

## 論 文 要 旨

**TRPA1 detects environmental chemicals and induces avoidance behavior and arousal from sleep**

TRPA1 は環境化学物質を検知し  
忌避行動を誘発し、睡眠から覚醒させる

米満 亨

**【序論および目的】**

外界の危険を察知し、それを回避することは生命維持において最も重要な行動である。イオンチャネル・受容体の一つである TRPA1(Transient Receptor Potential Ankyrin 1)は主に感覚神経に存在し、刺激性の化学物質によって活性化され痛みや行動抑制を引き起こすことが知られている。たとえば、皮膚に付着したホルマリンによる痛み、気道に侵入したタバコ煙による呼吸抑制、わさびで鼻にツンとくる感覚などに TRPA1 が関与している。

今回我々はホルマリンやワサビを嗅いだ時の鼻にツンとくる感覚は危険を知らせるセンサーとして機能している、つまり気道や肺など体内深く侵害刺激物質が到達しないよう、気道の入り口である鼻腔内で早期に検知しているという仮説を立て、野生型マウスと TRPA1 欠損マウスとを用いた比較行動実験ならびに神経組織化学的検討を行った。

**【材料および方法】**

1. 野生型マウス(n=6)と週齢の同じ TRPA1 欠損マウス(Jackson Lab から購入、n=6)を用いて、Place Avoidance/preference Test による比較行動実験を行った。手製の装置を作り、マウスを装置に十分慣れさせた後、既知の TRPA1 アゴニストであるホルマリンの蒸気で満たした部屋と、コントロールの部屋への入室回数と滞在時間を5分間測定し、比較検討した。事前に予備実験を行い、この装置において、それぞれのマウスが各部屋への移動に偏りがないことを確認した。
2. 実験装置の室内で蒸発させたホルマリン濃度を測定し、ホルマリン蒸気の濃度の違いによって野生型マウスの入室回数に違いがあるかを検討した。
3. TRPA1 の選択的アンタゴニストである API18 の鼻腔内への局所投与または皮下注射による全身投与によって、ホルマリン蒸気で充満させた部屋への野生型マウスの忌避行動が抑制されるかを検討した。
4. 別の TRPA1 アゴニストであるワサビの成分である Allyl isothiocyanate とタバコ煙に含まれる Acrolein についても、同様の行動実験を行った。

5. 脳波(EEG)と筋電図(EMG)記録用電極を埋め込んだマウスを作成し、睡眠状態からホルマリンの蒸気吸入による覚醒までの時間を、野生型マウスと TRPA1 欠損マウスで測定し、コントロール群(自然覚醒)と比較した。
6. 神経線維トレーサーである DiI (Molecular Probe 社) を野生型マウスの鼻腔内に投与し、1週間後、深麻酔下に灌流固定を行い、三叉神経節を取り出し、抗 TRPA1 抗体で染色し、蛍光顕微鏡で観察した。
7. 野生型マウスと TRPA1 欠損マウスをそれぞれホルマリン蒸気に暴露させた群とコントロール群に分け、神経細胞活性化のマーカー蛋白質である c-fos の三叉神経脊髄路核における発現量をカウントした。

## 【結果】

1. 手製の装置において、野生型マウスはホルマリン蒸気で満たされた部屋には全く入らなかったが、TRPA1 欠損マウスは平気で入室した。(P<0.01)つまり、TRPA1 欠損マウスはホルマリン蒸気に対して忌避行動を示さなかった。
2. ホルマリン蒸気の濃度を下げていくと、野生型マウスのホルマリン蒸気に対する忌避行動が減弱した。つまり野生型マウスにおける忌避行動はホルマリンの濃度依存性であった。(P<0.05)
3. 野生型マウスの忌避行動は TRPA1 選択的アンタゴニストである AP18 の鼻腔内投与で減弱したが、同濃度の AP18 の全身投与では減弱しなかった。(P<0.05)
4. 別の TRPA1 アゴニストである Allyl isothiocyanate と Acrolein についても、野生型マウスはホルマリンの時と同様に忌避行動を示したが、TRPA1 欠損マウスは忌避しなかった。(P<0.01)
5. 睡眠中の野生型マウスはホルマリン蒸気暴露で速やかに覚醒したが(P<0.001)、TRPA1 欠損マウスの覚醒時間はコントロール群と差が無かった。
6. 野生型マウスの三叉神経節において、鼻腔内に投与した DiI と抗 TRPA1 抗体との二重染色像を認めた。
7. ホルマリン蒸気に暴露した野生型マウスは三叉神経脊髄路核において、TRPA1 欠損マウスと比較して有意な c-fos 発現増加を認めた。(P<0.01)

## 【結論及び考察】

今回の行動実験によって、野生型マウスは鼻腔内の TRPA1 を介して環境侵害刺激を忌避することを初めて証明した。つまり、鼻腔内の TRPA1 が環境侵害刺激を体内に取り込んでしまわないように、積極的な回避行動をとらせる最初期警報装置の役割を果たしていると考えられる。その忌避行動は環境刺激物質の濃度依存性に増強した。また環境侵害刺激からの覚醒においても TRPA1 が重要な働きをしていることが分かった。その経路として鼻腔内三叉神経が重要な働きをしていることが分かった。今回の研究では嗅神経との関連を明確にすることはできなかったが、嗅神経にも TRPA1 が発現しているという報告もあり今後さらに検討が必要である。しかし、三叉神経の分布する呼吸上皮は嗅上皮よりも鼻孔近くに存在しており、より早期の情報収集に適している点は重要と考えられる。

今回、鼻腔内三叉神経が環境侵害刺激の最初期警報装置として証明できた。また、警報系からの入力が意識に上る場合には痛みとして認識されることが多いので、鼻腔内三叉神経の TRPA1 を特異的に阻害する薬剤が開発できれば、新しい作用機序の鎮痛薬となる可能性がある。