

Acidic Sensitivity of TRPV1 and its Regulation Mechanisms in Chickens

梁, 若君

<https://hdl.handle.net/2324/4060217>

出版情報：九州大学, 2019, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏名	梁 若君		
論文名	Acidic Sensitivity of TRPV1 and its Regulation Mechanisms in Chickens (ニワトリにおける TRPV1 の酸感受性とその制御機構)		
論文調査委員	主査	九州大学	職名 教授 氏名 田畑 正志
	副査	九州大学	職名 准教授 氏名 西村 正太郎
	副査	岩手大学	職名 准教授 氏名 川端 二功

論文審査の結果の要旨

ニワトリは重要な産業動物であるとともに、生物学においては鳥類のモデル動物でもある。本研究では、ニワトリの痛み受容機構の解明のため、特に代表的な発痛刺激の一つである酸の受容メカニズム並びにその制御機構について明らかにすることを目的とした。そこで、酸刺激による痛みの受容体の一つとして知られている transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) に着目し、哺乳類のモデル動物であるマウスと比べることにより、比較生理学的観点からニワトリの特徴を明らかにする研究を行った。

まず、受容体タンパク質をリポフェクション法により一過的に強制発現させた HEK293T 細胞を作製し、ホールセルパッチクランプ法を用いて電気生理学的解析を行った。酸 (pH 3.8) 刺激はニワトリ TRPV1 (cTRPV1) とマウス TRPV1 (mTRPV1) をともに活性化したが、ピーク電流は cTRPV1 の方が mTRPV1 よりも小さく、かつ cTRPV1 は繰り返しの酸刺激で mTRPV1 よりも脱感作しにくいことを見出した。TRPV1 の C 末端のカルモジュリン結合部位は TRPV1 の脱感作制御において重要な部位であることが報告されていたので、本研究では cTRPV1 の C 末端のカルモジュリン結合部位を mTRPV1 の C 末端のカルモジュリン結合部位に置換したキメラ cTRPV1 を作製した (cTRPV1-mCaM)。cTRPV1-mCaM の解析の結果、酸に対する脱感作の程度は mTRPV1 と類似していたとともに、酸に対する応答性も cTRPV1 と比べて有意に高まっていた。また、TRPV1 が一部発現していると考えられる背根神経節細胞 (DRG) をマウス (C57BL/6J) およびニワトリ (Rhode Island Red) ヒナから単離培養し、酸刺激に対する応答を比較した。ニワトリヒナの DRG はマウス DRG と比べて酸刺激に対して脱感作されにくいことを見出した。これらの結果より、酸刺激に対する痛み感受性がニワトリとマウスで異なっていること、並びにそれらの現象が cTRPV1 の C 末端カルモジュリン結合部位のアミノ酸配列の違いに由来していることが示唆された。

次に、cTRPV1 の痛み受容体としての制御機構をさらに理解するため、cTRPV1 の 558 番目のアミノ酸であるアラニン、それに対応する mTRPV1 の 551 番目のアミノ酸であるトレオニンに変異させた点変異体 (cTRPV1-A558T) を作製し、機能解析を行った。その結果、cTRPV1-A558T は辛み成分カプサイシンに反応し、かつ酸刺激に対して野生型の cTRPV1 よりも有意に大きな反応を示した。cTRPV1-A558T において、カプサイシン刺激によって脱感作は観察されたものの、酸刺激による脱感作は野生型の cTRPV1 と同様に観察されなかった。さらに、cTRPV1 の A558 に対応する mTRPV1 の T551 をニワトリ型に変異させた点変異体 mTRPV1-T551A を作製し、酸刺激による脱感作を検証した。mTRPV1-T551A では、酸刺激に対する脱感作が野生型の mTRPV1 と比べて有意に減弱していた。これらの結果は、mTRPV1 の T551 がカプサイシンの結合に重要な部位であるという既知の結果を再確認しただけでなく、cTRPV1 がカプサイシンに対する反応を失った原

因となるアミノ酸が A558 であることを示唆した。また、 mTRPV1 の T551 と cTRPV1 の A558 が酸に対する感受性、並びに脱感作を制御している鍵となる部位であることも明らかとなった。さらに、 TRPV1 の脱感作の制御機構は、カプサイシンや酸といった刺激の種類によって異なっていることも示唆された。

以上要するに本論文は、ニワトリおよびマウスの TRPV1 の酸感受性、並びに脱感作制御機構の一部を明らかにするとともに、鳥類の痛み受容機構の理解にも大きく貢献したものであり、畜産学並びに比較生理学の発展に寄与する価値ある業績と認める。よって本研究は博士（農学）の学位に値すると認める。