

平成 21 年 5 月 20 日現在

研究種目：特定領域研究「細胞感覚」

研究期間：2007 年度 ～ 2008 年度

課題番号：19045010

研究課題名（和文）生物の環境適応と感覚受容体の進化

研究課題名（英文）Adaptation to environments and evolution of sensory receptors

研究代表者

颯田 葉子 (SATTA YOKO)

総合研究大学院大学・先導科学研究科・教授

研究者番号：20222010

研究成果の概要:地球上の様々な環境にそれぞれの生物がどのように適応しているのだろうか?地球上に広く分布域を持つヒトと比較的限られた生息域を示すヒト以外の霊長類に着目し、ヒトで知られている9種類の温度受容体の進化をゲノムの塩基配列および遺伝子の発現パターンの比較の両面から調べた。その結果、ゲノムの塩基配列では、ヒトに特異的な変化は見つからなかったが、遺伝子の発現に関しては、アカゲザルと比較するとヒト特異的なパターンを観察した。

交付額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,700,000	0	2,700,000
2008年度	2,900,000	0	2,900,000
年度			
年度			
年度			
総計	5,600,000	0	5,600,000

研究分野：分子進化学・進化生理学・ゲノム進化学

科研費の分科・細目：生物科学・進化生物学

キーワード：温度受容体・霊長類・皮膚・遺伝子発現・生息環境・進化・ゲノム

1. 研究開始当初の背景

本研究課題で扱う TRP 受容体 (Transient Receptor Potential) は、ショウジョウバエの光リセプターの突然変異の解析で最初に発見され、光刺激を細胞膜電位のシグナルに変換することが知られていた (Minke 1977, Montell et al. 1985)。ショウジョウバエでの解析から始まった TRP の機能解明の研究は、その後の様々な技術の発展に伴い、脊椎動物

へと拡大していった。その結果、TRP 分子の機能は光リセプターでのシグナル変換だけにとどまらず、機械刺激、化学刺激、温度刺激、あるいは pH および浸透圧など様々な生体への刺激や外部の環境の状況を把握する受容体であり、いずれの場合もこれらの刺激を電気刺激に変換する働きを担っていることが分かってきた (Clapham 2003)。TRP 分子の生理学的な解析は進んでおり、とくに温度受容に関係す

る TRP 分子の生理学的な特性については国内外で現在精力的に研究が推進されている。これらの温度受容体は環境の温度変化を捉えることが重要な働きのひとつであるが、地球上の様々な環境に生息する生物がどのような温度受容体を持ち、またその分子がどのような変異を蓄積しているのかを調べた研究はほとんどない。本研究では、異なる温度環境に適応している様々な霊長類を用い、霊長類の進化の過程で温度受容体にどのような変化が生じたか、また世界各地へ拡散し異なる温度環境に適応したヒト温度受容体の変異の特性を明らかにし、ヒトを含めた霊長類の温度受容のしくみの進化を解明したい。

2. 研究の目的

生物は感覚受容体により外部環境あるいは体内環境をモニターし、環境の変化に呼応して反応したり、恒常性を保つようになっている。本研究では、さまざまな感覚受容体の中から温度に関わる受容体である TRP ファミリーの分子に焦点を当てて研究を遂行する。

温度受容体の重要な働きのひとつは生物の棲息する環境の温度変化を捉えることである。霊長類はアフリカや南米の熱帯・亜熱帯地方を中心に進化し、旧世界猿やヒトがその後温帯や寒冷地へ拡散していった。このような進化のシナリを踏まえると、霊長類の温度適応は熱帯適応型から寒冷適応型へ進化したと推測できる。また、ヒトは極域から、砂漠地帯まで、温度環境という点で、非常に広範囲の生息域を持つ。基本的な質問は「ヒトの温度受容体は特別な進化をしたのだろうか？」ということである。

そこでこの問いに答えるために、遺伝子の塩基配列、アミノ酸配列、遺伝子発現の変化の3つの視点から温度受容体の進化を明らかにする。また世界各地へ拡散し、他の生物に例をみない広い生息域に適応したヒト温度受容体の変異とその拡散の過程を明らかにし、ヒトの拡散の歴史と温度感受性受容体の進化との関連を探る。

3. 研究の方法

(1) ゲノム塩基配列・アミノ酸配列の比較：

既にヒトで同定されている温度受容体 TRP 分子 (TRPV1、TRPV2、TRPV3、TRPV4、TRPM2、TRPM4、TRPM5、TRPM8、TRPA1) 9種類のオーソログのゲノム塩基配列をチンパンジー・アカゲザルのゲノムデータベースから探索し、相同領域を、ヒトを含めた3種で比較する。比較に際しては、受容体のアミノ酸配列に影響を及ぼす変化(非同義置換)と及ぼさない変化(同義置換)それぞれが、ヒト・チンパンジー・アカゲザルのそれぞれの系統でどのような頻度でおこっているかの比較を行い、非同義置換の進化速度に変化が見られるかどうかを検定した。この検定を行う際にはイヌの配列を外群として用いた。

(2) 遺伝子発現パターンの比較：ヒト、チンパンジー、アカゲザルの皮膚由来の mRNA を材料として用いた。遺伝子発現のパターンはそれぞれの TRP 遺伝子を標的とし、PCR で増幅するかどうか調べる方法と、ヒトの既知の遺伝子の断片の配列に対してハイブリダーゼーションの程度を定量する、マイクロアレイ法の両方を用いた。

(3) ヒトの多型解析：世界各地の民族の32個体由来の DNA で、高温感受性とトウガラシの辛味成分の感受性に関する TRPV1 遺伝子の exon 9 と 10 を含むおよそ 3.5kb のゲノム領域の塩基配列を比較し、ヒト集団において TRPV1 が拡散していった様子を明らかにした。この時、遺伝子系図学的手法を用い、ヒト集団由来の共通祖先がいつ頃生まれたかを推定した。

(4) TRPM サブファミリーの分子進化的解析：三つの常温受容体 (TRPM2, TRPM4, TRPM5) と一つの低温受容体 (TRPM8) を含む TRPM サブファミリーのメンバー 8 遺伝子 (TRPM1~TRPM8) について、アミノ酸配列を用いて、脊椎動物で相同性検索を行い、これらの遺伝子の起源をたどった。

4. 研究成果

(1) ゲノム塩基配列の比較：ヒト、チンパンジー、アカゲザル、イヌのゲノムデー

データベースを利用してこれらの4種の温度受容体9種類のタンパク質コード領域の配列を集め、この4種の間でそれぞれの種分岐後に蓄積した同義置換(d_s :アミノ酸変異を伴う和しない塩基置換)と非同義置換(d_n :アミノ酸変異を伴う塩基置換)の数を推定した。タンパク質のアミノ酸置換に対する機能的制約(アミノ酸変異の起き易さ)の指標として、非同義置換/同義置換の比率を用い、これらの種分岐後にこの指標が変化したかどうかを調べた。その結果、9受容体のうち、ヒトでは4つの受容体遺伝子(*TRPV1*, *TRPV3*, *TRPM4*, *TRPM5*)で機能的制約が弛んでいることを示す数値を得た。同様にチンパンジーでも5遺伝子(*TRPV1*, *TRPV3*, *TRPM2*, *TRPM4*, *TRPA1*)で機能的制約が弛んでいることが示唆された。しかし同様の解析で、アカゲザルでは機能的制約の弛みは全く確認されなかった。観察された制約の弛みと機能変化と関連を示す変異は観察されなかった。

(2) 遺伝子発現パターンの比較: 個別遺伝子のPCRによりヒトの皮膚組織由来のmRNAで既に発現が報告されている *TRPV1*, *TRPV3*, *TRPV4* の他に *TRPV2*, *TRPM2*, *TRPM4*, *TRPM5*, *TRPM8* の発現を確認するために、異なるヒト由来の3サンプル(胎児, 成人, 老人)での発現を比較した。その結果8種類すべての遺伝子の発現が確認された。これらの発現をチンパンジーの皮膚サンプルで調べてみると、発現量の種差は認められたが、同様に8種類の発現が検出された。さらに同様の遺伝子発現をアカゲザル7個体について調べたところ、発現の個体変異があることがわかった。*TRPV2*, *TRPV3*, *TRPV4* については全ての個体での発現が確認できたが、*TRPM5*, *TRPM8* では発現はほとんどの個体で検出できない(表1)。また *TRPV1* に関しては、一個体で発現が確認できなかった。これらの発現パターンについて、マイクロアレを用いた定量的な解析を行っている。

	TRPV1	TRPV2	TRPV3	TRPV4
ヒト	○	○	○	○
チンパンジー	○	○	○	○
アカゲザル	△	○	×	△

	TRPM2	TRPM4	TRPM5	TRPM8
ヒト	○	○	○	○
チンパンジー	○	○	○	○
アカゲザル	×	○	?	?

表1: 温度受容体遺伝子の発現の比較
 ○: 全ての個体で発現が確認された。
 △: 個体により発現しているかどうか異なる
 ×: 発現が確認されない。
 ? : 薄いバンドが確認される。

(3) ヒトの多型解析: 塩基配列を決定した世界各地の民族32個体の *TRPV1* 遺伝子について exon9 と exon 10 を含む 3.5kb のゲノム領域を比較し多型解析をした。この実験の背景には 1999 年にトウガラシの辛味成分であるカプサイシンに感受性がない *TRPV1* 遺伝子の塩基配列が NCBI データベースに報告されていることがある。この *TRPV1* 遺伝子は exon10 での2塩基欠失により、偽遺伝子化している。そこで、同様な *TRPV1* 偽遺伝子が人類集団に他に見つかるかどうかを調べることも目的とした。結果はカプサイシンの受容に関わる 511 番と 512 番のアミノ酸について 32 個体中に変異は認められなかった。32 個体の配列 64 本中に、27 種類の異なる配列(ハプロタイプ)を検出した。面白いことに、このハプロタイプの系統関係は 160 万年ほど前に2分岐し、その一方は現在のアフリカに、そして他方は、アジア・ヨーロッパのサンプルで保持されていることがわかった。また、この2分岐は exon9 と exon10 それぞれのアミノ酸多型と完全に連鎖している。32 個体由来のサンプルの塩基多様度は 0.4% とヒト集団の平均よりも5倍ほど大きい。おそらくこの比較的古い2分岐が影響しているものと考えられる

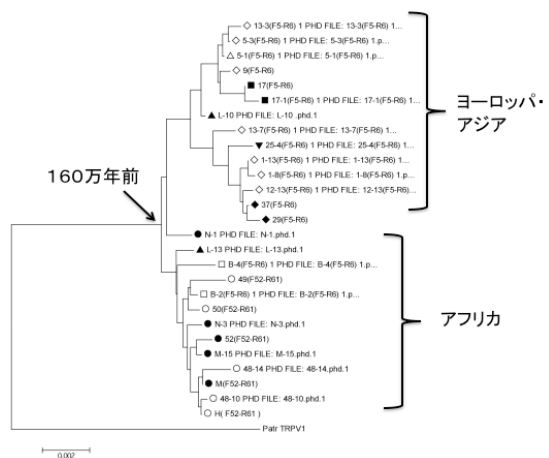


図1: ヒト32個体の *TRPV1* の遺伝子系図

4) TRPMサブファミリーの分子進化的解析：
TRPMサブファミリーの起源と機能分化の過程を明らかにするために、現在入手可能なゲノムの塩基配列中で、TRPM1～TRPM8のオーソログを探索した。その結果、TRPMサブファミリーの起源は脊椎動物出現以前にさかのぼるものの各系統でのbirth and deathも頻繁であった。

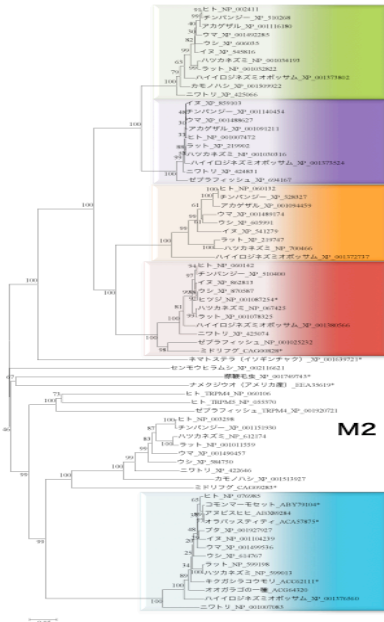


図2 TRPM1, TRPM3, TRPM6, TRPM7, TRPM2, TRPM8のアミノ酸配列に基づく分子系統樹

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

- ① 颯田葉子、感覚分子から見たヒトの進化、ファルマシア、43：405-409、2007、査読無
- ② 郷康広、颯田葉子、五感の遺伝子から見たヒトの進化、別冊日経サイエンス、157、8-17、2007、査読無

[学会発表] (計2件)

- ① 西岡輔、高畑尚之、颯田葉子、TRPM6/7における進化的特性の解析、第80回日本遺伝学会、2008年9月3日、名古屋
- ② 颯田葉子、遺伝子-私たちが祖先から受け継いだ遺産、第79回日本遺伝学会公開市民講座、2007年9月22日、岡山

②

[図書] (計1件)

郷康広、颯田葉子、岩波書店、岩波科学ライブラリー 環境をく感じる>、2009、114ページ (1-12、82-114)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

颯田 葉子 (SATTA YOKO)
総合研究大学院大学・先端科学研究科・教授
研究者番号 20222010

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

西岡 輔 (NISHIOKA TASUKU)
総合研究大学院大学・
葉山高等研究センター・上級研究員
研究者番号：50507192

