総説

温度センサーTRPチャネルの生息環境に応じた機能進化とその構造基盤

齋藤 茂^{1,2}, 富永真琴^{1,2}¹生理学研究所・細胞生理研究部門²生命創成探究センター・温度生物学研究グループ

Thermal perception is an essential physiological system for responding to ambient temperature fluctuations, and thus likely plays crucial roles in evolutionary adaptation. Thermosensitive transient receptor potential (thermoTRP) channels serve as temperature sensors. They are multimodal receptors that are activated by thermal stimuli as well as various chemicals. The properties of thermoTRP channels have varied among diverse animal species. In addition, comparative analyses among closely related species inhabiting different thermal niches revealed that property of thermoTRP channels changed during adaptation processes. Here we introduce evolutionary changes and their structural basis for the functional diversity of thermoTRP channels.

thermal perception / heat sensors / thermosensitive TRP channels / adaptation / structural basis / vertebrates

1. はじめに

動物は環境の温度を鋭敏に感じとり、その変化に対して生理的・行動的に応答し、生体恒常性を維持している。地球上には様々な温度条件の環境が存在するが、それぞれの動物種は形態や生理的な特性を変化させて、進化の過程で多様な環境に適応してきた。異なる温度環境に生息する種の間では生存に適した温度域が異なることがあるが、そういった動物種の間では温度の感じ方「温度感覚」もまた進化の過程で変化してきたのではないだろうか。そのような観点から著者らはこれまで、多様な動物種を対象にした比較解析を進めてきた。本総説では、温度受容のセンサー分子として働く温度感受性 TRP チャネルの種間比較により明らかとなったチャネル機能の多様性とその構造基盤、また、環境適応との関連性について最新の知見を紹介する。

2. 温度受容の分子機構

動物は体表の温度変化を通して外界の温度を感知している。表皮下に分布する感覚神経の末端に発現する温度感受性のイオンチャネルが温度受容体として働いており、多くが transient receptor potential (TRP) ファミリーに分類される非選択性陽イオンチャネルである。マウスやヒトなどの哺乳類では 11 種類の温度感受性 TRP チャネルが同定されている^{1), 2)} (TRP vanil-

loid 1, V2, V3, V4; TRP Melastatin 2, M3, M4, M5, M8; TRP Ankyrin 1; TRP Canonical 5)。温度感受性 TRP チャネルはそれぞれ固有の温度受容域を持っている。例えば、ヒトやマウスでは TRPV1 は熱刺激に対して約 42°C 以上の高温で活性化され、TRPV3 や TRPV4 は 27 ~ 33°C 以上の体温に近い温かい温度で活性化される。一方で、TRPM8 は 25 ~ 28°C 以下の冷涼な温度で、TRPA1 は 17°C 以下の低温で活性化される。これらの TRP チャネルの顕著な特性として 1 種類のチャネルが多様な感覚刺激により活性化されることが挙げられる。例えば、TRPV1 は熱だけでなく、カプサイシンや酸刺激により、また、TRPA1 はワサビの辛み成分であるアリルイソチオシアネートや、他にも様々な植物に含まれる化学物質によって活性化される。このように温度感受性 TRP チャネルはマルチモーダルな感覚刺激の受容体として機能している。これらのチャネルは感覚神経だけでなく、全身の様々な組織に分布しており、温度感覚以外にも多様な組織や細胞において温度に関連した生理機構に関わっている¹⁾。

TRP チャネル全体の立体構造は長らく解かれていなかったが、低温 (クライオ) 電子顕微鏡を用いた単粒子解析により TRPV1 や TRPA1 の詳細な構造が報告された³⁾⁻⁵⁾。1 つのサブユニットは 6 個の膜貫通ドメインを有し、4 量体の中央にイオンを透過するポアが形成される (図 1)³⁾。TRPV1 のアゴニストであるカプサイシンは第 3 および第 4 膜貫通ドメインに位置する

Functional Changes and Their Structural Basis for Thermal Sensor TRP Channels Related to Evolutionary Adaptation

Shigeru SAITO^{1,2} and Makoto TOMINAGA^{1,2}¹Division of Cell Signaling, National Institute for Physiological Sciences²National Institutes of Natural Sciences

図 1

TRPV1 と TRPA1 の立体構造. TRPV1 (A) と TRPA1 (B) の各サブユニットと 4 量体の立体構造を示した. TRPV1 のカプサイシン結合の種間差に関わるアミノ酸をシアンで、ツメガエルまたはジリスの TRPV1 の温度応答性に関与するアミノ酸をそれぞれマゼンタと緑で示した. TRPA1 の A-967079 および HC-030031 の結合に関与するアミノ酸をシアンとマゼンタで示した. 数字はアミノ酸の位置を示す. TM: 膜貫通ドメイン, PH: ポアヘリックス, ARD: アンキリンリピートドメイン. TRP ドメイン (A) および TRP-like ドメイン (B) をマゼンタの線で囲っている. 文献 18 から改変引用.

アミノ酸で構成されるポケットに結合し、ポアを開口させる⁴⁾. 各サブユニットの N および C 末端領域は細胞内に位置している (図 1)^{3), 4)}. TRPV1 の N 末端側のアンキリンリピートドメインには、活性を増強させる ATP や、反対に活性を低下させるカルモジュリンが結合する⁶⁾. TRP チャンネルの立体構造が解明されたことにより、チャンネル機能に関与するアミノ酸の役割を構造的な側面から解釈することが可能となった.

3. 温度感受性 TRP チャンネルの種間多様性と構造基盤

TRPV1 や TRPA1 は感覚神経に共発現し、痛みとして認識される化学物質や温度によって活性化されることから、組織や生体を損傷し得る侵害刺激の受容に関わっている. TRPA1 はヒトを含む脊椎動物から昆虫などの無脊椎動物まで共有されており、進化的に起源が古いチャンネルである²⁾. ヒトやマウスの TRPA1 は前述の通り低温で活性化されると報告されているのだが、ヒトやマウスの TRPA1 の温度感受性については未だに統一した見解が得られていない. 我々は複数の脊椎動物種 (グリーンアノールトカゲ, ツメガエル, ニワトリ) および無脊椎動物 (ヒトデ) の TRPA1 が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た⁷⁾⁻⁹⁾. TRPA1 はショウジョウバエや蚊などの昆虫でも温かい温度で活性化されることが知られている. また、ワサビに含まれるアリルイソチオシアネートのような化学物質の感受性は昆虫から哺乳類の TRPA1 まで広く保存されている. これらを考慮する

と TRPA1 は動物の初期の進化過程で獲得され、高温 (または温かい温度) および化学物質の受容体として機能していたと考えられる²⁾. 一方、TRPV1 は脊椎動物の祖先種で新たに生じた遺伝子であり、脊椎動物種に共有されていることが我々の分子系統学的な解析により示されている¹⁰⁾. TRPV1 は哺乳類、鳥類、爬虫類、両生類、魚類などの多くの脊椎動物種において高温により活性化される^{2), 11), 12)}. 脊椎動物の祖先において既存の TRPA1 に加えて、新たに TRPV1 が獲得され、侵害受容に関わるチャンネルのレパートリーが増加したと考えられる.

TRPA1 の阻害剤は鎮痛薬としての利用が期待され複数のアンタゴニストがマウスやヒトなどの TRPA1 を用いて同定されてきた. 我々はこれらの化学物質の作用が哺乳類以外の脊椎動物では異なることを見出した. 分子構造が類似する AP-18 と A-967079 は哺乳類 TRPA1 を阻害するが、グリーンアノールトカゲの TRPA1 に対しては全く作用しない. さらに、これらの化学物質はニワトリおよびネッタイツメガエルの TRPA1 を活性化させる¹³⁾. TRPA1 の種間比較により、ヒトの TRPA1 の第 5 膜貫通ドメインの 881 番目のロイシン (L881) が AP-18 と A-967079 による阻害作用に大きな役割を担うことを明らかにした (図 1). ヒト TRPA1 の 881 番目に対応するアミノ酸はニワトリの TRPA1 ではイソロイシンになっており、ヒト TRPA1 の 881 番目のロイシンをイソロイシンに変化させると A-967079 により活性化されるようになる¹³⁾. 後に報告されたヒト TRPA1 の立体構造では、A-967079 は第 5 膜貫通ドメインとポアヘリックスに結合し、L881 は結合部位に位置するアミノ酸であることが報告された⁵⁾. 他にもヒト TRPA1 の 873, 874, 909 番目のアミノ酸は結合部位に位置しており、電気生理学的な解析により A-967079 の作用に関与することが知られている^{5), 14), 15)}. A-967079 の結合部位はチャンネルポアに近い位置にあるために、この化学物質は楔のような働きをしてヒト TRPA1 の活性を抑制すると推測されている.

一方で、HC-030031 は哺乳類、ニワトリ、グリーンアノールの TRPA1 の活性を抑制するが、ネッタイツメガエルとゼブラフィッシュの TRPA1 を抑制しない. これらの種間比較を通してヒト TRPA1 の 855 番目のアスパラギン (N855) が HC-030031 の阻害効果に関与することを明らかにした¹⁶⁾ (図 1). 分子動態シミュレーションの結果、このアミノ酸の側鎖は HC-030031 と水素結合を形成することが示唆された. N855 は立体構造では TRP-like ドメインの近傍に位置する. このドメインは膜貫通ドメインと細胞内のアンキリンリピートドメインや C 末端側の領域との相互作用に関与すると考えられている. このように N855 は立体構造上の位置が A-967079 の結合部位とは異なっており、

二つのアンタゴニストは別々の分子機構で TRPA1 の活性を抑制すると考えられる¹⁶⁾。

4. 環境適応に関連した温度感受性 TRP チャンネルの機能進化

TRPA1 の温度感受性は動物種間で異なっており、それらはそれぞれの種の生態的および生理的な特性と関連していると期待される。しかし、系統的に遠縁な動物種間では特性が大きく異なるため、温度感受性 TRP チャンネルの機能変化と環境適応を結び付けることができなかった。そのような課題に取り組むためには異なる温度条件の環境に生息する近縁な種間の比較が有用であり、筆者らはツメガエル種を用いた研究を行った¹⁷⁾。アフリカツメガエルとネッタイツメガエルは近縁種であり、成体も水中で生活するなど生態的および生理的な特性が類似している。両種はアフリカに分布し、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、飼育に適した温度域も前者のほうが高い (図 2)。

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°C ほど高い温度から逃避行動を示すことが分かった (図 2)。また、感覚神経である後根神経節細胞の活性化温度の閾値もネッタイツメガエルは 2°C ほど高かった。そこで、高温センサーとして働く TRPA1

図 2

2 種のツメガエルの比較。2 種のツメガエルの飼育に適した温度域 (左) と高温刺激に対する応答性の比較 (右)。

および TRPV1 の比較解析を行った。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低く、一方で活性化温度の閾値はアフリカツメガエルに比べてネッタイツメガエルのほうが 2°C ほど高かった (図 3A-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 回目からはほぼ最大の応答を示した (図 3E)。さらに、2 種間の TRPV1 のキメラチャンネルや突然変異体チャンネルを用い、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た^{17), 18)} (図 1)。これらの観察結果から 2 種のツメガエルは異なる温度環境に適応する過程で高温

図 3

2 種のツメガエルの高温センサーの種間差。アフリカツメガエル (A, Xla) とネッタイツメガエル (B, Xtr) の TRPA1 の熱刺激およびシナムアルデヒド (CA) に対する応答を示した。TRPA1 の熱刺激に対する活性の比較 (C)。熱刺激で生じた電流値を CA による電流値で標準化した。TRPA1 の活性化温度閾値の比較 (D)。TRPA1 を発現する卵母細胞から得られた値を点で、平均値を線で表示した。TRPV1 の繰り返しの熱刺激に対する応答性の種間差 (E)。各種の 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。文献 17 から改変引用。

センサーのチャネル機能を変化させてきたと考えられる¹⁸⁾ (図2)。

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た¹⁹⁾。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るが、*Anolis allogus* は森林内部に、*Anolis homolechis* は森林の周縁部、*Anolis sagrei* は開けた環境に適応している。*A. allogus* は日光にあまり暴露されないのに対して、残りの2種は日光に当たることで体温を調節する。温度上昇時の逃避温度を比較したところ、*A. allogus* は他の2種に比べてより低い温度から逃避行動を示した。さらに、TRPA1 の活性化温度の閾値も *A. allogus* は他の2種に比べて低かった。

哺乳類においても TRPV1 の機能変化が環境適応と関連することを Laursen らが報告している²⁰⁾。ジリスの一種は高温耐性を有しており、TRPV1 の高温応答性が著しく低下している。興味深いことに、砂漠のような高温環境に適応しているラクダでも TRPV1 の高温応答が失われている。それぞれの系統で TRPV1 の温度刺激に対する活性が低下する進化的な変化が独立に生じたと考えられる。TRPV1 の高温に対する活性の減弱にはアンキリンリピートドメインに位置する2つのアミノ酸が関わることを示されている²⁰⁾ (図1)。

5. 今後の課題と展望

近縁種間の比較により、生息する環境の温度条件に応じて温度感受性 TRP チャネルの特性が柔軟に変化してきたことが明らかとなった。さらに、ツメガエルとジリスの TRPV1 では種間差に関わるアミノ酸置換がアンキリンリピートドメインに生じていた^{17), 20)}。しかし、ジリスの研究例において同定されたアミノ酸置換は、比較対象に用いられたマウスの系統で独自に生じたことが分かっている²⁰⁾。高温耐性の上昇と関連していた場合は、TRPV1 のアミノ酸の変化はジリスに至る系統で生じたはずである。また、ツメガエルの例では2種の比較に留まっているために、TRPV1 や TRPA1 の機能変化がどの系統で生じたのかが未解明である¹⁷⁾。このように環境適応に関連した分子基盤を理解するためには動物種の系統関係を考慮する必要がある。現在、異なる温度環境に生息する複数の両生類種を用いた比較解析を進めており、環境適応に関連した温度受容システムの変化やその分子基盤を進化的な背景を含めて明らかにする研究を展開していきたい。

文 献

- 1) Julius, D. (2013) Annu. Rev. Cell Dev. Biol. **29**, 355-384. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-101011-155833.
- 2) Saito, S., Tominaga, M. (2015) Cell Calcium **57**, 214-221. DOI: 10.1016/j.ceca.2014.12.001.
- 3) Liao, M. *et al.* (2013) Nature **504**, 107-112. DOI: 10.1038/nature12822.
- 4) Cao, E. *et al.* (2013) Nature **504**, 113-118. DOI: 10.1038/nature12823.
- 5) Paulsen, C. E. *et al.* (2015) Nature **520**, 511-517. DOI: 10.1038/nature14367.
- 6) Lishko, P. V. *et al.* (2007) Neuron **54**, 905-918. DOI: 10.1016/j.neuron.2007.05.027.
- 7) Saito, S. *et al.* (2014) Mol. Biol. Evol. **31**, 708-722. DOI: 10.1093/molbev/msu001.
- 8) Saito, S. *et al.* (2012) J. Biol. Chem. **287**, 30743-30754. DOI: 10.1074/jbc.M112.362194.
- 9) Saito, S. *et al.* (2017) Sci. Rep. **7**, 2173. DOI: 10.1038/s41598-017-02171-8.
- 10) Saito, S., Shingai, R. (2006) Physiol. Genomics **27**, 219-230. DOI: 10.1152/physiolgenomics.00322.2005.
- 11) Ohkita, M. *et al.* (2012) J. Biol. Chem. **287**, 2388-2397. DOI: 10.1074/jbc.M111.305698.
- 12) Gau, P. *et al.* (2013) J. Neurosci. **33**, 5249-5260. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5403-12.2013.
- 13) Banzawa, N. *et al.* (2014) J. Biol. Chem. **289**, 31927-31939. DOI: 10.1074/jbc.M114.586891.
- 14) Nakatsuka, K. *et al.* (2013) J. Mol. Neurosci. **51**, 754-762. DOI: 10.1007/s12031-013-0060-2.
- 15) Xiao, B. *et al.* (2008) J. Neurosci. **28**, 9640-9651. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2772-08.2008.
- 16) Gupta, R. *et al.* (2016) Sci. Rep. **6**, 37460. DOI: 10.1038/srep37460.
- 17) Saito, S. *et al.* (2016) J. Biol. Chem. **291**, 11446-11459. DOI: 10.1074/jbc.M115.702498.
- 18) Saito, S., Tominaga, M. (2017) Temperature (Austin) **4**, 141-152. DOI: 10.1080/23328940.2017.1315478.
- 19) Akashi, H. D. *et al.* (2018) Mol. Ecol. **27**, 2234-2242. DOI: 10.1111/mec.14572.
- 20) Laursen, W. J. *et al.* (2016) Proc. Natl. Acad. Sci. USA **113**, 11342-11347. DOI: 10.1073/pnas.1604269113.

斎藤 茂

斎藤 茂 (さいとう しげる)

生理学研究所・生命創成探究センター助教
弘前大学理学部生物学科卒、東京都立大学理学部
研究科生物科学修士・博士課程修了。岩手大学農学
部および工学部博士研究員、生理学研究所特任助
教を経て2015年より現職。

研究内容: 温度受容機構の進化的な変化とその適
応的意義を生理学的・進化的な手法を用いて調
べている。

連絡先: 〒444-8787 愛知県岡崎市明大寺町字東
山5-1

E-mail: sshigeru@nips.ac.jp

URL: <http://www.nips.ac.jp/cs/>

富永真琴 (とみなが まこと)

生理学研究所・生命創成探究センター教授
愛媛大学医学部卒、京都大学大学院医学研究科博
士課程修了、生理学研究所助手、UCSF 博士研究
員、筑波大学講師、三重大学教授を経て現職。

研究内容: 温度感受性 TRP チャネルに焦点をあて
て温度受容や侵害刺激受容の分子メカニズムを研
究している。

連絡先: 同上

E-mail: tominaga@nips.ac.jp

URL: <http://www.nips.ac.jp/cs/>

富永真琴