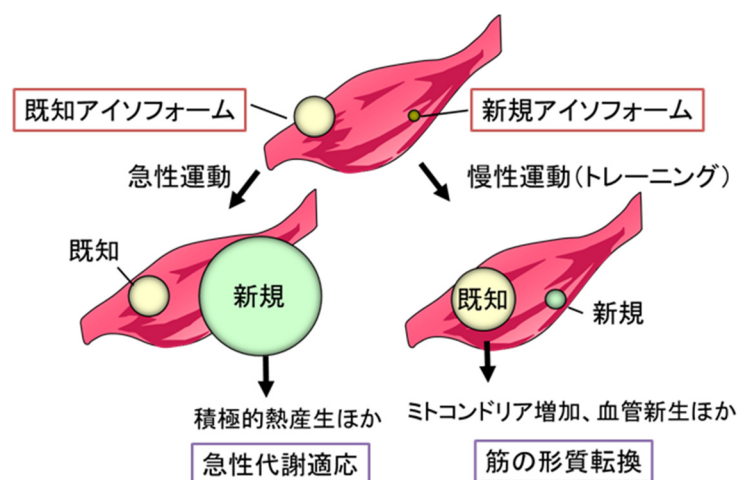
(神戸大学大学院 医学系研究科)

PGC-1 α は転写因子 PPAR γ に結合する転写コアクチベーターとして同定された分子であり、エネルギー産生や熱消費に関わる多くの遺伝子発現を制御する。白色脂肪細胞に PGC-1 α を導入するとミトコンドリア生合成の増強や UCP1 の発現増加などの褐色脂肪細胞様変化が生じる。PGC-1 α は、転写因子 NRF (nuclear respiratory factor) 1/NRF2を活性化し、NRFはTFAM (mitochondria transcription factor A) の転写を促すことにより、ミトコンドリアの生合成を活性化する。また、PGC-1 α は骨格筋でもミトコンドリア生合成を活性化するとともに、脂肪酸酸化の増強やI型MHC (Myosin heavy chain) の増加といった遅筋的形質を誘導することから、運動トレーニングによる骨格筋の形質転換にも重要な機能を果たすと考えられている。

PGC-1 α には既知の第一エクソンの上流に存在する新規なエクソンから転写が開始される複数のアイソフォームが存在する。骨格筋では運動によって PGC-1 α の発現が増加することが知られているが、急性運動で増加するのは、これらの新規エクソンから転写されるアイソフォームであり、運動による代謝適応や熱産生の増加を制御すると考えられる。一方、既知アイソフォームは急性運動ではほとんど発現増加を認めないが、慢性的な運動では発現が増強することから、トレーニングによる骨格筋の形質転換には既知アイソフォームが重要な機能を担うと考えられる。2型糖尿病患者や肥満者の骨格筋ではPGC-1 α の発現が減少しているという報告もあり、PGC-1 α の発現低下や機能の障害がインスリン抵抗性や肥満の病態に関わる可能性も注目される。

参考文献:

- ・Villena JA. *FEBS J.* 282: 647-672 (2015)
- ・野村和弘, 小川渉 *最新医学* 70: 580-586 (2015)

図1 骨格筋における PGC-1 α アイソフォームの役割

内因性脂質による TRP チャンネルの制御 (TRP channel regulation by endogenous lipids)

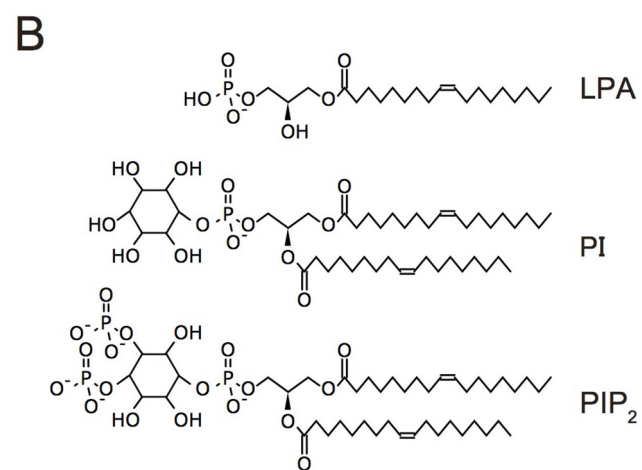
井上 飛鳥
(東北大学大学院 薬学研究科)

温度感受性イオンチャンネルである TRP チャンネルは、様々な内因性脂質分子によりその活性が制御されることが知られる。これまでに報告された脂質分子の多くは TRP チャンネルの活性化因子 (Activator, Sensitizer) として作用するが、一部の脂質分子は TRP チャンネルの活性を負 (inhibitor) に制御する。代表的な分子として酸化脂肪酸があり、例えば 4-ヒドロキシノネナール (4-HNE) が TRPA1 の活性化因子として、レゾルビン D (RvD1, RvD2) が TRPA1、TRPV1、TRPV3 の阻害因子として作用する。他にも、不飽和脂肪酸であるエイコサペンタエン酸 (EPA) やドコサヘキサエン酸 (DHA) が TRPM8 の阻害作用、リゾリン脂質であるリゾホスファチジン酸 (LPA) が TRPM7 の抑制、ホスホイノシタイドであるホスファチジルイノシトールニリン酸 (PIP₂) が TRPA1 阻害作用・TRPM8 活性化作用を示す。

クライオ電顕を用いたアポ TRPV1 の構造解析から、発現・精製過程に混入した考えられるホスファチジルイノシトール (PI) がパニロイド結合ポケットに結合していることが判明した。パニロイドアゴニスト結合型とアンタゴニスト結合型の TRPV1 の構造の比較から、アゴニストが S4-S5 リンカーをポケット内に引き寄せることでチャンネルの内腔を形成する S6 が外側に動き、チャンネルが開く。一方で PI 結合型の TRPV1 ではこのような構造変化は起きておらず、チャンネル活性を負に制御するものと推測される。また、TRPV1 では変異体の解析から C 末端ドメインの正電荷を帯びた領域に PIP₂ や LPA が結合することが示されており、PIP₂ はチャンネル活性を負に LPA は正に制御する。多数の脂質が TRP 活性に影響を与える中で、実際に生体内でどの脂質分子が役割を果たすかは今後の研究の課題である。

参考文献:

- ・Taberner FJ et al. *Biochim. Biophys. Acta*. 1848: 1818-1827 (2015)
- ・Gao Y et al. *Nature* 534: 347-351 (2016)



– 21 –

ミトコンドリアオートファジー (マイトファジー) (Mitophagy)

神吉 智丈

(新潟大学大学院 医歯学総合研究科)

オートファジーは細胞質中のタンパク質やオルガネラを分解する機構で、ほとんどの真核生物において高度に保存されている。栄養飢餓、酸化ストレスなどの様々なストレスによってオートファジーが誘導されると、細胞質内に隔離膜と呼ばれるカップ状の脂質二重膜構造が出現し、隔離膜の伸展とともに細胞質成分が包み込まれ、最終的には完全に閉じられた球状構造のオートファゴソームを形成する。次に、オートファゴソームがリソソーム(酵母や植物では液胞)と融合することで、取り込んだ細胞質成分は分解される。分解の結果生じたアミノ酸などは、栄養源として再利用される。ミトコンドリアオートファジー(マイトファジー)は、オートファジーがミトコンドリアを選択的に分解する機構である(図1参照)。

ミトコンドリアは、細胞が消費するATPの大部分を産生しているが、この過程で一定量の活性酸素も漏出している。このためミトコンドリアは絶えず酸化傷害にさらされており、経時的な機能低下を免れ得ない。マイトファジーは、機能低下に陥ったミトコンドリアや細胞のエネルギー要求量に対して余剰なミトコンドリアを選択的に分解することで細胞内のミトコンドリア恒常性を維持していると考えられている。

マイトファジーは多くの真核生物で観察されているが、オートファジーがミトコンドリアを選択する分子機構は、酵母と哺乳類で大きく異なっている。出芽酵母ではミトコンドリア外膜に存在する膜タンパク質 Atg32 が、細胞質のオートファジー因子 Atg11 と特異的に結合することで分解するミトコンドリアが選択されている。一方、哺乳類には Atg32 の明確なホモログは存在せず、マイトファジーに関わる複数の因子が報告されている。最もよく研究されているのは、Parkin・PINK1 が関わるマイトファジーで、PINK1 が膜電位の低下したミトコンドリア上で安定化し、ユビキチンリガーゼである Parkin をそのミトコンドリアに集積させる。その結果、ミトコンドリア外膜タンパク質がユビキチン化され、ユビキチン化を指標にミトコンドリア分解が進んでいく。また、NIX、BNIP3、FUNDC1、BCL2L13 などのミトコンドリア外膜に局在するタンパク質が関与するマイトファジーも報告されている。

マイトファジーの動物個体における生理的意義は不明な点が多い。マウスでは、多くの臓器で常時一定量のミトコンドリア分解が起こっていると考えられている。一方、積極的に誘導されるマイトファジーを観察した例は少なく、網状赤血球から赤血球への最終分化の過程でミトコンドリア除去のために誘導されるマイトファジーや、寒冷刺激に応答して増加したベージュ細胞(白色脂肪細胞から分化したと考えられているミトコンドリアに富む細胞)が白色脂肪細胞に退行する時に誘導されるマイトファジーが知られているが、多くの点で未解明である。

参考文献:

- ・古川健太郎、神吉智丈 *化学と生物* 54: 266-272 (2016)
- ・Liu L et al. *Cell Res.* 24: 787-795 (2014)

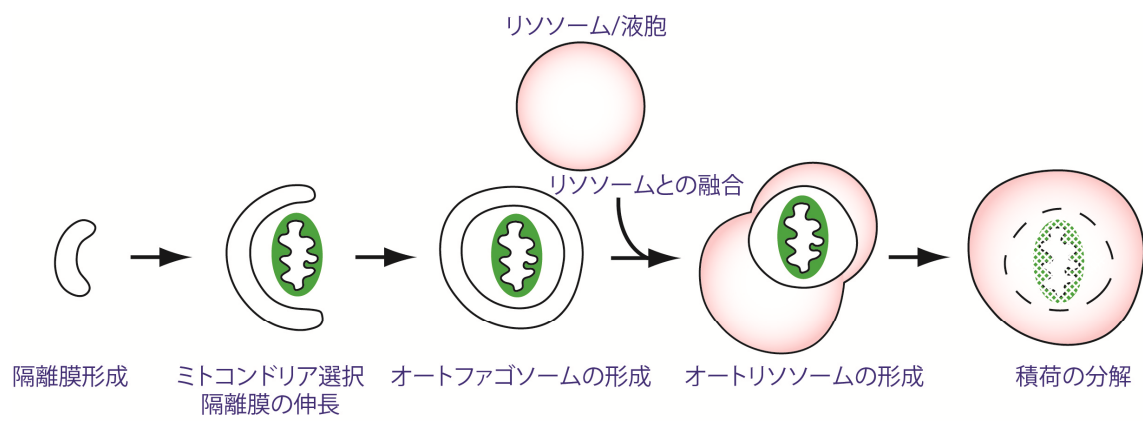


図1 オートファジーによるミトコンドリア分解過程

サルコリピン (Sarcolipin)

原 雄二

(京都大学大学院 工学研究科)

Sarcolipin は 31 アミノ酸残基からなり、骨格筋にて高発現する小ペプチドである。1 回膜貫通領域を有し、筋小胞体膜に局在する筋小胞体 Ca^{2+} -ATP アーゼ (Sarco / Endoplasmic Reticulum Ca^{2+} -ATPase; SERCA) と結合し、SERCA による筋小胞体内腔への Ca^{2+} 取り込み能を負に制御する因子として知られている。

寒冷下では、短期適応として骨格筋での「ふるえ」により熱産生がもたらされる。一方でふるえに依存しない熱産生機構 (非ふるえ熱産生) も存在し、げっ歯類を用いた研究から、非ふるえ熱産生は主に褐色脂肪が担うものと考えられてきた。2012 年に Periasamy らにより、Sarcolipin が骨格筋での非ふるえ熱産生に関与することが示された。野生型マウスでは低温曝露下でも体温はほぼ一定に維持されるが、Sarcolipin 欠損マウスでは低温下では体温を維持できず、同欠損マウスの褐色脂肪組織を除去したところ体温がさらに低下した。また筋弛緩薬投与によりふるえ熱産生を阻害した状態でも、Sarcolipin が発現する場合は褐色脂肪組織の有無にかかわらず体温が維持されたことから、Sarcolipin は骨格筋にて非ふるえ熱産生に関与することが示された。

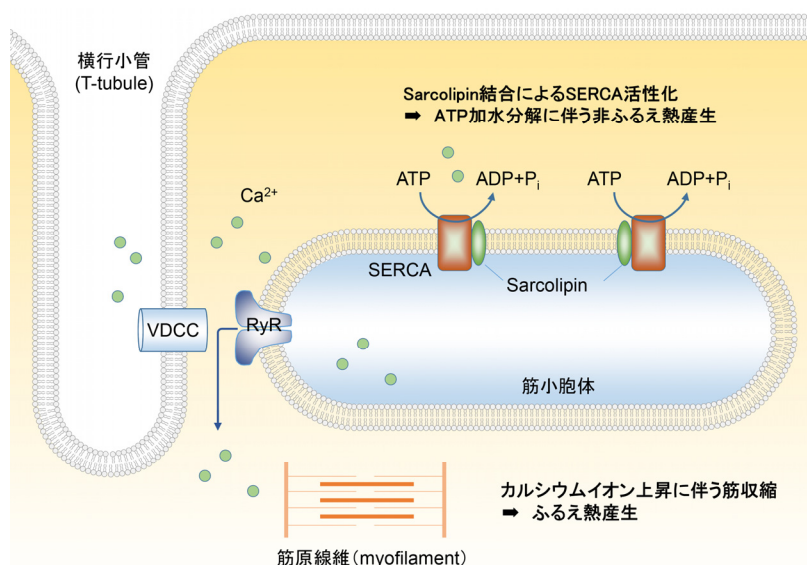
Sarcolipin 依存的な非ふるえ熱産生機構として、Sarcolipin による SERCA 活性調節が関わりと想定されている。Sarcolipin 結合状態下では、SERCA による ATP 加水分解活性は維持されるものの、細胞質 Ca^{2+} は小胞体に取り込まれにくくなる。すなわち SERCA の脱共役により ATP が消費され続けることで、熱産生が亢進する機構が提唱されている。

Sarcolipin は高脂肪食適用時や、骨格筋疾患モデルマウスにおいて高発現することも報告されており、熱産生だけでなく肥満や骨格筋疾患との関わりが注目されている。

参考文献:

1. Bal NC et al. *Nat. Med.* 18: 1575-1579 (2012)

図1 Sarcolipin による
非ふるえ熱産生機構



プロリン異性化酵素 Pin1 (Prolyl isomerase Pin1)

中津 祐介、浅野 知一郎

(広島大学大学院 医歯薬保健学研究院)

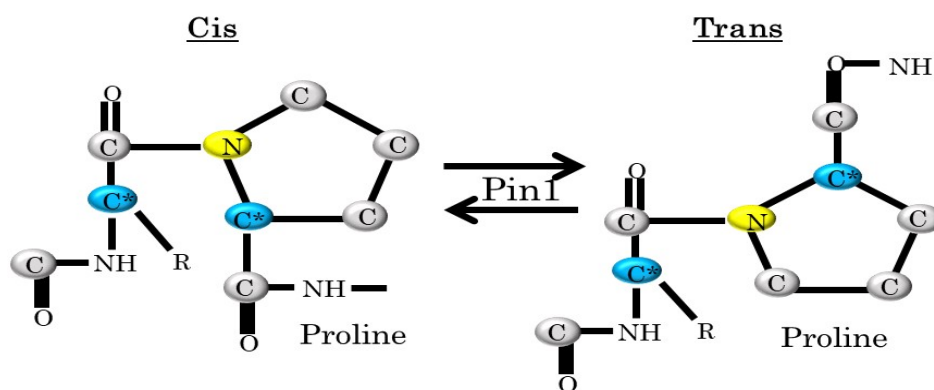
プロリン異性化酵素 Pin1 は、様々な標的蛋白の pSer/pThr-Pro を含む配列に結合し、プロリンのシス・トランス異性化を行うことで、標的蛋白の機能を調節している酵素である。現在までに、Pin1 は、アルツハイマー病、癌、糖尿病、肥満等、様々な病態に関与することが報告されている。

興味深いことに、Pin1 蛋白の発現量は、環境温度により変化することがわかってきた。マウスを寒冷刺激下(4℃)で 24 時間飼育すると、皮下脂肪や褐色脂肪組織では、Pin1 の発現が顕著に増加する。逆に脂肪細胞を通常培養温度(37℃)よりも、わずかに高い 40℃で 24 時間培養すると、Pin1 の発現は、顕著に減少する。従って、Pin1 の発現量は温度による制御を受けている。一方、脂肪細胞特異的に Pin1 を欠損させたマウスでは、UCP など熱産生関連遺伝子の発現量が高く、実際、寒冷刺激による体温低下が軽度であることも判明してきた。

上述したように、Pin1 は体温調節に重要な因子である一方、脂肪細胞の分化、成熟にも必須の役割を果たしている。これらを併せ考えると、Pin1 は、温度変化に伴う脂肪細胞の分化や肥大の制御に関与している可能性が考えられる。今後、温度依存性 Pin1 発現調節の分子メカニズムと、その変化が温度変化によって引き起こされる生理的機能に、どのように関連しているか、解明が期待される。

参考文献:

- Nakatsu Y et al. *J. Biol. Chem.* 290: 24255-24266 (2015)
- Nakatsu Y et al. *Int. J. Mol. Sci.* 17: E1495 (2016)
- Nakatsu Y et al. *J. Biol. Chem.* 292: 11886-11895 (2017)



プロリン異性化酵素Pin1

脱共役タンパク質 (Uncoupling protein)

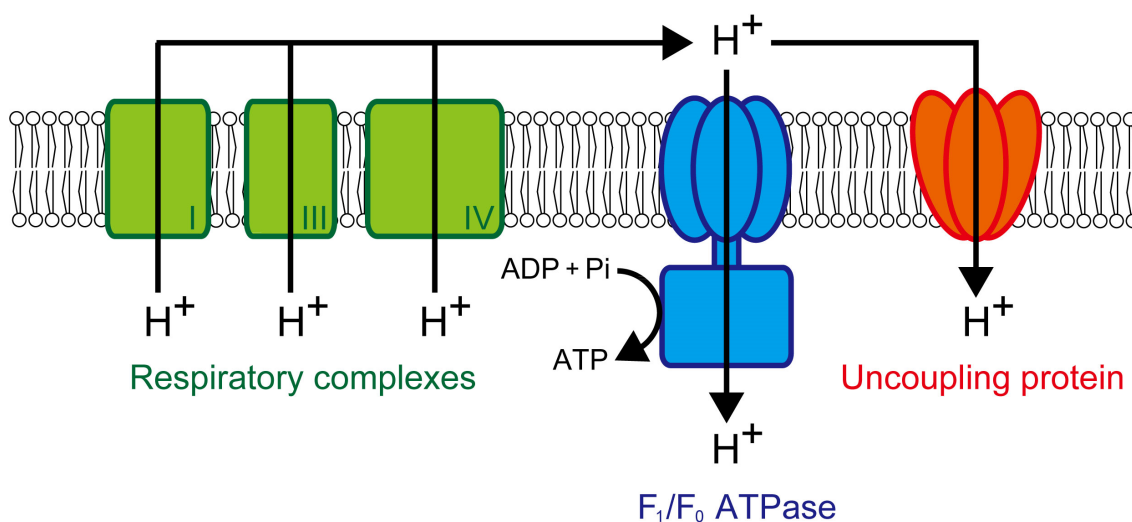
梅田 眞郷

(京都大学大学院 工学研究科)

脱共役とは、ミトコンドリアでの酸化的リン酸化における電子伝達により形成されるプロトン勾配とATP合成反応の共役を阻害することを言う。脱共役タンパク質は、ミトコンドリア内膜の内外に形成されたプロトン勾配を解消し、その結果ATP合成に使われていたエネルギーは熱として放出されることからサーモゲニン(thermogenin)とも呼ばれ、動物の熱産生において重要な役割を果たす。脱共役タンパク質は、ミトコンドリア内膜に存在する Solute carrier (SLC)ファミリータンパク質の一員であり、約 33kDa サブユニットの二量体を形成し、ミトコンドリア内膜の膜間腔からマトリックスへとプロトン透過させる。従来、脱共役タンパク質は褐色脂肪細胞ミトコンドリアに存在するタンパク質 UCP1 として知られていたが、白色脂肪細胞をはじめ広範な組織に発現する UCP2 および骨格筋・褐色脂肪細胞に発現する UCP3 が同定されている。また、昆虫などの変温動物や植物からも UCP1 と相同性を有する分子群が同定されている。UCP1 の活性は、ATP や GDP などのプリンヌクレオチドにより阻害され、長鎖脂肪酸による強く活性化されることから、脂肪酸を介したプロトン透過モデルが提唱されている。

参考文献:

- Divakaruni AS & Brand MD. *Physiology* 26: 192-205 (2011)
- Bertholet AM et al. *Cell Metab.* 25: 811-822 (2017)



組織・個体レベルでの温度生物学

自律性体温調節 (Autonomous thermoregulation)

中村 和弘

(名古屋大学大学院 医学系研究科)

動物が体温を調節する様式の一つ。体温調節の様式には自律性体温調節と行動性体温調節 (behavioral thermoregulation) があり、前者は不随意の自律生理反応を通じた体温調節、後者は随意的本能行動を通じた体温調節を指す。自律性体温調節は恒温動物では特に重要であり、熱の放散と産生を調節することで体温を制御する。

熱放散の調節様式は蒸散性熱放散と非蒸散性熱放散に分類される。室温近辺の環境温度では通常、熱の放射、伝導、対流による非蒸散性熱放散を通じた体温調節のみで体温を維持することが可能であり、非蒸散性熱放散のみで体温を維持することができる環境温度域を温熱的中性域 (thermoneutral range) と呼ぶ。哺乳類の非蒸散性熱放散の調節反応の代表例としては皮膚血管調節が挙げられる。通常、脳は交感神経を通じた指令を出して皮膚の血流量を常時調節しており、それによって体表面から環境中への熱の放散量を調節し、体温を制御する。立毛も交感神経を介した非蒸散性熱放散の反応の一つである。

温熱的中性域よりも高温の環境では非蒸散性熱放散のみでは体温上昇を防ぐことができないため、多くの哺乳類では蒸散性熱放散を行う。これは体表面を濡らし、その水分が気化する際の気化熱として体熱を放散させる反応である。ヒトやウマでは発汗が起こり、ネズミでは唾液分泌が亢進してそれを体表面に塗布する。ヒトの発汗はコリン作動性の特殊な交感神経が支配するエクリン腺で起こる。

温熱的中性域よりも低温の環境では適応熱産生 (adaptive thermogenesis) を起こして体内で積極的に熱を産生し、体温の低下を防ぐ。適応熱産生はふるえ熱産生と非ふるえ熱産生に分類される。ふるえ熱産生は体性運動神経を介した骨格筋のふるえを通じた熱産生反応であり、非ふるえ熱産生は主に交感神経を介した代謝の亢進による熱産生反応である。非ふるえ熱産生を行う器官としては、褐色脂肪組織がよく知られ、ネズミなどの小動物やヒトの乳幼児などの体温維持に機能するだけでなく、最近では成人の体温・代謝調節にも重要であることがわかってきた。

参考文献:

- ・Nakamura K. *Am. J. Physiol.* 301: R1207-R1228 (2011)
- ・中村和弘 *日本臨床* 70: 922-926 (2012)

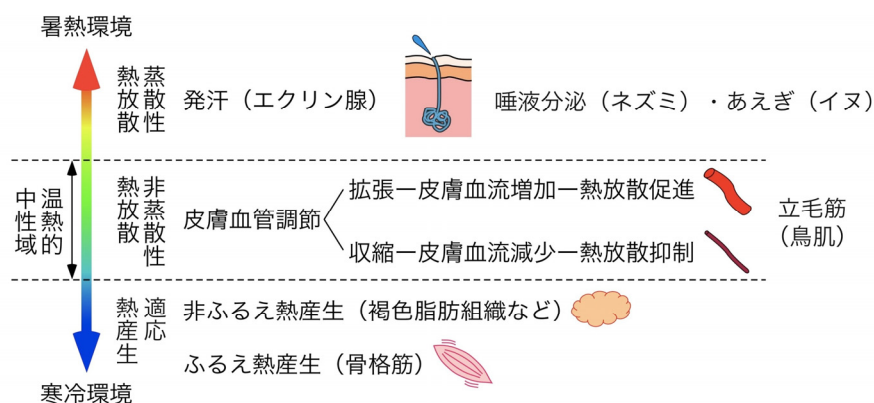


図1 自律性体温調節の種類と環境温度

発熱 (Fever)

中村 和弘

(名古屋大学大学院 医学系研究科)

感染や炎症などが引き金となって生じる体温上昇。生体の体温調節システムが能動的に体温を上昇させる生理反応であり、著しい暑熱環境で生じる受動的な体温上昇であるうつ熱とは仕組みが異なる。心理ストレスによって生じる心因性発熱(psychogenic fever)や脳損傷などによって生じる神経因性発熱(neurogenic fever)なども知られるが、ここでは感染や炎症によって生じる発熱を扱う。

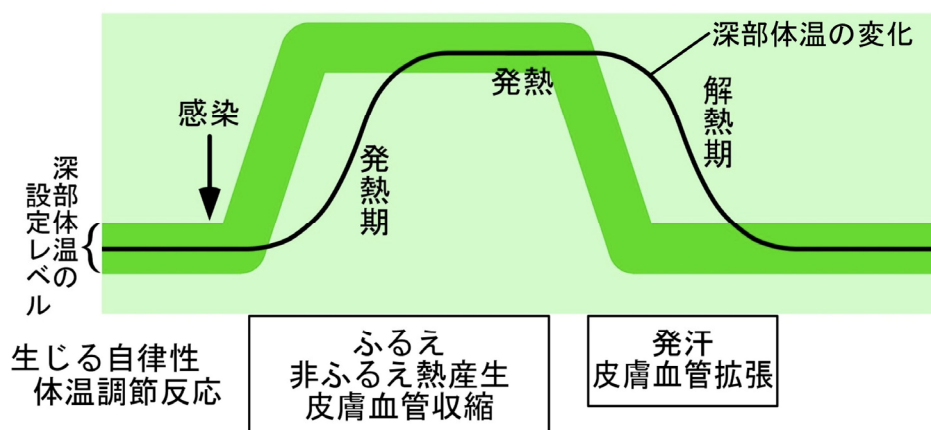
発熱によって体内の温度を上昇させることは、侵入した病原体の増殖至適温度域よりも高温にすることで増殖速度を抑える効果と、白血球などの免疫細胞の攻撃活性を高める効果があると考えられており、発熱は体温調節システムを用いた生体防御反応であると言える。

感染や全身の炎症によって免疫系が活性化するとサイトカインが放出され、脳内の血管内皮細胞でのプロスタグランジン E_2 合成が促進される。プロスタグランジン E_2 が脳内の視索前野に存在する神経細胞表面のプロスタグランジン EP_3 受容体に作用すると、それが引き金となって体温調節の神経回路が駆動される結果、ふるえなどの熱産生が亢進するとともに、皮膚血管収縮などの熱放散抑制反応が起こるため体温が上昇する。このプロスタグランジン E_2 の作用は体温調節中枢(視索前野)における体温のセットポイント(設定温度域)を上昇させると考えられている。セットポイントの科学的実体は不明であるが、発熱の生理反応によって、深部体温が上昇したセットポイントに到達するとそれ以上は上昇しない。感染が止んでプロスタグランジン E_2 の作用がなくなるとセットポイントが平常域に戻るため、上昇した体温を新たなセットポイントまで低下させるために積極的な熱放散反応が生じる。ヒトの解熱期(寛解期)に発汗が生じるのはそのためである。

参考文献

- ・Nakamura K. *Am. J. Physiol.* 301: R1207-R1228 (2011)
- ・中村和弘 *分子精神医学* 11: 23-29 (2011)
- ・中村和弘 *Clin. Neurosci.* 32: 1387-1390 (2014)

図1 発熱から解熱に至る経過と関与する自律性体温調節反応



行動性体温調節 (Behavioral thermoregulation)

中村 和弘

(名古屋大学大学院 医学系研究科)

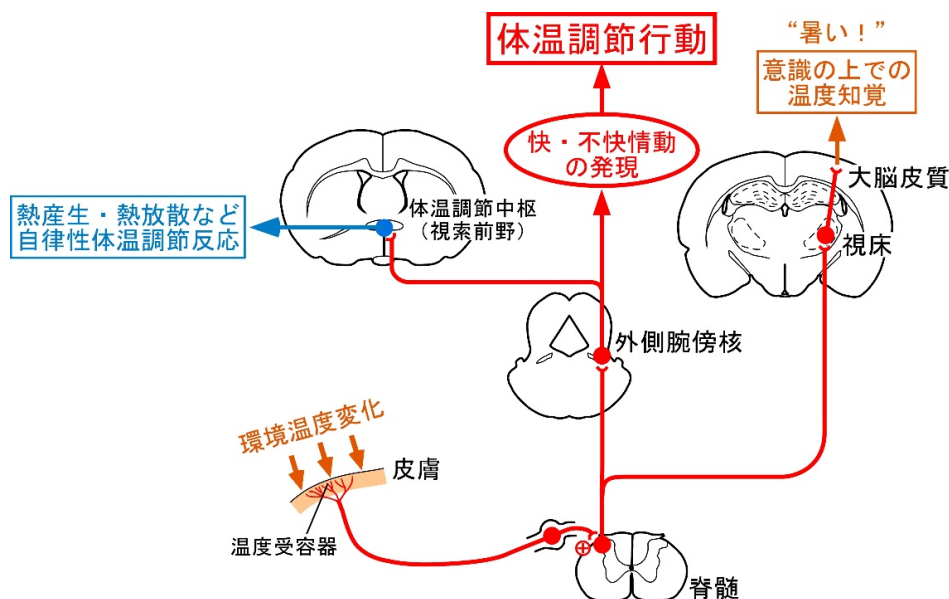
体温の調節や維持を目的とした能動的な体温調節行動(thermoregulatory behavior)を伴う体温調節の様式。体温調節行動としては体温の調節に適切な温度環境への移動、寒冷環境で体を丸めるなどの姿勢変化、個体の密集、暑熱環境での体表面の湿潤化など、多くの行動が知られ、ヒトの着衣の脱着や暖房・冷房の使用なども含む。平常の体温調節だけでなく、感染時の体温上昇(発熱)を促す暑熱探索行動(warm-seeking behavior)や厚着なども体温調節行動である。体温調節のもう一つの様式である自律性体温調節(autonomous thermoregulation)は不随意の自律生理反応を通じた体温調節を指すが、体温調節行動は多くの場合、随意的なものであり、本能行動に分類される。恒温動物は行動性体温調節と自律性体温調節の両方によって体温を調節・維持する一方、変温動物は行動性体温調節のみを行うとされる。カメの甲羅干しは体を温める変温動物の体温調節行動の一例である。

行動性体温調節の中樞神経回路メカニズムはほとんど未解明であるが、体温調節行動を駆動する基盤には、温度感覚により脳内で生み出される「快・不快情動」が関わると考えられている。ラットを用いた最近の研究から、皮膚で感知した環境温度の感覚情報が脳の橋にある外側腕傍核を通じて上行し、体温調節行動を駆動することが明らかとなった。外側腕傍核を経て伝達される温度感覚情報が快・不快情動を生み出す神経回路メカニズムは現在注目される研究トピックスである。

参考文献:

- Yahiro T et al. *Sci. Rep.* 7: 5031 (2017)
- Terrien J et al. *Front. Biosci.* 16: 1428-1444 (2011)
- Flouris AD. *Eur. J. Appl. Physiol.* 111: 1-8 (2011)

図1 皮膚で感知した温度感覚情報の伝達経路と役割



条件づけ場所嗜好性(嫌悪性)試験 (Conditioned place preference (aversion) test)

南 雅文

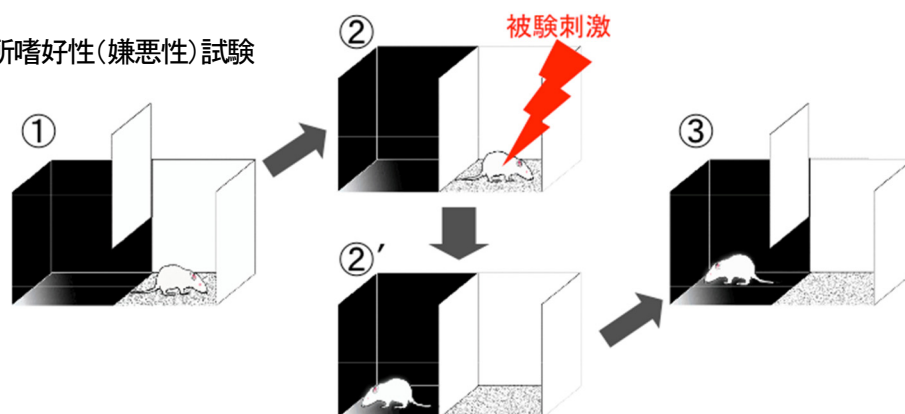
(北海道大学大学院 薬学研究院)

報酬刺激や嫌悪刺激、すなわち、無条件に快あるいは不快を引き起こす刺激(無条件刺激)と、本来は快・不快を引き起こさないニュートラルな刺激(条件刺激)を組み合わせ提示することにより、連合学習が成立し、条件刺激によっても快あるいは不快が引き起こされるようになる(パブロフ型条件づけ)。条件づけ場所嗜好性(嫌悪性)試験は、このパブロフ型条件づけを利用したものであり、条件刺激として、実験動物が区別可能な2つの空間=「場所」(通常は、色、材質、においなどが異なる、直接つながった、あるいは、より小さな箱を介してつながった2つの箱)を用いる。検討対象となる刺激(被験刺激)と組み合わせられた「場所」での滞在時間を、条件づけの前後において計測・比較することにより、被験刺激が、快あるいは不快を引き起こすか否かを調べることができる。具体的には、図1に示すように、①実験動物が2つの「場所」を自由に行き来できる状態で、各々の「場所」での滞在時間を計測する。②被験刺激を与えた状態で、どちらか一方の「場所」に閉じ込めて条件づけを行う。②' コントロールとして刺激を与えずに②とは逆の「場所」に閉じ込める手順を行うことが多い。③再び実験動物が2つの「場所」を自由に行き来できる状態で、各々の「場所」での滞在時間を計測する。条件づけ前に比べ条件づけ後に、被験刺激を与えた「場所」での滞在時間が長くなっていれば、被験刺激は快情動を引き起こす、すなわち、報酬刺激であったと考えられる。その逆であれば、被験刺激は不快情動を引き起こす、すなわち、嫌悪刺激であったと考えられる。場所嗜好性試験と場所嫌悪性試験は同じ試験法であり、どちらの名称で呼ぶかは、被験刺激の嗜好性に注目するか、嫌悪性に注目するかの違いによる。被験刺激が報酬刺激であるか嫌悪刺激であるかを調べる場合に用いる他、報酬刺激・嫌悪刺激と薬物処置などの各種処置を組み合わせ、快・不快情動に関わる神経回路や神経情報伝達機構の研究にも用いられる。

参考文献:

- ・Tzschentke TM. *Prog. Neurobiol.* 56: 613- 672 (1998)
- ・出山諭司、南雅文 **痛み研究のアプローチ** (河谷正仁 編) 57-63 (2006)

図1 条件づけ場所嗜好性(嫌悪性)試験



即時型場所嗜好性(嫌悪性)試験
(Real-time place preference (aversion) test)

南 雅文

(北海道大学大学院 薬学研究院)

直接つながった、あるいは、より小さな空間を介してつながった2つの空間＝「場所」において、どちらか一方の「場所」に実験動物が滞在している時にのみ動物に被験刺激を与える。被験刺激を与えた「場所」での滞在時間がもう一方の「場所」での滞在時間より長くなれば、被験刺激は快情動を引き起こす、すなわち、報酬刺激であったと考えられる。その逆であれば、被験刺激は不快情動を引き起こす、すなわち、嫌悪刺激であったと考えられる。わかりやすい例として、一方の場所のみエサ(報酬刺激)がある場合や、一方の場所でのみ床から電気ショック(嫌悪刺激)を与えられる場合などがある。温度生物学研究で用いられる「2プレート法」(床面温度の異なる2つの「場所」を用意し、それぞれの「場所」での滞在時間を調べ、実験動物の温度選択行動を解析する方法)も即時型場所嗜好性(嫌悪性)試験の1つであると考えられる。被験刺激が報酬刺激であるか嫌悪刺激であるかを調べる場合に用いる他、報酬刺激・嫌悪刺激と薬物処置などの各種処置を組み合わせ、快・不快情動に関わる神経回路や神経情報伝達の研究にも用いられる。近年、脳科学研究の強力な研究手法として広く用いられる光遺伝学は、特定の神経細胞・神経回路を即時的かつ可逆的に活性化あるいは抑制できるため、即時型場所嗜好性(嫌悪性)試験への適用が容易であり、快・不快情動に関わる神経回路や神経情報伝達の研究に用いられている(図1)。

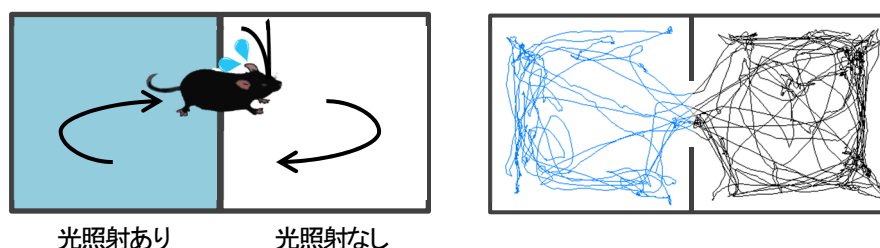
(補足1) 光遺伝学: 特定波長の光照射により活性制御可能な機能分子を遺伝子改変やウイルスベクターを用いて特定の細胞に発現させ、その機能を光で操作する研究手法。光活性化イオンチャネルやイオンポンプを神経細胞に発現させることにより、光照射による神経活動操作が可能となる。遺伝子プロモーターやウイルス注入部位、光照射部位の組み合わせにより、生きた動物の脳内の特定の神経細胞や神経経路を活性化あるいは抑制することができる。

参考文献:

- ・Stamatakis AM et al. *Nat. Neurosci.* 15: 1105-1107 (2012)
- ・Zhu Y et al. *Nature* 530: 219-222 (2016)

図1 光遺伝学と即時型場所嗜好性(嫌悪性)試験を用いた快・不快情動の神経機構研究

光照射による神経活動の操作が不快情動を引き起こす場合、「光照射あり」の「場所」での滞在時間が短くなる。右図は、動物の移動の軌跡を示しており、それぞれの「場所」での滞在時間や移動距離・速度などを解析できる。



線虫における温度感知機構 (Thermosensory mechanism of *C. elegans*)

久原 篤、太田 茜

(甲南大学 理工学部 統合ニューロバイオロジー研究所)

線虫 *C. elegans* は、温度に対して様々な応答を示す。例えば形態変化を伴うものとしては、高温下に置かれた際にダワーと呼ばれる耐性幼虫に変化する。一方、形態変化を伴わない温度応答としては、温度に対する応答行動（温度走性）や、低温に対する耐性や馴化現象が知られている。

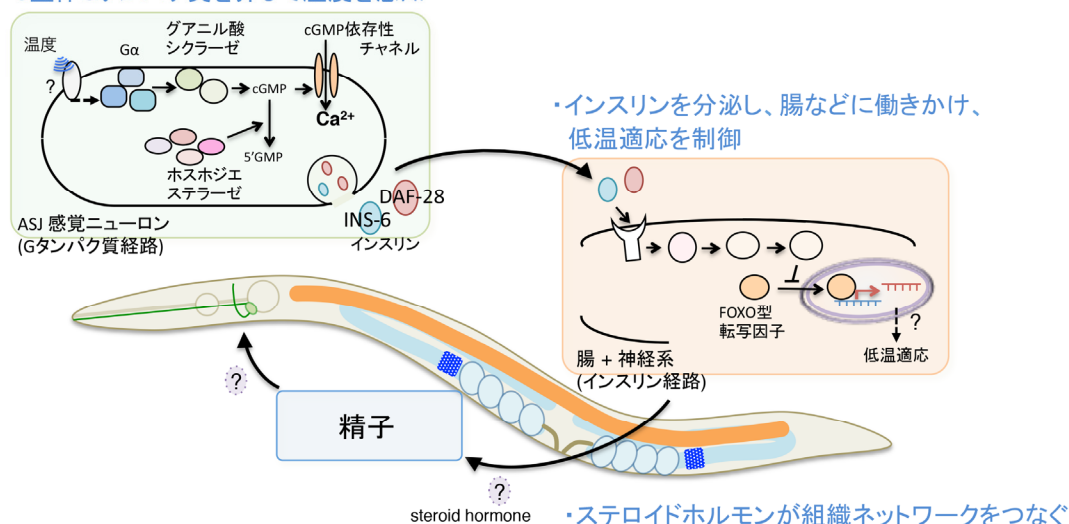
温度走性とは、一定の温度下で餌の存在する条件で飼育された個体を、餌のない温度勾配上に置くと、過去に飼育されていた温度に移動する現象である。温度走性に関わる温度受容ニューロン (AFD) では、受容体型のグアニリル酸シクラーゼ (GCY) が温度受容体として機能し、GCY は細胞内の cGMP の濃度の上昇を引き起こすことで、cGMP 依存性チャネルを開閉させ、温度情報が伝達されると考えられている。

低温耐性現象とは、例えば、20℃で飼育された個体を 2℃の低温に 2 日ほど静置すると死滅するのに対して、15℃で飼育された個体は 2℃に 2 日置かれても生存できる現象である。この現象において、温度情報は頭部の光受容ニューロン (ASJ) で受容され、ASJ のシナプスからのインスリンの分泌を引き起こす (図 1)。ASJ 感覚ニューロンにおける温度情報伝達には 3 量体 G タンパク質、グアニル酸シクラーゼと cGMP 依存性チャネルが関与することから、哺乳類の視覚における光情報伝達に類似した分子経路で温度が受容されると考えられる。3 量体 G タンパク質の上流に存在するであろう温度受容体はまだ見つかっていない。低温耐性において、ASJ 感覚ニューロンから分泌されたインスリンは、腸や神経系で受容されることで、脂質の構成率を変化させ低温耐性が制御されている。さらに、精子が低温耐性に関与することが分かってきており、腸がステロイドホルモンを介して精子に働きかけ、さらに、精子が頭部の ASJ 温度受容ニューロンをフィードバック調節することが見つかった (図 1)。

参考文献:

- ・大西 憲幸、久原 篤 **比較生理生化学** 29: 112-120 (2012)
- ・久原 篤、宇治澤 知代、太田 茜 **比較生理生化学** 32: 67-75 (2015)

・3量体Gタンパク質を介して温度を感知



概日時計による体温の制御

(Body temperature control by the circadian clock)

嶋谷 寛之、土居 雅夫

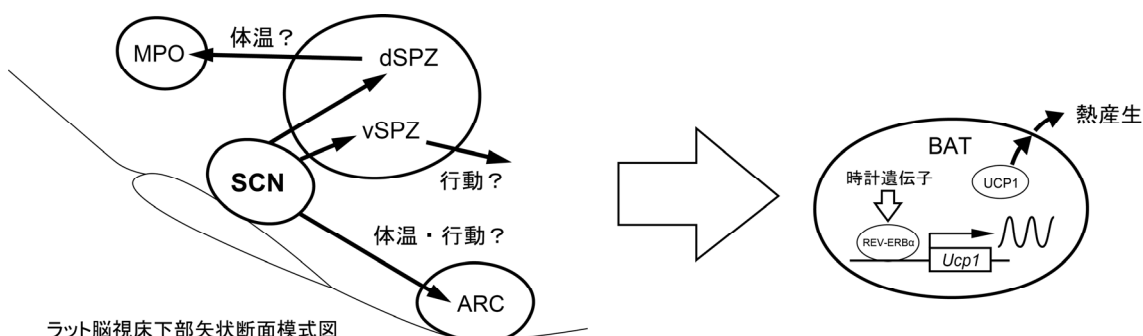
(京都大学大学院 薬学研究科)

恒温動物の体温はヒトの場合も含めて顕著な概日変動を示す。体温の日内変動は活動量の変化に伴う副次的な反応ではなく、活動が拘束された個体においても体温の日内変動は維持される[1]。哺乳類の体内時計の最高位中枢は脳視床下部の視交叉上核 (SCN) にあり、SCN を外科的に破壊すると体温のリズムは消失する。SCN からの神経投射の 7 割以上は SCN 背尾側に位置する室傍核下部領域 (SPZ) に終わる。ラットにおいて SPZ 背側領域 (dSPZ) を破壊すると体温リズムの振幅が顕著に弱まる[2]。一方、SPZ の腹側領域 (vSPZ) の破壊は活動リズムと睡眠覚醒リズムを減弱させるが体温には影響を与えない[2]。

SCN による体温の制御は活動や睡眠の制御とは異なる神経路を介して行われると考えられている。SCN と弓状核 (ARC) を結ぶ神経路を切断した場合には体温と活動の両方のリズムが損なわれるという報告がある[3]。SCN からの出力とそれに関わる分子機序は未詳な点が多いが、最終的に褐色脂肪組織 (BAT) などの活性を制御することによって体温を制御する可能性がある。時計関連遺伝子 *Rev-erba* の欠損マウスでは BAT 内の *Ucp1* 遺伝子の発現異常を伴って体温の日内変動が減弱する[4]。ヒトについては、家族性睡眠相後退症候群の家系において時計遺伝子 *Cry1* の変異が体温の日内変動の低下を惹起することが示されている[5]。

参考文献:

- [1] Gander PH et al. *J. Biol. Rhythms*. 1: 119-135 (1986)
- [2] Saper CB et al. *Trends Neurosci*. 28: 152-157 (2005)
- [3] Buijs FN et al. *eNeuro* 4: e0028 (2017)
- [4] Gerhart-Hines Z et al. *Nature* 503: 410-413 (2013)
- [5] Patke A et al. *Cell* 169: 203-215 (2017)



褐色脂肪組織 (Brown Adipose Tissue; BAT)

山田 哲也

(東北大学大学院 医学系研究科)

BATは脱共役タンパク質(uncoupling protein-1(UCP-1))の発現に特徴づけられ、熱産生に特化した組織である。通常、ミトコンドリアでは電子伝達系により内膜をはさんで作られた電位勾配を利用し、ATP合成酵素によってATPが産生される。UCP1はミトコンドリアの内膜にあってプロトン輸送体として働き、この電位勾配を消失させることにより電子伝達系とATP合成とを脱共役する蛋白であり、脱共役の際に熱としてエネルギーを放散する役割をもつ。BATによる熱産生は、主に交感神経刺激と甲状腺ホルモンによる調節を受けている。交感神経刺激は、2型甲状腺ホルモン脱ヨード酵素(補足1)の活性を増強するので、その点からしても交感神経によるBATの熱産生調節が重要と思われる。

これまでBATは、げっ歯類やヒト新生児に特異的に存在するものとされていたが、最近ヒト成人においても機能的に活発なBATが存在することや、BATの量や活性が低いと肥満に繋がる可能性があることが報告され、注目を集めている。

(補足 1) 2 型甲状腺ホルモン脱ヨード酵素

この酵素により甲状腺ホルモンであるサイロキシン(T4)は、5'の位置のヨードが取り除かれて、活性型甲状腺ホルモンであるトリヨードサイロニン(T3)に転換される。

参考文献:

- ・Cypess AM et al. *N. Engl. J. Med.* 360: 1509-1517 (2009)
- ・Saito M et al. *Diabetes* 58: 1526-1531 (2009)

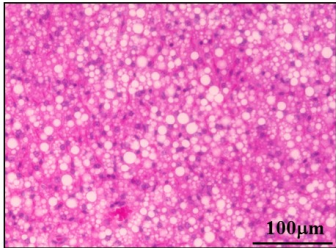
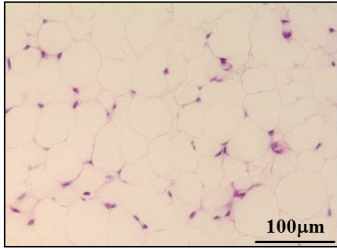
	褐色脂肪組織 (brown adipose tissue: BAT)	白色脂肪組織 (white adipose tissue: WAT)
		
分布	肩甲骨周囲など	皮下、腹腔内
形態・構造	多房性の小脂肪滴 ミトコンドリアが豊富 血流が豊富	単房性の大脂肪滴 扁平な核が偏在
機能	UCP1を介した代謝的熱産生 寒冷時の体温維持 摂食時の熱産生	エネルギーの貯蔵と放出 アディポサイトカインの分泌 (Leptin, Adiponectin, TNFα, etc.)

図1 褐色脂肪組織と白色脂肪組織の違い

ベージュ脂肪細胞 (Beige adipocyte)

酒井 寿郎

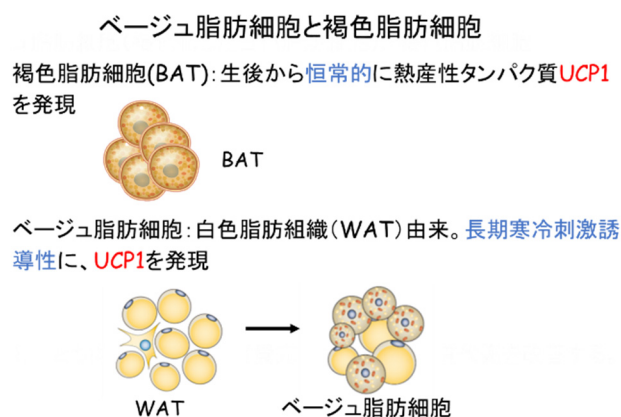
(東京大学 先端科学技術研究センター・
東北大学大学院 医学系研究科)

ブライト脂肪細胞とも呼ばれる。熱産生を行うが褐色脂肪細胞とは、由来の異なる第二の熱産生細胞である。褐色脂肪細胞と同様に、ベージュ脂肪細胞は活発に熱を産生し、エネルギーを消費することから、肥満・生活習慣病の治療標的として関心が高まっている。げっ歯類では、褐色脂肪細胞は胎仔より存在するのに対し、ベージュ脂肪細胞は生後、長期の寒冷刺激に対して皮下の白色脂肪組織内で誘導されてくる。げっ歯類ではおびただしい褐色脂肪細胞がおもに肩甲骨間に局在するが、ヒトにおける幼児期を過ぎた後の褐色脂肪細胞の有無は長らく不明であった。近年 FDG-PET により成人でも鎖骨上窩や頸部、大動脈傍部に局在することが見出され、さらにヒトでの褐色脂肪細胞とげっ歯類における寒冷刺激誘導性のベージュ脂肪細胞との間に分子マーカー発現の共通性が見いだされた。組織学的には、褐色脂肪細胞同様に小さい脂肪滴が多房性の形状をとり、ミトコンドリアに富んだ褐色調の細胞で UCP1 を高く発現する。細胞系譜的には褐色脂肪細胞は Myf5 陽性の骨格筋分化マーカーを発現する細胞から分化するのに対して、ベージュ脂肪細胞は Myf5 陽性ではない細胞由来であり、ベージュ脂肪細胞は褐色脂肪細胞と細胞の由来も分布も異なる。

生理学的には褐色脂肪細胞が急性の寒冷環境変化への急性応答を担うのに対して、ベージュ脂肪細胞は長期の寒冷環境に対する個体の慢性適応を担う役割を担うという時系列的に異なった役割をしていると考えられる。ベージュ脂肪細胞が誘導されるメカニズムとしては、長期の寒冷刺激や細胞内の cAMP が増加するような刺激である。核内受容体で脂肪細胞のマスターレギュレーター PPAR γ の合成アゴニスト TZDs によって効率的にベージュ化が誘導される。これらの刺激がどのようにクロストークしているかまだそのメカニズムは不明なところが多い

参考文献:

- ・Wu J et al. *Cell* 150: 366-376 (2012)
- ・Inagaki T, Sakai J & Kajimura S. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 17: 480-495 (2016)



摂食と体温調節 (Food intake and thermal regulation)

山田 哲也

(東北大学大学院 医学系研究科)

食物摂取過多と活動量低下が体重増を引き起こすことは自明の理であるが、余剰に摂取した食物のエネルギー分と活動によって消費したエネルギーの差分だけ、単純に体重が増加するわけではない。なぜなら、個体の体重は、エネルギー摂取(=食事)とエネルギー消費(=基礎代謝(60%) + 適応性熱産生(10%) + 身体活動(30%))のバランスによって規定されているからである。適応性熱産生には、寒冷誘発性熱産生と食事誘発性熱産生がある。環境温度の低下に対応し、体温保持の為にされる寒冷誘発性熱産生は、骨格筋による“ふるえ熱産生”と褐色脂肪組織(brown adipose tissue; BAT)による“非ふるえ熱産生”によって担われている。一方、エネルギー摂取に対応して生じる食事誘発性熱産生は、BAT によって担われている。

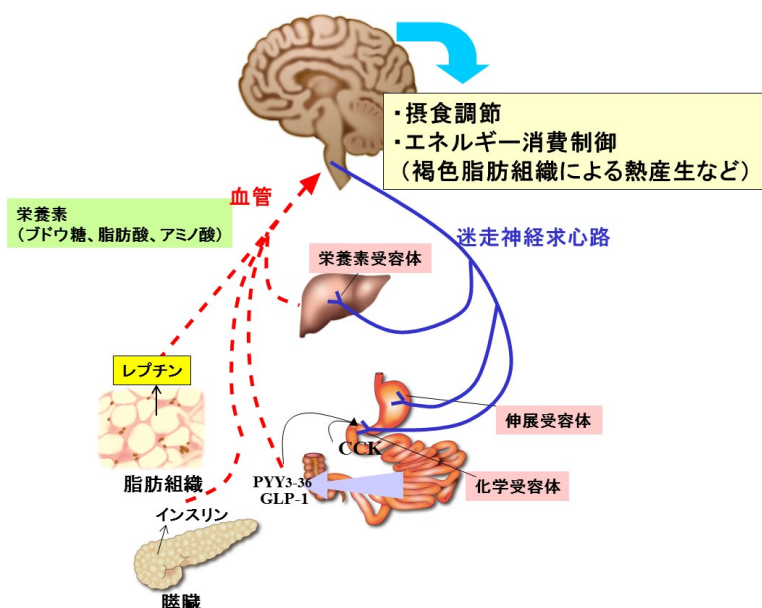
脳(主には視床下部)は入力される種々のエネルギー代謝情報に対応して自律神経活性を調節しており、BAT を支配する交感神経もその例外ではない。例えば、レプチンは、主に白色脂肪組織(white adipose tissue; WAT)から分泌され、血流を介して脳(主に視床下部)に作用し、“食欲抑制”や“交感神経の活性化を介して BAT の食事誘発性熱産生の増加”などを引き起こすアディポカインである。その産生は WAT の中性脂肪の蓄積(=貯蔵エネルギー量)増加に相関して増えるため、エネルギーの過剰摂取に対して体重増加を抑制するというネガティブフィードバック機構として役立っている。実際、レプチン遺伝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。

参考文献:

・ Tseng YH, Cypess AM & Kahn CR. *Nat. Rev. Drug Discov.* 9: 465-482 (2010)

・ Rafael J & Herling AW. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 278: R790-795 (2000)

図 摂食および熱産生の調節機構



Yamada T et al *Pharmacol Ther.* 2008;117(1):188-98.より引用改変

インフラマソーム (Inflammasome)

唐澤 直義、高橋 将文

(自治医科大学 分子病態治療研究センター)

インフラマソームは主に自然免疫細胞を中心に発現し、感染や傷害に伴う危険シグナルに応答して炎症の惹起を制御する細胞内の分子複合体である。典型的には Nod 様受容体などのパターン認識受容体、アダプター分子 Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (ASC)、システインプロテアーゼであるカスパーゼ 1 から構成され、危険シグナルに応答して巨大な分子複合体を形成することで、カスパーゼ 1 活性化の反応の場としての役割を果たしている。カスパーゼ 1 はもともと IL-1 β 変換酵素 (ICE) として同定された酵素であり、その活性化は炎症性サイトカイン IL-1 β や IL-18 を成熟型へとプロセッシングする。さらに、ガスダーミン D (GSDMD) を切断することで細胞膜孔を形成させ、細胞質成分の流出を伴う細胞死である Pyroptosis を引き起こし、成熟型となった炎症性サイトカインを放出することで、炎症応答を惹起する。

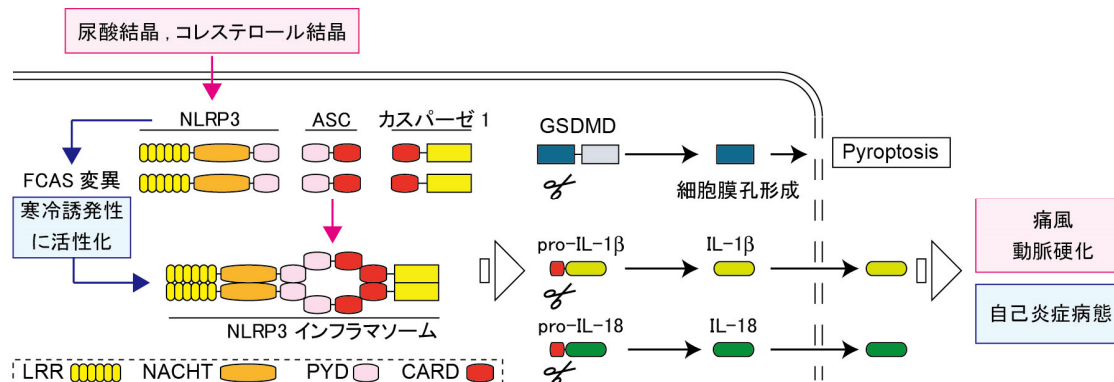
インフラマソーム形成に関わるパターン認識受容体はいくつかの種類が知られており、それぞれ異なった危険シグナルを認識する。特に、NLRP3、ASC、カスパーゼ 1 から構成される NLRP3 インフラマソームは、尿酸結晶やコレステロール結晶などの感染が関与しない無菌性の危険シグナルによっても活性化されることから、痛風や動脈硬化など、さまざまな病態における炎症の惹起機序として注目されている(図 1)。

一方、NLRP3 遺伝子の機能獲得型変異を原因とする自己炎症疾患としてクリオピリン周期熱症候群(CAPS)が知られており、その軽症型には、家族性寒冷自己炎症症候群 (FCAS) が含まれる。FCAS 患者においては寒冷誘発性に IL-1 β 産生が引き起こされ、発熱や発疹などの自己炎症病態が出現する。CAPS の治療として、本邦では 2011 年より高額なバイオ医薬品である完全ヒト IL-1 β 中和抗体(カナキマブ)が使用されているが、今後、より廉価な治療薬の開発が期待されている。

参考文献:

- ・Lamkanfi M & Dixit VM. *Cell* 157: 1013-1022 (2014)
- ・Karasawa T & Takahashi M. *J. Atheroscler. Thromb.* 24: 443-451 (2017)

図 1 無菌性炎症を制御する分子複合体 NLRP3 インフラマソーム



マクロファージ (Macrophage)

武田 憲彦

(東京大学大学院 医学系研究科)

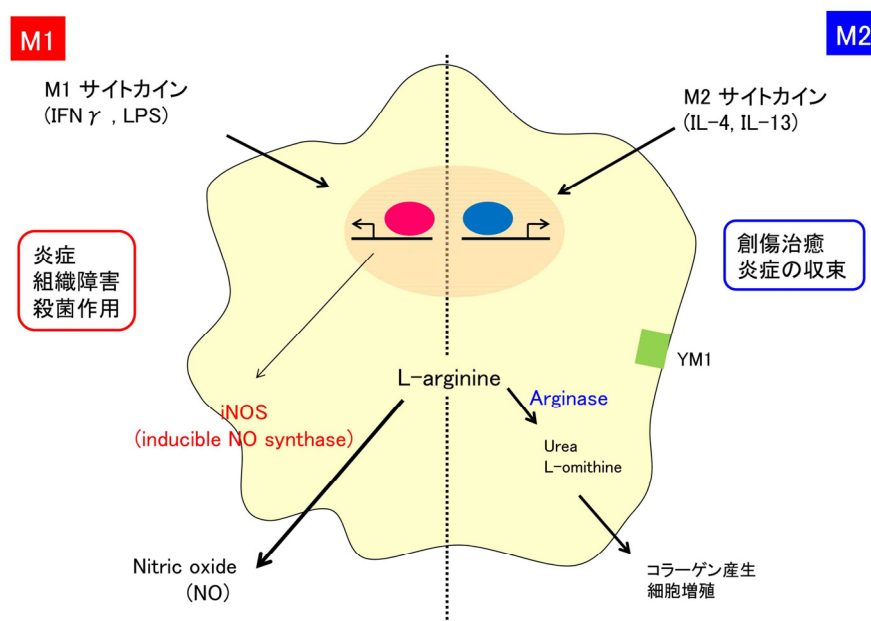
感染、組織損傷など生体への侵襲は、局所的または全身性に急性炎症を引き起こす。発赤、腫脹、疼痛および熱感は炎症の四徴と呼ばれ、急性炎症部位では局所的な温度上昇が引き起こされる。マクロファージは自然免疫系において中心的な役割を果たし、サイトカイン分泌や貪食作用を介して病原体、異物除去を司っている。

活性化したマクロファージは $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ などの炎症性サイトカインや、一酸化窒素 (Nitric oxide, NO) をはじめとする炎症メディエーターを放出する。NO はアミノ酸 L-arginine を基質として誘導型 NO 産生酵素 (inducible NO synthase; iNOS) により産生される。近年マクロファージには炎症惹起型(いわゆる M1 型)および炎症抑制型(M2 型)などの亜集団が存在することが明らかになってきた。興味深いことに M2 マクロファージでは、L-arginine を基質とする酵素 Arginase1 が発現し、iNOS と共通の基質利用において競合関係にある。即ち iNOS・Arginase1 のバランスが炎症プロセスの活性化とその修復過程において重要な役割を果たしている。

急性炎症に対してアイシングが行われるように、温度環境は炎症プロセスと密接な関係があると考えられ、今後その分子機構の解明が期待されている。

参考文献:

- ・Takeda N et al. *Genes Dev.* 24: 491-501 (2010)
- ・El Kasmi KC et al. *Nat. Immunol.* 9: 1399-406 (2008)



アストロサイトによる体温調節 (Thermoregulation by astrocyte)

田中 光一

(東京医科歯科大学 難治疾患研究所)

感染や炎症による体温上昇に、アストロサイトの RANKL (receptor-activator of NF- κ B ligand) に対する受容体 RANK が関与することが知られている。しかし、生理的な体温調節にアストロサイトがどのように関与しているかは、ほとんどわかっていない。近年、中枢神経の全てのアストロサイトに人工リガンド (clozapine-N-oxide) 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、マウスの体温が約 3 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濃度変化であることから、これらの結果は、アストロサイトが生理的な体温調整に関与している可能性を示唆している。しかし、どの脳部位のアストロサイトが、どのような機序で生理的な体温調節に関与しているのかは、不明である。

参考文献:

- Hanada R et al. *Nature* 462: 505-509 (2009)
- Aguihon C et al. *J. Physiol.* 591: 5599-5609 (2013)

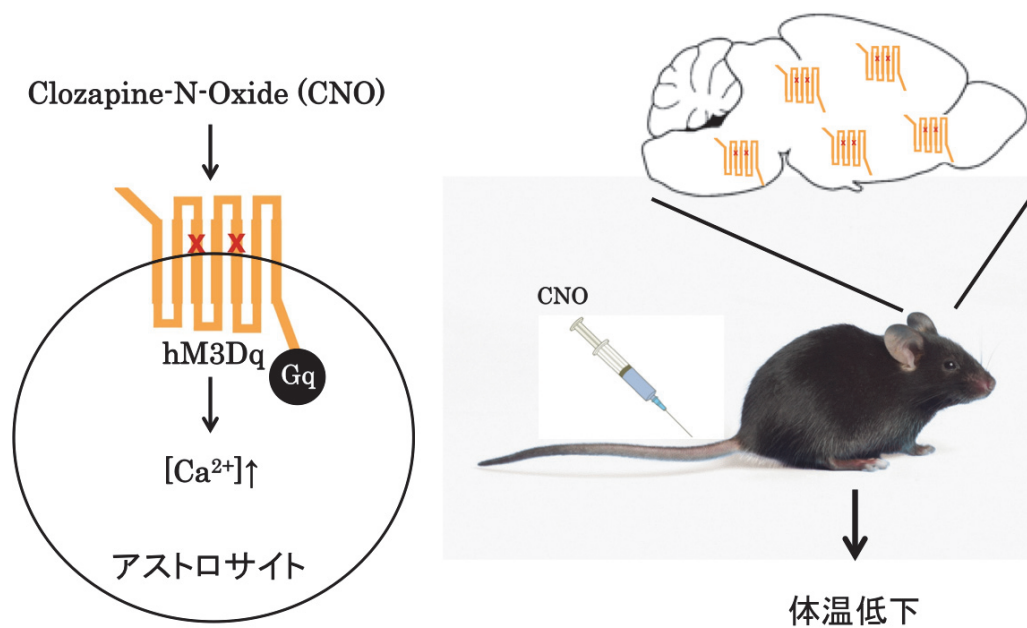


図1 アストロサイトに発現させたデザイナー受容体 (hM3Dq) の活性化による体温低下

一次体性感覚野 (Primary somatosensory cortex)

江藤 圭
(生理学研究所)

一次体性感覚野(S1)は大脳皮質の一部であり、触覚、痛みなどの感覚情報に加え温度情報処理に寄与する。末梢で受容された温・冷感などの温度情報は、脊髄、視床を経由し S1 へと伝達される。ヒトにおいては手の温・冷刺激により S1 の脳活動が惹起される。また、S1 領域の電気刺激により温度感覚が惹起され、一方で、同領域の損傷により温度感覚が消失する。げっ歯類の S1 では皮膚に対する温刺激によって活動が増加する細胞と減少する細胞が存在する。また、Milenkovic らは *in vivo* ホールセルパッチクランプ法を用いた解析により前肢の冷刺激により S1 神経細胞活動が亢進することを示すとともに、冷刺激に応じた飲水学習の成功率の上昇は S1 の傷害によって減弱することを示した。これらのことはヒトやげっ歯類において S1 が温・冷感覚の受容に重要な役割を担うことを示唆している。しかし、個々の神経細胞が温・冷感情報をどのように処理するのかは不明である。温・冷刺激にそれぞれ選択的に応答する細胞があるのか、温刺激に応答する細胞は冷刺激への応答で活動が減弱するか、温・冷刺激の両方に応答する細胞があるかなど、温と冷情報の細胞レベルでの応答については未だ不明な点が多く残っており、今後の研究が待たれる。

参考文献:

・Milenkovic N et al. *Nat. Neurosci.* 17: 1560-1566 (2014)

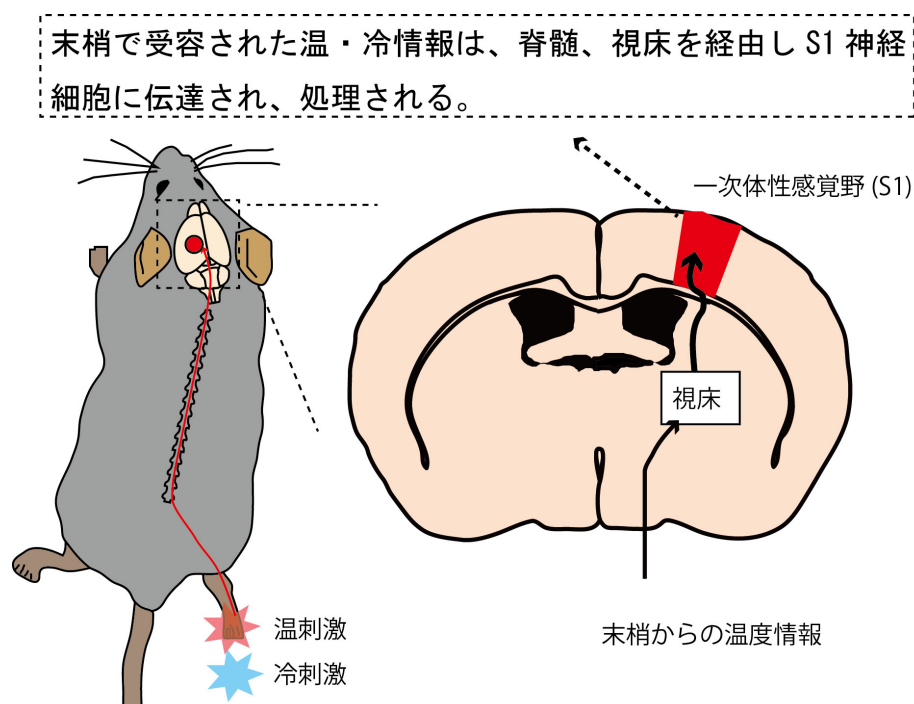


図 S1 における温度センシング

温度と痛み・しびれの関係 (Temperature and pain/dysesthesia)

中川 貴之

(京都大学 医学部附属病院)

一般に、43℃以上の熱刺激や 17℃以下の冷刺激は痛みを発生させる。この温度による痛みのセンサーとして、熱刺激には TRPV1、TRPV2、TRPM3 やアノクタミン 1 チャンネル (ANO1) などが、冷刺激に対しては TRPA1 や、一部条件下では TRPM8 などのイオンチャンネルが関与すると推定されている。これらのイオンチャンネルは、主に侵害受容を担う一次感覚神経(主に無髄 C 線維)や、一部、皮膚角化細胞にも発現し、外界からの温度刺激を感知する(図1)。一方、一次感覚神経周辺に炎症が発生すると、これらのイオンチャンネルが、リン酸化による機能亢進、発現量増加、神経末端での細胞膜局在量の増加などにより感作し、熱あるいは冷刺激に対する痛覚過敏やアロディニア(異痛症)発生の原因となる。

また、四肢末端の血流量が低下すると、冷え性のように痛みやしびれを感じ、糖尿病性神経障害や末梢閉塞性動脈疾患などの症状にも関与する。このとき、末梢血流障害による低酸素負荷により、酸素応答性のプロリン水酸化酵素 (PHD) の抑制を介して TRPA1 が感作し、TRPA1 の内因性アゴニスト活性酸素種 (ROS) に対する応答性が高まった結果、痛みやしびれが発生することが報告されている。一方、TRPA1 の温度感受性には種差があり、特にヒト TRPA1 が冷感受性を示すかについては未だに議論が分かれているが、PHD 抑制により感作した TRPA1 は、ROS 産生を介して間接的に冷感受性を示すことが明らかにされている。大腸癌等に用いられる白金系抗がん剤のオキサリプラチンは、副作用として冷刺激により突如しびれを感じるという急性末梢神経障害を必発するが、このメカニズムにも PHD 抑制による TRPA1 感作が関連している(図1)。

参考文献:

- So K et al. *Sci. Rep.* 6: 23261 (2016)
- Miyake T et al. *Nat. Commun.* 7: 12840 (2016)

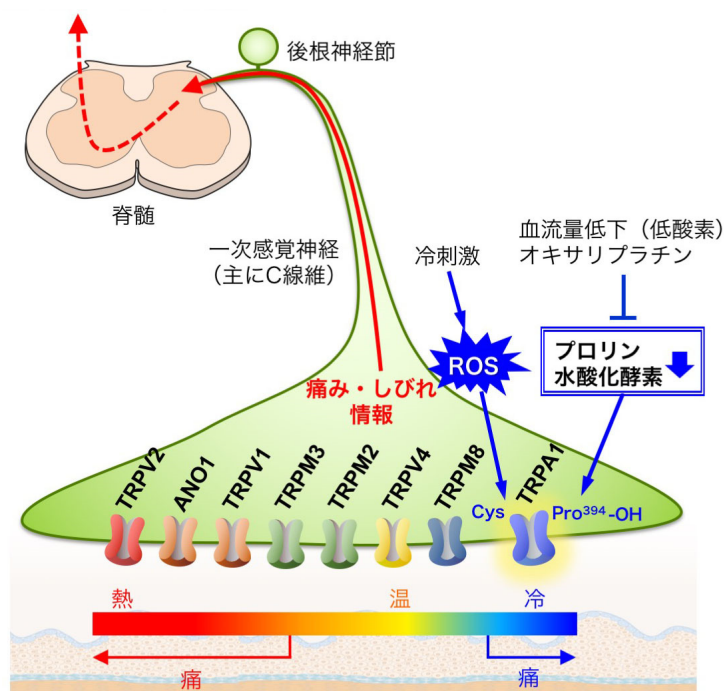


図1 温度による痛み・しびれの発生機構

皮膚での温度感知機構 (Skin thermal sensation)

神谷 厚範

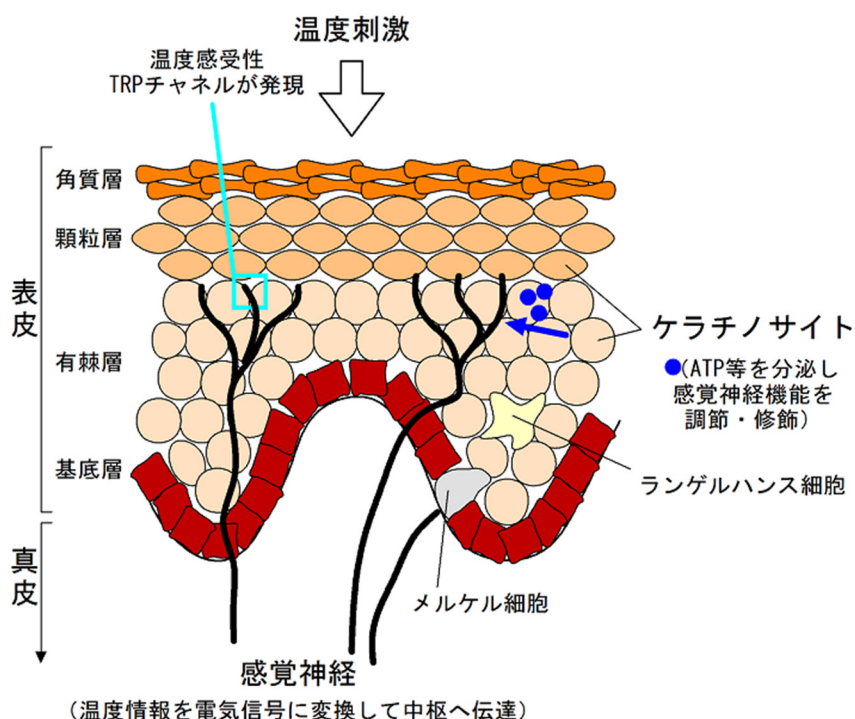
(国立循環器病研究センター)

皮膚での温度感知は、温度情報が皮膚感覚神経の電気信号に変換される機構である。基本的には、感覚神経に発現する陽イオン透過性イオンチャネル(主に温度感受性 TRP チャネル)が温度刺激によって活性化し、神経の脱分極、電位依存性ナトリウムチャネルの活性化を経て、活動電位が発生して、その神経電気信号が中枢神経系(脊髄や脳)に伝達される。

TRP チャネルには、分子種毎に異なる活性化温度閾値・帯域があり、このうち、熱い温度で活性化するチャネル(TRPV1、TRPV2)、冷たい温度で活性化するチャネル(TRPM8、TRPA1)は感覚神経に発現し、表皮に分布する感覚神経の自由神経終末が温度を直接に感知すると考えられている。一方、温かい温度で活性化するチャネル(TRPV3、TRPV4)は、感覚神経よりも表皮ケラチノサイトに多く発現しており、温度を表皮ケラチノサイトが感知してATPを分泌して二次的に感覚神経を興奮させると考えられている。感覚神経の調節には、ATP の他、グルタミン酸、エピネフリン、ペプチド(CGRP 等)、サイトカインなどが関わる。TRP チャネルが温度刺激によって開口する構造生物学的メカニズムは未解明である。TRP チャネルは、温度以外に、多種リガンドや他の物理刺激にも応答する(多刺激受容体)。温覚は無髄C線維、冷覚は無髄C線維と有髄Aδ線維が伝達する。

参考文献:

- ・富永真琴 *顕微鏡* 46: 222-226 (2011)
- ・Mandadi S et al. *Pflügers Arch.* 458: 1093-1102 (2009)



胚発生と温度依存性 (Temperature dependency of embryogenesis)

野村 真

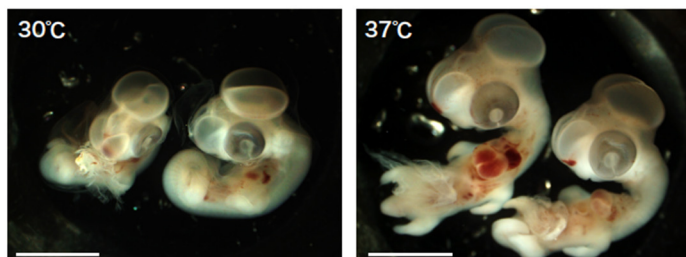
(京都府立医科大学大学院 医学研究科)

一般的に、動物の胚発生は外気温(胚体外の温度)の影響を受ける。例えば、ニワトリの胚発生は通常 38°C前後で進行するが、これより高温あるいは低温では胚発生が遅延あるいは停止する。一方、胚体外の温度が変化しても胚の発生速度を一定に保つ生物も存在する。さらに、胚発生が正常に進行するための温度(発生至適温度)は生物種によって大きく異なっている。

胚発生速度の温度依存性をコントロールするメカニズムとして、温度依存的な酵素活性や化学反応による代謝率の変化が候補としてあげられる。実際、線虫 *C. elegans* の初期胚では、受精後の細胞分裂の速度は外気温に依存して変化するが、この変化率は化学反応速度の予測式であるアレニウス式に一致している。さらに、温度依存的な遺伝子発現や酵素活性によって生物の表現型が変化する例もいくつか知られている。例えば、メラニン色素の合成にはチロシナーゼと呼ばれる酵素の活性が必要であるが、シャム猫やヒマラヤウサギは変異型のチロシナーゼを発現している。この変異型チロシナーゼは高温では活性を持たないが、低温では正常な酵素活性を持つため、耳や四肢、尾など体温が低い体の末端でメラニンが合成されて黒い模様が生じる。また、アフリカ南東部に生息するジャノメチョウは、季節によって成虫の羽の模様が変化する。これは、蛹の時期の温度によってホルモンの1種である 20-ハイドロキシエクダイソンの発現が変化することが原因である。また、爬虫類における温度依存的な性決定機構は、胚の時期のアロマターゼの発現が胚体外の温度によって変化することによってコントロールされている。一方、胚発生の温度補償性については不明な点が多い。ショウジョウバエの胚発生では、温度が変化しても細胞の分化を制御する Notch シグナルの活性を一定に保つ補償機構が存在することが知られている。こうした温度に対する補償機構が他のシグナル伝達機構にも存在するのか、さらに、胚発生の温度依存性の違いがこうした補償機構の違いによるものなのか、解明すべき問題は多い。

参考文献:

- ・Begasse ML et al. *Cell Rep.* 10: 647-653 (2015)
- ・Shimizu H et al. *Cell* 157: 1160-1174 (2014)
- ・スコット・F・ギルバート/デイビット・イーベル (正木進三 他訳) **生態進化発生学** (東海大学出版会)



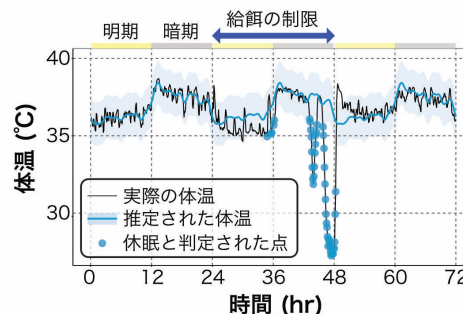
ニワトリの胚発生における胚体外温度の影響。E5 より 30°C、37°Cにて 24 時間孵卵を行った結果。低温での孵卵では胚発生の遅延が認められる。スケールバーはいずれも 5mm。

冬眠と休眠 (Hibernation and daily torpor)

砂川 玄志郎

(理化学研究所 多細胞システム形成研究センター)

冬眠や休眠は一部の哺乳類にみられる能動的な低代謝状態であり、全身の酸素消費量が低下し、熱産生も含めた代謝が抑制されることにより二次的に体温が低下する現象である(図)。このような能動的な低代謝は継続時間によって冬眠(数週間)と休眠(数日間)に分類されており、代表的な動物は前者はリス、コウモリ、クマそして後者はマウスなどが挙げられる。能動的な低代謝を呈する動物には次の4つの機能が備わっている。



マウスの休眠現象 (文献3より改変して作製)

①低代謝耐性: 冬眠・休眠中の動物の酸素消費量は基礎代謝(安静時の酸素消費量)を下回る。このため、体温維持・運動等の生命機能が抑制されるが、動物はこの致死的な状態から特に障害なく回復する。また、冬眠時の体重あたりの酸素消費量は動物の大きさに関わらず一定であることが知られており 0.03 ml/g/h 程度である[1]。

②低温耐性: 冬眠・休眠中の哺乳類は体温が外気温より数°C高い値にまで低下する[2]。動物の体が小さいほど、体積に対して体表面積が大きくなり、放熱による失熱の割合が大きくなり、体温を維持するために消費する酸素の割合が増加する。このため、小動物ほど代謝を低下させることによる利益が大きく、実際に多くの冬眠・休眠動物は 1kg 以下の哺乳類である。

③体温恒常性の抑制: 哺乳類は体温恒常性により体温を 37°C 前後に保たれているが、冬眠・休眠中はこの機構が抑制されることにより、低代謝が実現されている。冬眠動物はセットポイント(設定温度域)や熱産生感度(熱をどれだけ産生するか)が著しく低下しているが、休眠動物では熱産生感度の低下のみでセットポイントがほとんど変化しないことが明らかになっている[3]。

④低代謝状態における復温能: 冬眠・休眠中の動物は個体として最も代謝が低い状態から産熱し復温する機能を有している。また、復温には多大なエネルギーが必要であるにもかかわらず、冬眠動物は数日に1回の中途覚醒(inter bout arousal)とよばれる復温を冬眠期間中繰り返す。この機能はわかっていないが、2004年に熱帯地方に生息するサルの冬眠において、環境温度が一定以上になると、中途覚醒が見られないことから、受動的な体温上昇でも中途覚醒の機能は満たされることが示唆されている[4]。

参考文献:

1. Heldmaier G, Ortmann S & Elvert R. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 141: 317-329 (2004)
2. Bouma H.R et al. *J. Cell. Physiol.* 227: 1285-1290 (2012)
3. Sunagawa GA & Takahashi M. *Sci. Rep.* 6: 37011 (2016)
4. Dausmann KH et al. *Nature* 429: 825-826 (2004)

精子形成における温度依存性 (Temperature-dependent spermatogenesis)

佐藤 陽子

(東亜大学 医療学部医療工学科)

多くの哺乳類において、精細胞はその発生課程で体細胞より 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。哺乳類において腹腔内に精巣が留まる停留精巣では、多くの動物で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不明である。一方、ゾウ、単孔類のカモノハシ、鯨類のイルカは停留精巣であるにも関わらず、正常な精子形成を示す特異的な動物であることが知られている。精細胞は、その発生の過程で、分化、増殖、細胞死のいずれかの運命を選択する。その運命の選択は、精細胞同士、または、精細胞を支持するセルトリ細胞、間質で精子形成に重要な役割を果たすホルモンを分泌するライディッヒ細胞などの体細胞とのコミュニケーションの上で確定すると思われ、温度はこれら個々の精巣の細胞に影響を与え、これらのコミュニケーションを調整している可能性が考えられる。正常な精子形成を行うための温度の閾値については、げっ歯類では、精子形成段階により熱ストレスの影響が異なることが知られている。また、動物により陰囊内の精巣温度は異なっており、精子形成に最適な温度は異なる事が考えられる。

参考文献:

- ・Chowdhury AK & Steinverger E. *Am. J. Anat.* 115: 509-24 (1964)
- ・Short RV et al. *J. Reprod. Fert.* 13: 517-536 (1967)
- ・Lin M & Jones RC. *J. Anat.* 196: 217-232(2000)
- ・Rommel SA et al. *Anat Rec.* 232: 150-156 (1992)
- ・Koçak I et al. *Asian J. Androl.* 4: 183-201(2002)
- ・Chowdhury AK & Steinverger E. *J. Reprod. Fert. Anat.* 20: 205-212 (1970)

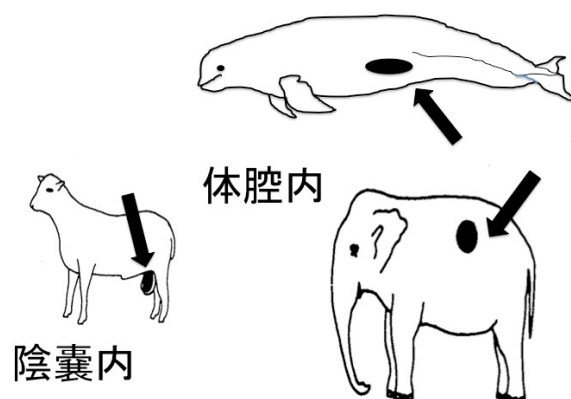


図1 精巣の位置

鳥類における精巣の温度感受性

(Thermal sensitivity of spermatogenesis in avian)

中村 隼明、平野 高大

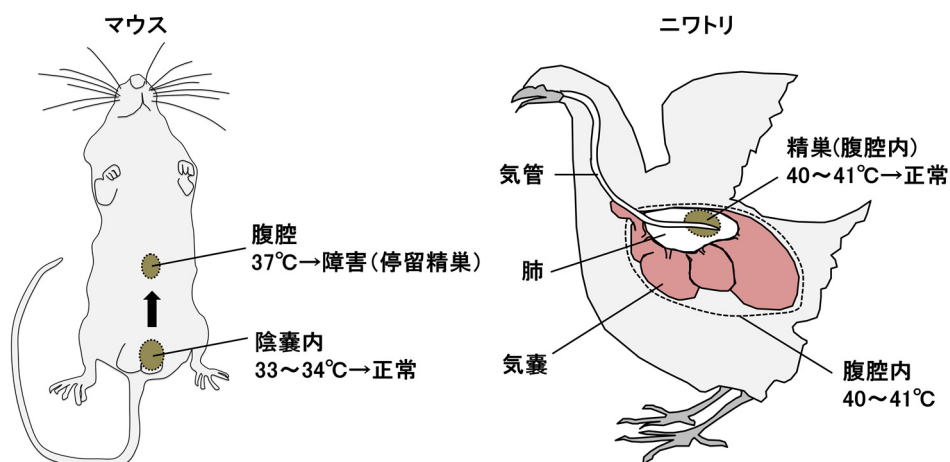
(基礎生物学研究所)

ほ乳類の精巣は陰嚢内に存在し、深部体温(37℃)よりも3～4℃低い温度で正常な精子形成が起こるが、先天的に腹腔内に留まる停留精巣では精子形成が著しく障害される。これは、進化の過程で恒温性を獲得するに際して、精子形成が何らかの問題に直面し、精巣を冷却する器官を作り出すことでそれを解決したと考えられる。

これに対して、ほ乳類同様に進化の過程で恒温性を獲得した鳥類では精巣が腹腔内に留まったまま正常な精子形成が起こる。鳥類の深部体温はほ乳類より高温(40～41℃)であり、麻酔下の測定では鳥類の精巣温は深部体温と同程度であると報告されている。一方で、鳥類が独自に発達させた呼吸器官である気嚢は、精巣を覆うように位置しており、これが精巣を冷却する可能性が指摘されている。これまでに、外科的な手術によって気嚢を除去する実験が行われており、影響がないとすると報告と、乳類の停留精巣に類似した変化を引き起こしたとする報告もある。しかし、先行研究では平常の活動状態(呼吸状態)での精巣温が測定されていないことや、気嚢が構造的に複雑で手術の難易度が高いといった課題も残されている。このことから、鳥類の精巣は高温環境で精子形成が起こるとする定説が定着しているが、これについては再検討の余地がある。現在、マウスにおいて開発された *in vitro* 精巣器官培養法を鳥類に応用し、他臓器の影響のない条件下の温度感受性を検討することによって、上記定説の再検討に挑戦している。

参考文献:

- ・Beaupré EC et al. *Biol. Reprod.* 56: 1570-1575 (1997)
- ・Herin AR et al. *Am. J. Physiol.* 198: 1343-1345 (1960)
- ・北沢作治郎 帯広畜産大学学術研究報告 11: 43-55 (1979)



ほ乳類と鳥類の精巣温と精子形成

昆虫の休眠と温度 (Insect diapause & temperature)

塩見 邦博

(信州大学 学術研究院 繊維学系)

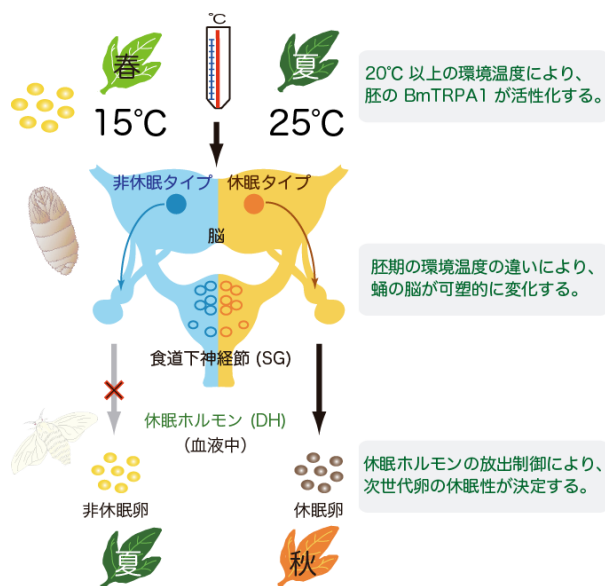
外温性で体サイズの小さい昆虫は、生息環境に大きな温度差が生じた場合、温度走性や回避などの行動を取ったり、休眠など生理状態の変化によって、的確に体温を調節したり耐性を発揮したりする能力を進化させている。休眠する昆虫は、通常の発生を停止し、休眠間発育と呼ばれる独自の代謝系を発動させることにより、厳寒や酷暑などの不良環境を生き残ることが可能になる。また、昆虫種により休眠する発育ステージと覚醒する条件が決まっており、たとえ集団レベルで発育ステージにズレが生じても、休眠覚醒により一斉に通常の発生を再開し、生殖機会を増加させることができる。休眠性を決定する環境条件として代表的なものは、日長(光周期)、温度、湿度や栄養条件などであり、これらの変化により、その個体のそれ以降の発育ステージや次世代以降での休眠性が決定する。

カイコ (*Bombyx mori*) は、産下 2~3 日の胚発生の初期に細胞分裂を停止し、卵(胚)のステージで休眠する代表的な昆虫である。休眠を開始した卵は、酸素消費量が極端に低下し、休眠間発育と呼ばれる独自の糖代謝系を作動させる。二化性のカイコでは、母蛾の胚期の温度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℃では非休眠卵となり、約 1 週間で卵が孵化する。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。また、25℃を夏、15℃を春と考えればその適応的意義が見てとれる。

休眠卵を産下するタイプでは、母蛾の胚期に温度センサーの BmTRPA1 が活性化し、これにより蛹期に食道下神経節 (SG) で合成された休眠ホルモン (DH) の血液中への放出が促進される。血液中の DH は、卵巣の DH 受容体に作用することにより休眠卵を誘導する。一方、非休眠卵を産下するタイプでは、BmTRPA1 の活性化が起こらず、DH の放出は抑制されている。また、DH の放出は脳により制御されている。

参考文献:

- ・Sato A et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111: E1249-E1255 (2014)
- ・塩見邦博 *蚕糸・昆虫バイオテック* 84: 119-126 (2015)



温度生物学に関わる研究手法

蛍光性分子温度計 (Fluorescent molecular thermometer)

原田 慶恵

(大阪大学 蛋白質研究所)

従来の温度測定法であるサーモグラフィや熱電対の空間分解能はせいぜい 10 μm であり、細胞内では機能できないのに対して、光による検出が可能な蛍光性分子温度計は分子レベルで機能するため、細胞内の温度測定を実現しうる。細胞内に導入した蛍光性温度センサーを定量的な蛍光イメージング法により検出することで、単一生細胞内の平均温度変化や局所温度変化、温度分布などの観察が可能である。

一般にあらゆる蛍光分子はその緩和過程の一種である内部変換の温度依存性から環境(溶媒)温度の上昇により蛍光量子収率が低下する性質を有している。しかしこれらの変化は微細であるため、細胞内温度変化の検出原理には不向きであり、温度依存的な高分子の相転移や構造変化といった性質を利用するものが多い。近年、細胞内の温度測定を目指して数多くの分子温度計が開発されているが、大きく分類すると、小分子、人工高分子(ポリアクリルアミド:別項参照)、生体高分子(蛍光タンパク質:別項参照)、無機ナノ粒子(量子ドット・ナノダイヤモンド窒素空孔)などがある[1,2]。これらの蛍光性温度センサーを用いることで、細胞内の温度が時空間的に変動することが解明されつつあるが、その詳細や意義の解明にはさらなる高感度性、高選択性を有する分子温度計の開発が求められている。

参考文献:

[1] Brites CDS et al. *Nanoscale* 4: 4799-4829 (2012)

[2] Bai T & Gu N. *Small* 12: 4590-4610 (2016)

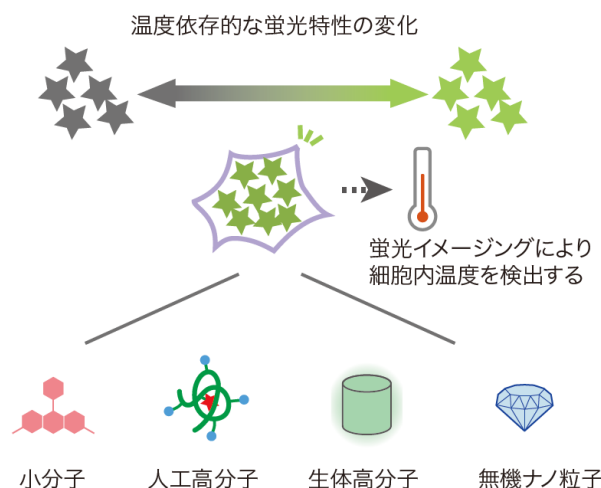


図. 蛍光性分子温度計の概念図

蛍光寿命イメージング顕微鏡を用いた細胞内温度イメージング (Intracellular temperature imaging using fluorescence lifetime imaging microscopy)

原田 慶恵

(大阪大学 蛋白質研究所)

一般に、蛍光プローブを利用して対象の細胞内分布をイメージングする場合、濃度変化にも大きく影響を受ける蛍光強度は測定パラメータとして必ずしも適切ではない。一方、蛍光寿命は蛍光プローブそのものの性質に依存し、その濃度には影響を受けにくい。蛍光性ポリマー温度センサー (FPT) は、温度が上昇すると蛍光強度が増加するだけでなく、蛍光寿命が延長する。細胞内の蛍光寿命測定には、最も正確な時間相関単一光子計数法 (Time-correlated single photon counting, TCSPC 法) による蛍光寿命イメージング顕微鏡 (Fluorescence lifetime imaging microscopy, FLIM) が適切である。通常、TCSPC-FLIM 法では、パルスレーザーによる照射と共焦点レーザースキャン顕微鏡による検出を組み合わせ、各ピクセルで得られる蛍光減衰曲線からその場所での平均蛍光寿命を算出し、それらを再構成することで蛍光寿命像として描画する。FLIM を用いた定常状態にある COS7 細胞内の蛍光性温度センサーの蛍光寿命イメージングの結果、核、ミトコンドリア、中心体といったオルガネラが周囲より高温を示した [1,2]。このような正確な温度分布の観察により、細胞機能と局所温度の関連が解明されることが期待される。

参考文献:

- [1] Okabe K et al. *Nat. Commun.* 3: 705 (2012)
- [2] 岡部弘基 *実験医学* 31: 1799-1805 (2013)

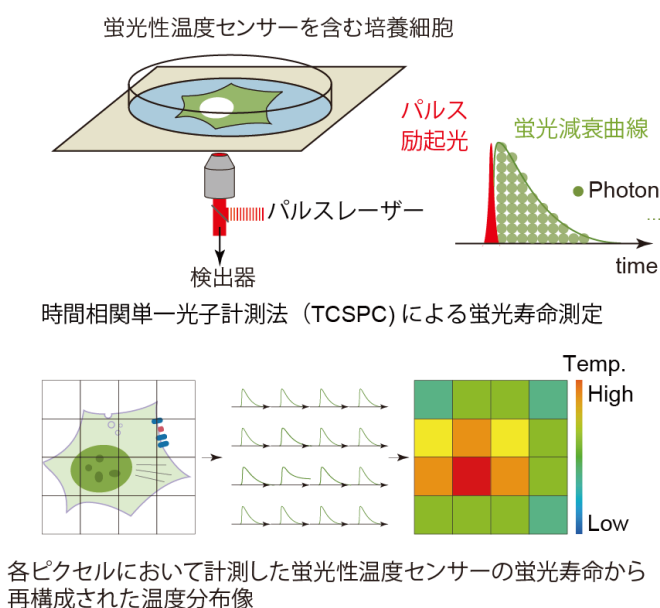


図. 蛍光寿命イメージング顕微鏡を用いた細胞内温度イメージング法

蛍光性ポリマー温度センサー (Fluorescent polymeric thermometer)

岡部 弘基

(東京大学大学院 薬学系研究科)

蛍光性ポリマー温度センサー (Fluorescent Polymeric Thermometer, FPT) [1,2] は優れた感度、選択性を有しており、細胞内の微細な温度変化計測のための強力なツールである。FPT は温度感受性ユニット、親水性ユニット、蛍光性ユニットから構成されている。温度センサーの水溶液が低温の際には、構造内の水分子の存在により環境応答性蛍光団である蛍光性ユニットの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した状態となる。これにより水分子はセンサー外へ排除され、強い蛍光を発する(図 1)。蛍光性ポリマー温度センサーはマイクロインジェクション法により細胞内へ直接導入するか、膜透過型センサー[2]を用いて細胞と培養することにより導入する。FPT は生細胞内においても溶液中と同様の温度応答を示し、これを一般的な蛍光顕微鏡を用いてイメージングすることにより、細胞内の温度測定を行うことができる。

細胞内における温度計測の感度は $0.05\text{--}0.2^{\circ}\text{C}$ 程度であり、また空間分解能は検出限界レベルである。FPT を用いた細胞内温度の計測法としては、単一細胞の全蛍光強度の積算値を指標とした平均温度の追跡法[3]や、蛍光寿命イメージング顕微鏡を用いた細胞内の温度分布イメージング法([1]、別項参照)などがある。

参考文献:

- [1] Okabe K et al. *Nat. Commun.* 3: 705 (2012)
- [2] Hayashi T et al. *PLoS ONE* 10: e0117677 (2015)
- [3] Gota C et al. *J. Am. Chem. Soc.* 131: 2766-2767 (2009)

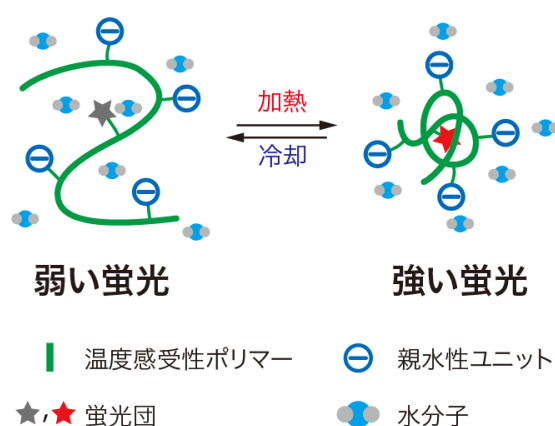


図. 蛍光性ポリマー温度センサー (FPT) の機能

遺伝的導入が可能な蛍光性温度センサー (Genetically encoded fluorescent thermometers)

中野 雅裕、永井 健治
(大阪大学 産業科学研究所)

遺伝的導入が可能な蛍光性温度センサーは、特定の細胞内小器官の温度(或いは温度変化)を測定できる利点がある。2013 年に温度によって構造変化するタンパク質と緑色蛍光タンパク質 GFP を組み合わせた tsGFPs が開発され、褐色脂肪細胞のミトコンドリアや骨格筋の小胞体からの熱産生を可視化したことに加え、ミトコンドリア内での温度の不均一性についても可視化できるようになった。また、2017 年には温度に対する感受性の異なる 2 つの蛍光タンパク質を組み合わせることで、gTEMP が開発された(図1)。gTEMP は tsGFPs よりも幅広い温度範囲が測定でき、且つ速い温度変化が測定可能である。つまり、哺乳類だけでなく植物や魚類など様々な生物種の熱動態や温度分布を細胞から個体レベルまで解析できるようになった。

今後はセンサーの温度に対する変化率や温度分解能の更なる向上が望まれる。また、細胞内カルシウムイオンや ATP といった他の因子の動態と温度の関係も明らかにしていくことも必要であろう。

参考文献:

- Kiyonaka S et al. *Nat. Methods* 10: 1232-1238 (2013)
- Nakano M et al. *PLoS ONE* 12: e0172344 (2017)

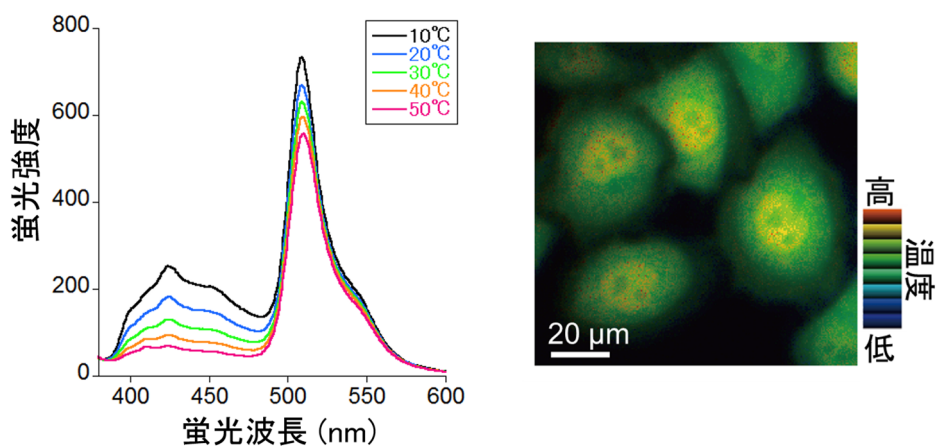


図1 gTEMP の各温度での蛍光スペクトル(左)と gTEMP を用いた HeLa 細胞の温度不均一性の可視化(右)

臓器局所での温度計測・温度操作

(Development of new devices for local temperature monitoring and control)

柴崎 貢志

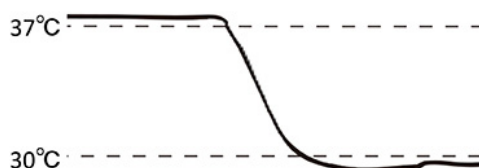
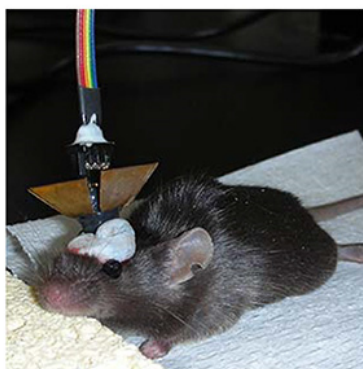
(群馬大学大学院 医学系研究科)

温度に関する研究を行う場合、生体局所での正確な温度計測は是非とも用いたい技術であろう。現在、この計測を行うためには2つの方法がある。一つは熱電対を用いる方法である。異なる材料の2本の金属線を接続して1つの回路(熱電対)をつくり、ふたつの接点に温度差を与えると、回路に電圧が発生するという現象がおきる。熱起電力は、組み合わせる金属の種類と両接点の温度差には依存するものの、構成するふたつの金属の形状と大きさには関係しないため、この現象を利用した多くの温度センサーが開発され、市販されている。しかしながら、熱電対は強度が弱く、生体内では体液により腐食が生じる問題があるため、自由行動下の *in vivo* 実験に用いることは非常に困難である。そこで、著者はサーミスター形式の温度センサーを開発した。サーミスター(thermistor)とは、温度変化に対して電気抵抗の変化の大きい抵抗体のことである。マイナス点として、臓器局所の温度計測用に代表される先端口径の小さなサーミスターでは温度誤差が大きくなってしまいう問題がある。そこで、その誤差を補償するフィードバック回路を開発し、用いることで、*in vivo* 実験においても耐久性に優れ、且つ、正確な温度計測を実現した。

著者は臓器局所の加温冷却が可能なデバイスも開発した。このデバイスには、ペルチェ素子を用い、*in vivo* 実験用に加工している。ペルチェ素子は、2種類の金属の接合部に電流を流すと、片方の金属からもう片方へ熱が移動するというペルチェ効果を利用した板状の半導体素子である。直流電流を流すと、一方の面が吸熱し、反対面に発熱が起こる。電流の極性を逆転させると、その関係が反転し高精度の温度制御に適している。我々はこの素子に放熱板を取り付け、さらにエレクトロスリッピングに装着可能なパーツとすることで、*in vivo* 実験を可能にした。

参考文献: 柴崎貢志ら 特許公開 2012-055675

局所臓器可変デバイス・装置を用いた脳冷却



微細加工技術による高感度熱センサーの開発

(Highly sensitive thermal sensor using microfabrication techniques)

小野 崇人

(東北大学大学院 工学研究科)

微細加工技術（補足 1）の発展に伴い、各種の物理量センサーはサブ mm $\sim\mu$ m オーダまで小型化できるようになった。サーミスタや熱電対も小型化できるようになり、昨今では単一細胞の熱計測が可能になっている。センサーの小型化による高感度化は熱容量の低減に寄与するところが大きい。センサーが計測対象に対して大きいと、熱容量の違いから計測したい微小対象物の温度がセンサーの温度と同じになってしまい、適切に計測することができない。また、従来のバルク計測は $10^5\sim 10^6$ 個の集団細胞を対象としており、単一細胞の挙動が細胞群の信号に埋もれてしまうため、単一細胞熱計測でのみ観察できる現象を観察することも小型センサーの利点である。

高感度熱センサーとして代表的な共振型熱センサーを用いて、単一褐色脂肪細胞の熱計測を行った。共振型熱センサーは、センサー本体の温度変化に応じて共振周波数が変化する現象を用いており、共振周波数変化から温度変化を換算することができる。褐色脂肪細胞へノルエピネフリン (NE) 刺激を行い、その前後での熱挙動を観察したところ、NE 刺激有りの状態でバルク計測と同様の緩やかで長時間の発熱が、また NE なしでも周期的にパルス状の発熱を行っていることがわかった。これらの単一細胞の熱計測を内外から行い、その結果を元に熱回路を計算することにより、いまだ明らかになっていない細胞内部の熱物性(特に熱抵抗や熱容量)を明らかにできることが期待される。

(補足 1) 微細加工技術： 元々半導体作製技術として用いられていた加工方法で、感光性ポリマー・エッチング・成膜を組み合わせることで作製した 2 次元構造体を積層させることで任意の構造体を作製することができる。

参考文献:

- ・Inomata N et al. *Appl. Phys. Lett.* 100: 154104 (2012)
- ・Inomata N et al. *Microsyst. Technol.* 23: 2873-2879 (2016)

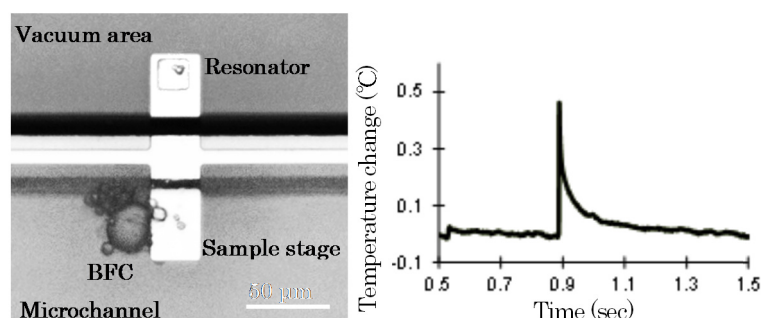


図 1 センサーに付着した褐色脂肪細胞(左)とパルス状発熱(右)

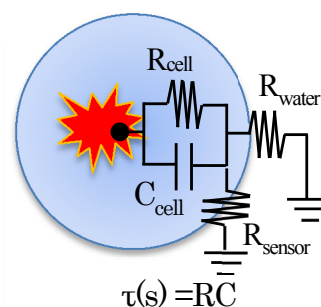


図 2 細胞の熱力学モデル

レーザー照射による細胞内局所加熱

(Heating of local area in living cells using laser irradiation)

岡部 弘基

(東京大学大学院 薬学系研究科)

細胞内の温度に着目した細胞機能の探索では、細胞内温度計測に加えて、細胞内温度の操作も必須の技術である。この場合、細胞内温度の操作としては、古典的な生化学的な温度刺激である系の温度の緩慢な変化ではなく、細胞内の局所領域の迅速な加熱を行うことで細胞内局所における発熱の影響を調べることができる。細胞内局所の加熱法としては、レーザー光照射を用いて細胞内の水分子を直接加熱するか、金属粒子を可視光レーザーないし、磁場により励起してプラズモンを発生させてそのエネルギーを熱に変換する方法がある。ここではレーザー光を用いた加熱法を説明する。

水の吸収領域である 1500 nm 程度の赤外光レーザー(IR レーザー)を対物レンズにより集光させて照射することにより、水分子を直接加熱することができる。IR レーザー照射をもちいた生体内の加熱法としては単一細胞レベルでの遺伝子誘導法である IR-LEGO 法がある[1]。これは IR レーザーにより細胞内を加熱しヒートショック応答を誘起することにより、ヒートショックプロモーターと連結した任意の遺伝子発現を誘導する技術である。これを応用して培養中の単一細胞内の 1-2 μm 程度の局所領域を一過的かつ定量的に加熱することも可能である。

参考文献:

[1] Kamei Y et al. *Nat. Methods* 6: 79-81 (2009)

[2] Nakano M et al. *PLoS ONE* 12: e0172344 (2017)

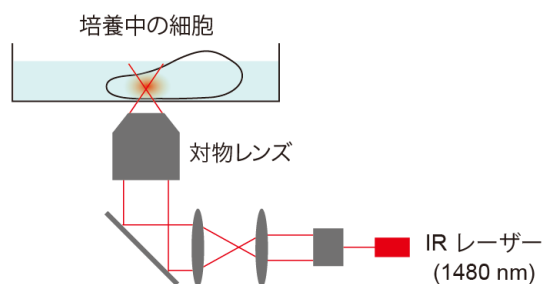


図. 赤外(IR)レーザー照射による細胞内局所加熱法

磁性ナノ粒子による細胞内局所加温法

(Intracellular heating of living cells using magnetic nanoparticles)

井藤 彰

(九州大学大学院 工学研究院)

マグネタイト(Fe_3O_4)あるいはマグヘマイト(Fe_2O_3)からなる磁性ナノ粒子(粒子径 10-20 nm 程度)は磁気共鳴イメージングの造影剤としての実績があり、臨床での安全性が確認されている。これらの磁性ナノ粒子は交流磁場(周波数 100 -500 kHz 程度)でヒステリシス損失あるいは緩和損失といったメカニズムで発熱することから、腫瘍組織に磁性ナノ粒子を投与して体外から磁場照射を行うガン温熱療法(ハイパーサーミア)への応用が行われている。

最近、合成生物学的アプローチを用いて、物理的刺激によって細胞機能を制御する研究が行われている。Huang らは磁性ナノ粒子を細胞に導入して交流磁場照射することで、遺伝子改変した神経細胞の TRPV1 を開いて活動電位を惹起させることに成功した。この技術は磁性ナノテクノロジーと合成生物学の融合と言えよう。さらに Stanley らは細胞内で磁性ナノ粒子を形成する性質をもつ鉄貯蔵タンパク質であるフェリチンの遺伝子と TRPV1 遺伝子を標的細胞に導入し、磁場照射によって TRPV1 を介してカルシウムイオンを流入させ、共導入した遺伝子回路のインスリン遺伝子を発現させる仕組みを構築した。合成生物学を駆使して、遠隔での交流磁場照射を引き金に治療遺伝子が誘導発現される技術として、さらなる発展が期待される。

これらの例に示されるように、磁性ナノ粒子による細胞内局所加温技術は、細胞の熱応答の生理学的研究のみならず、合成生物学的アプローチとの組み合わせによる細胞機能制御や遺伝子治療に有用であると考えられる。

参考文献:

- Huang H et al. *Nat. Nanotechnol.* 5: 602-606 (2010)
- Stanley SA et al. *Nat. Med.* 21: 92-98 (2015)

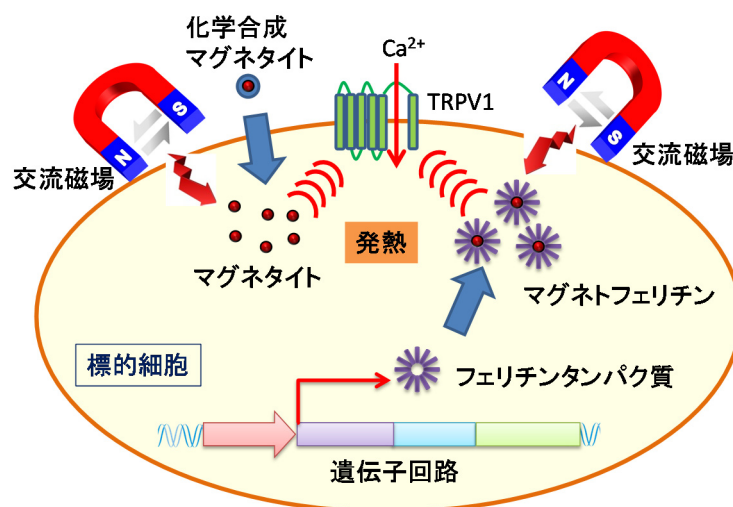


図 磁性ナノテクノロジーと合成生物学との組み合わせの研究例

Ca²⁺プローブ (Ca²⁺ probes)

大倉 正道

(埼玉大学大学院 理工学研究科)

細胞内の Ca²⁺濃度変化を検出する目的で用いられるプローブである。Ca²⁺プローブを用いた細胞内 Ca²⁺のイメージングは多細胞の時空間活動パターンを同時に解析できる有用な研究手法である。Ca²⁺イメージングには従来から Ca²⁺感受性の有機合成色素である Fura2、Fluo3 等の優れた Ca²⁺プローブが用いられてきた。近年では GFP やその類縁タンパク質を蛍光素子として用いて開発・改良された様々な遺伝子コード型 Ca²⁺プローブ GECI(ゲッキー)の利用が進んでいる。以下では GECI に限定して簡単に説明する。

GECI は化学発光タイプと蛍光タイプに大別される。

化学発光タイプは Ca²⁺および基質に依存して発光するタイプであり、例として Aequorin、Nano-lantern (Ca²⁺) 等が挙げられる。

蛍光タイプはさらに 2 種類に分類される。1つは単一 GFP タイプ(GFP の構造変化に伴って蛍光強度変化を起こすタイプ)であり、例として Camgaroo、G-CaMP(図 1)、Pericam、Case、GECO、CEPIA 等が挙げられる。もう1つは FRET タイプ(2 つの色が異なる蛍光タンパク質を同一分子内にもち、この 2 つの蛍光タンパク質間で起こる FRET(Förster Resonance Energy Transfer)の効率変化に伴って 2 色の蛍光強度比が変化するタイプ)であり、例として FIP、Cameleon、Troponin、F2C、Twitch 等が挙げられる。

最新の GECI では蛍光変化量や感度が改善され、神経細胞の 1 発の活動電位に伴う微弱な Ca²⁺濃度変化を検出することも可能となった。さらに、蛍光の増大・減弱が速く起こる GECI が開発され、神経の高頻度発火に伴う連発の Ca²⁺活動を個々の単発活動に分離して解析することも可能となってきた。また GECI の明るさについても改善が進んでいる。

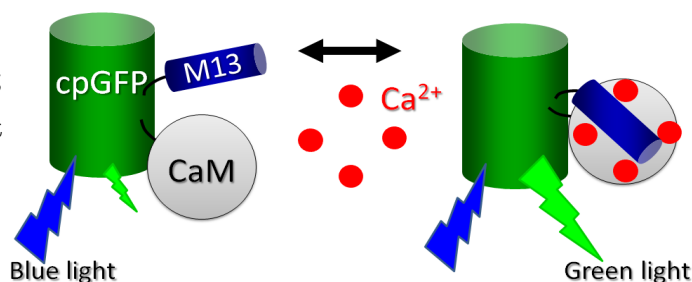
近年光活性化タンパク質のチャネルロドプシン(ChR)を用いた光遺伝学操作と GECI を用いた Ca²⁺イメージングを同時に行う実験のニーズが高まってきた。ChR は赤色蛍光タンパク質の励起に用いられる光の波長帯でほとんど活性化されないため、このような目的では赤色の GECI が有用である。GECI は研究者のニーズに応じて進化し続けている。

参考文献:

- Nakai J et al. *Nat. Biotechnol.* 19: 137-141 (2001)
- Ohkura M et al. *Optogenetics: light-sensing proteins and their applications* 133-147 (2015)

図1 G-CaMP 型 GECI の動作原理

cpGFP: GFP の円順列変異体;
CaM: calmodulin; M13: myosin light
chain kinase の M13 断片



人工脂質二重膜 (Artificial bilayer membrane)

下川 直史、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)

細胞膜には、多くの種類のリン脂質やコレステロール、そして膜タンパク質等が含まれており、その煩雑さは膜研究や細胞信号伝達研究を行う上での障害となる。人工脂質二重膜とは、合成脂質または、天然脂質を用いて試験管内等の人工的な環境下で形成された、細胞膜よりも単純な組成により構築された二重膜の総称である。膜研究、膜チャネル研究、薬物送達、自己組織化研究に利用される。人工脂質二重膜は、その曲率の違いにより、膜面が平らな平面膜と、膜面が球殻状のリポソームに分類することができる。

【平面膜】

平面膜は、作成方法、形状により、黒膜、固体支持膜、テザード膜などが存在する。黒膜 (Black lipid membrane; BLM) は、テフロン等のシートに直径数十~数百 μm の穴を開け、平面状に脂質二重膜を再構成する方法により作成した膜である (図 a)。固体支持膜 (Supported lipid bilayer; SLB) は、酸化シリコン等の親水性の固体表面や電極上に、脂質二重膜をベシクル融合法等で固定化した膜であり (図 b)、テザード膜 (Tethered bilayer lipid membrane; t-BLM) は、基板や電極上をスペーサー分子 (PEG 等) で修飾した上に形成した人工二重膜である (図 c)。

【ベシクル】

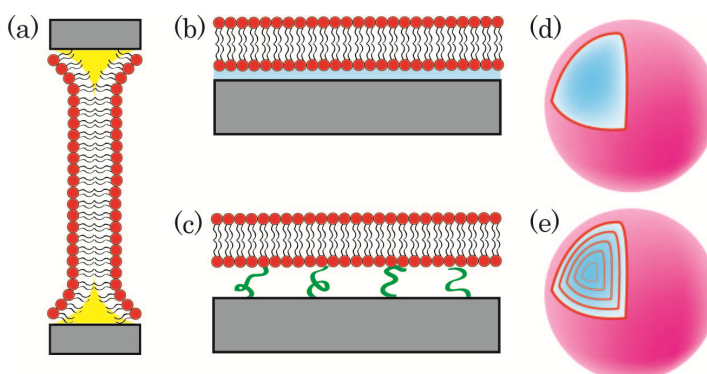
内部に液層を含む球殻状に閉じた膜構造 (直径数十 nm~数 μm) を有する小胞をベシクル、または、リポソームと呼ぶ。曲率を有する生体膜の基本骨格構造であるため、生体膜モデルとして用いられる。1枚膜から成るリポソームをユニラメラベシクル (unilamellar vesicle) と呼び、サイズに応じてさらに small unilamellar vesicle (SUV, 10 nm - 100 nm)、large unilamellar vesicle (LUV, 100 nm - 1 μm)、giant unilamellar vesicle (GUV, > 1 μm) と分類されている (図 d)。また何枚もの膜が積み重なったリポソームを、多重層ベシクル (multilamellar vesicle) という (図 e)。作製方法として、静置水和法、溶媒置換法、逆相蒸発法、電場形成法などがあるが、サイズの精密な制御は未だに困難であり、多くの試みが為されている。

参考文献:

- ・Khan MS et al. *Int. J. Mol. Sci.* 14: 21561-21597 (2013)
- ・Akbarzadeh A et al. *Nanoscale Res. Lett.* 8: 102 (2013)

図 1 人工脂質二重膜の模式図

- (a) 黒膜 (Black lipid membrane),
 (b) 固体支持膜 (Supported lipid bilayer),
 (c) テザード膜 (Tethered bilayer lipid membrane), (d) ユニラメラベシクル (unilamellar vesicle), (e) 多重層ベシクル (multilamellar vesicle)



新規追加分

温度による概日時計の制御

(Thermal controls over the circadian clock)

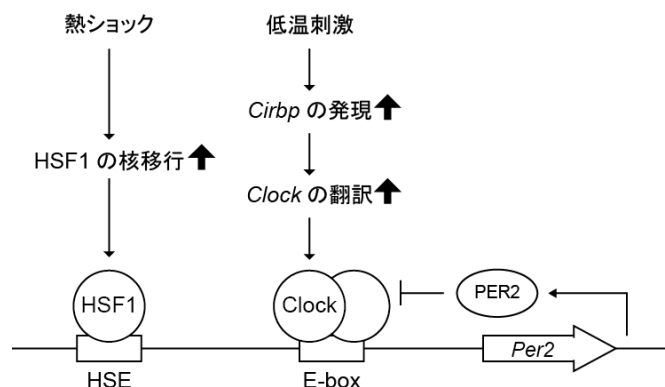
井ノ上 雄一、土居 雅夫

(京都大学大学院 薬学研究科)

哺乳類の生体リズムの中樞は視床下部にある視交叉上核 (Suprachiasmatic nucleus; 略して SCN) に存在し、SCN から発信される周期的なシグナルによって体温の日内リズムが生じる。興味深いことに、哺乳類の培養細胞に体温のリズムを模倣した温度サイクルを与えると、そのサイクルに同調して培養細胞内の時計遺伝子の発現が振動する[1]。現在その背後にある分子機構として、熱ショックに応答する Heat shock factor 1 (HSF1) の関与[2, 3, 4]と、低温刺激に応答する Cold-inducible RNA binding protein (Cirbp) の関与[5]が示されている。HSF1 はマウスの活動期の体温の上昇に並行して核に移行し、標的となる転写制御 cis-element (HSE) へ結合する[2]。HSE 配列は時計遺伝子 *Per2* のプロモータにも存在する[6]。HSF1 を欠損させた培養細胞は温度サイクルへの同調が遅れる[4]。*Cirbp* は低温に応じて発現が増加し、時計遺伝子 *Clock* の翻訳を促進する[5]。*Cirbp* 自身は時計遺伝子による直接のコントロールを受けず温度にのみ応答する[5, 7]。HSF1 の場合も *Cirbp* の場合も、遺伝子欠損やノックダウンを行っても最終的に培養細胞は温度サイクルに同調できることから、体温に応答して概日時計の位相を調節する因子が他にも存在すると考えられる[8]。

参考文献:

- [1] Brown SA et al. *Curr. Biol.* 12: 1574-1583 (2002)
- [2] Reinke H et al. *Genes Dev.* 22: 331-345 (2008)
- [3] Buhr ED et al. *Science* 330: 379-385 (2010)
- [4] Saini C et al. *Genes Dev.* 26: 567-580 (2012)
- [5] Morf J et al. *Science* 338: 379-383 (2012)
- [6] Tamura T et al. *PLoS ONE* 6: e24521 (2011)
- [7] Kornmann B et al. *PLoS Biol.* 5: e34 (2007)
- [8] Schibler U et al. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 80: 223-232 (2015)

図. 温度応答シグナルが入力する時計遺伝子 *Per2* プロモータ領域



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)

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