

平成 28 年 5 月 18 日現在

機関番号：13301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26650173

研究課題名(和文) 熱中症危険度予測の分子戦略 暑熱順化の分子機構解明とその応用

研究課題名(英文) Molecular mechanisms of heat acclimation - How to prevent heat stroke

研究代表者

杉本 直俊 (Sugimoto, Naotoshi)

金沢大学・医学系・准教授

研究者番号：80272954

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：近年、気温の上昇により熱中症発病者が急増し、特に熱中症高齢者の増加が特記される。熱中症予防の基本は暑さに身体を慣らす、つまり暑熱順化である。しかし暑熱順化の分子機構はほとんど解明されていないのが現状である。本研究では暑熱順化の分子機構の解明を試みた。

暑熱順化により(1)シャペロンタンパク質であるHeat Shock Proteinsが増加した、(2)低酸素刺激にも耐性が獲得された、(3)温度センサーであるTRPV1が減少した。以上が、これまでに判明した暑熱順化の分子生物学的な解析結果である。本成果により、熱中症予防への応用が少なからず可能性が高まったと思われる。

研究成果の概要(英文)：Recently, temperature of earth is increasing and heat stroke often occurs. To prevent heat stroke in the world, molecular mechanisms of heat adaptation should be revealed. In this study, we investigated the effects of heat on cells. Heat increased heat shock proteins and aquaporins. Heat also induced tolerance of hypoxia. Interestingly, heat down-regulated TRPV1, a thermal sensor. Here, we revealed a part of molecular mechanism of heat acclimation.

研究分野：応用人類学、環境生理学

キーワード：暑熱順化 熱中症

1. 研究開始当初の背景

日本の国土は南北に長く、亜熱帯から冷帯地域まで分布している。しかし、近年の地球温暖化現象により日本の気温は徐々に上昇している。また、日本の高齢化のスピードを示す指標である倍加年数（高齢化率が7%を超える「高齢化社会」から14%を超える「高齢社会」にいたるまでの期間）が24年であり、欧州デンマークの85年、英国の47年に対して、極端に短いことから、短期間で人口の高齢化が進んだことが判る。

日本での熱中症死者数は1995年318名であったが、15年後の2010年には1731名に増加した。高齢者死亡数（高齢者の割合）も1995年172名(54%)であったのに対し、2010年では1372名(79%)と約8倍に増加した。

地球温暖化現象と超高齢社会の歪んだ熱中症発生率、これらの問題は先送りできない事案である。地球温暖化を止める、人口の高齢化を止める、これらは長期的な視点に立って解決策を模索しなければならない。それらに対して熱中症予防への対策は、より短期的な視点から模索できると考える。

2. 研究の目的

近年、気温の上昇により熱中症発病者が急増し、特に熱中症高齢者の増加が特記される。熱中症の予防として適度な水分と塩分の補給が推奨されているが、口渇感や暑さへの感受性が弱い高齢者にとってはその実施が難しい。根本的な熱中症予防は暑さに身体を慣らす、つまり暑熱順化と考えられる。しかし暑熱順化の分子機構の解明はほとんど進んでいないのが現状である。

私たちはこれまで暑熱順化したラットの唾液腺で水輸送体アクアポリン5(AQP5)の発現が亢進することを報告した(Sugimoto et al, Sci Reports-UK, 2013)(図1)。一方、個体の現象と思われていた暑熱順化が、細胞レベルでも存在(熱耐性能の獲得)することを証明した(Sugimoto et al, Cell Physiol Biochem, 2012)。

暑熱順化の分子機構を解明することで、暑

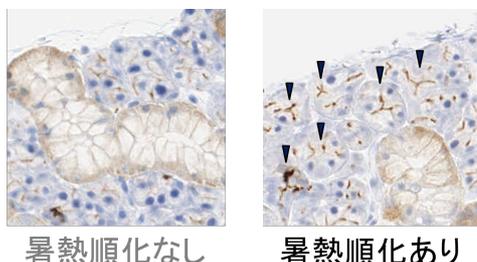


図1 暑熱順化により、唾液腺(▼)での水チャネル分子AQP5の発現が亢進した。

熱順化獲得のしやすさ、もしくは獲得のしにくさが明らかにされる。私たちは、その延長線上に“熱中症のなり易さ・なり難さ”の個人的な特徴を明らかにできると考えた。

3. 研究の方法

温度刺激(細胞には39.5℃、ラットには32℃)を継続して実施した。検体から回収したRNA、タンパク質、そして組織を用いて、RT-PCR法、ウエスタンブロット法や免疫組織化学法にて様々な分子の発現やシグナル伝達機構について解析した。

さらに、温度刺激(ヒートショック)が他の刺激(たとえば食中毒時)に対してどのように修飾するかを検討した。

4. 研究成果

(1) 暑熱順化により、シャペロンタンパク質である熱ショックタンパク質(HSPs)群が誘導される(図2)。細胞依存的であるが水輸送体であるアクアポリン発現も変動する。アクアポリン発現については予想外の細胞での変動を観察し、熱と水代謝の重要性が示唆された。また、暑熱順化期間が2か月を超えると、暑熱耐性は確固なものとなるが、低酸素に対して耐性(強くなる)を獲得することを見出した(図3)。

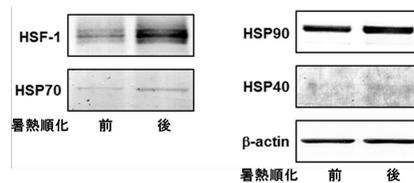


図2 暑熱順化により、HSF1やHSPsの発現が亢進
論文業績©Sugimoto et al. CBB, 2014; 70: 301-307

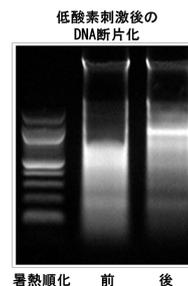


図3 暑熱順化により、低酸素耐性能の獲得
論文業績©Sugimoto et al. CBB, 2014; 70: 301-307

(2) 暑熱順化により、42℃以上で反応する熱センサーTRPV1の発現が減少することを見出した。一方、27-34℃の熱に反応するTRPV4の発現には暑熱順化が影響しなかった。このことは、熱に対する過度の反応を抑制する機構が存在すると推察された。

(3) 食中毒発生は雑菌の繁殖から気温が温かくなったところに一つのピークがあるが、腸管出血性大腸菌食中毒模倣下では細胞内のシャペロンタンパク質HSP70の発現減少が観察された。そのHSP70低下細胞にヒートショックストレスを加えると細胞死が誘導されることを見出した(図4)。温度刺激(ヒートショック)が腸管出血性大腸菌食中毒において病態の増悪に関与することを示唆している。

(4) 腸管出血性大腸菌食中毒模倣下では工

ンドトキシンがグリア細胞での水チャネル発現を亢進することが観察された。また、熱刺激単独でもグリア細胞において水チャネルの発現が亢進した。この水チャネルは脳浮腫に強く関与する分子であり、腸管出血性大腸菌食中毒が増悪した時にしばしば脳症を発症するが、その原因であると推察された(図5)。

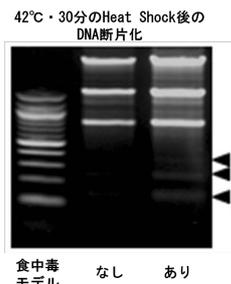


図4 食中毒時、細胞は熱に弱くなり早く死ぬ
論文業績⑦Sugimoto et al. CBTO, 2014; 301-307

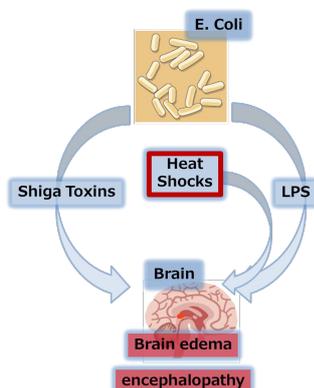


図5 脳症の発生機序

論文業績①Sugimoto et al. J BiomedSci, 2015; 22: 78
論文業績⑦Sugimoto et al. CBTO, 2014; 70: 301-307

(5) 高齢ラットは幼若ラットに比べ、暑熱順化による脳内での神経新生において劣っていることを明らかにした。

以上から暑熱順化の分子基盤の一部が明らかにできたと考える。本成果により、熱中症予防への応用が少なからず可能性が高まったと思われる。

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7件)

Sugimoto N, Leu H, Inoue N, Shimizu M, Toma T, Kuroda M, Saito T, Wada T, Yachie A. The critical role of lipopolysaccharide in the upregulation of aquaporin 4 in glial cells treated with Shiga toxin. J Biomed Sci. 2015; 22: 78. doi: 10.1186/s12929-015-0184-5 [査読有]

Matsuzaki K, Katakura M, Sugimoto N, Hara T, Hashimoto M, Shido O. -amyloid infusion into lateral ventricle alters behavioral thermoregulation and attenuates acquired heat tolerance in rats.

Temperature, 2; 418-424, 2015. DOI:10.1080/23328940.2015.1044635 [査読有]

Shido O, Matsuzaki K. Involvement of neurogenesis in the hypothalamic area in establishing long-term heat acclimation in rats. Temperature, 2; 362-367, 2015. DOI:10.1080/23328940.2015.1076591 [査読有]

Matsuzaki K, Katakura M, Inoue T, Hara T, Hashimoto M, Shido O. Aging attenuates acquired heat tolerance and hypothalamic neurogenesis in rats. J Comp Neurol. 2015; 523:1190-201. doi: 10.1002/cne.23732. [査読有]

Yokoyama T, Sugimoto N, Kato E, Ohta K, Ishikawa S, Ueno K, Shimizu M, Yachie A. Rotavirus gastroenteritis-associated urinary ammonium acid urate crystals. Pediatr Int. 2015; 57:158-60. doi: 10.1111/ped.12405 [査読有]

Sugimoto N, Shido O, Matsuzaki K, Katakura M, Hitomi Y, Tanaka M, Sawaki T, Fujita Y, Kawanami T, Masaki Y, Okazaki T, Nakamura H, Koizumi S, Yachie A, Umehara H. Long-term heat exposure prevents hypoxia-induced apoptosis in mouse fibroblast cells. Cell Biochem Biophys. 2014; 70:301-7. doi: 10.1007/s12013-014-9912-9 [査読有]

Sugimoto N, Toma T, Shimizu M, Kuroda M, Wada T, Yachie A. Shiga toxin-2 enhances heat-shock-induced apoptotic cell death in cultured and primary glial cells. Cell Biol Toxicol. 2014; 30:289-99. doi: 10.1007/s10565-014-9286-1 [査読有]

[学会発表](計17件)

杉本直俊、「東アジア諸国の高齢者対策 - 生活と労働 - 」、第三回「食と環境、そして高齢化を考える研究会」、平成28年3月4日、ホテル日航金沢(石川県・金沢市)

杉本直俊、Lue Hue、井上なつみ、清水正樹、東馬智子、黒田文人、和田泰三、谷内江昭宏、「腸管出血性大腸菌由来 LPS は志賀毒素のグリア細胞毒性を増強する」、第47回日本小児感染症学会総会・学術集会、平成27年11月1日、ザ・セレクトン福島、ホテル福島グリーンパレス、コラッセふくし(福島県・福島市)

Leu Hue、杉本直俊、清水正樹、東馬智子、和田泰三、太田邦雄、谷内江昭宏、「腫瘍壊死因子(TNF-)は志賀毒素のグリア細胞への作用を修飾する」、第47回日本小児感染症学会総会・学術集会、平成27年10月31日、ザ・セレクトン福島、ホテル福島グリーンパレス、コラッセふくし(福島県・福島市)

松崎健太郎、杉本直俊、片倉賢紀、原俊子、紫藤治、「ラット暑熱順化形成時の視床下部神経新生と耐暑熱性の加齢変化」、第54回

日本生気象学会大会、平成 27 年 11 月 7 日、中京大学名古屋キャンパス（愛知県・名古屋市）

杉本直俊、松崎健太郎、片倉賢紀、紫藤治、「温度センサーによる暑さの“鈍感さ”の獲得」、第 5 4 回日本生気象学会大会、平成 27 年 11 月 6 日、中京大学名古屋キャンパス（愛知県・名古屋市）

Sugimoto N、「A Review of Long-term Care Insurance in Japan」、『2015 International Conference on Long-term Care Social Work and Humanistic Practice』、2015 年 10 月 16 日、台中（台湾）

杉本直俊、「暑熱順化と細胞の温度センサーについて」、第 2 9 回運動と体温の研究会、平成 27 年 9 月 17 日、ホテルアバローム紀国（和歌山県・和歌山市）

杉本直俊、東馬智子、清水正樹、黒田文人、和田泰三、谷内江昭宏、「志賀毒素と LPS の相乗作用-グリア培養細胞への影響-」、第 118 回日本小児科学会学術集会、平成 27 年 4 月 19 日、リーガロイヤルホテル大阪（大阪府・大阪市）

Sugimoto N, Matsuzaki K, Katakura M, Yachie A, Shido O、「The effect of exposure to mild heat stress on culture cells」、Experimental Biology 2015、2015 年 4 月 1 日、ボストン（米国）

杉本直俊、松崎健太郎、片倉賢紀、谷内江昭宏、紫藤治、「細胞レベルでの暑熱暴露、暑熱順化を考える」、第 1 0 回環境生理学プレコングレス、平成 27 年 3 月 20 日、ホテル北野プラザ六甲荘（兵庫県・神戸市）

杉本直俊、「高齢者骨格筋の必要性 - 熱中症予防への戦略 - 」、第二回「食と環境、そして高齢化を考える研究会」、平成 26 年 11 月 28 日、一般財団法人アジア太平洋研究所（大阪府・大阪市）

松崎健太郎、片倉賢紀、杉本直俊、宮本まゆみ、原俊子、紫藤治、「アミロイド 脳室投与はラット暑熱馴化形成を減弱させる」、第 5 3 回日本生気象学会大会、平成 26 年 10 月 25 日、桐蔭横浜大学（神奈川県・横浜市）

杉本直俊、松崎健太郎、片倉賢紀、紫藤治、「低酸素が細胞に与える影響」、第 5 3 回日本生気象学会大会、平成 26 年 10 月 24 日、桐蔭横浜大学（神奈川県・横浜市）

杉本直俊、「温度と骨格筋分化」、第 2 2 回日本発汗学会総会・第 2 8 回運動と体温の研究会合同大会、平成 26 年 9 月 19 日、長崎大学文教キャンパス（長崎県・長崎市）

Sugimoto N、「韓国と日本における協働の問題、協力的な解決策」2014 ARF Symposium、2014 年 9 月 12 日、ソウル（韓国）

杉本直俊、東馬智子、清水正樹、黒田文人、和田泰三、谷内江昭宏、「志賀毒素のグリア細胞への作用 - 2011 年に発生した焼肉屋チェーン店食中毒の事例から予測されること（第 2 報）」、第 9 回スフィンゴセラピー研究会、平成 26 年 7 月 19 日、中山温泉河鹿荘口

イヤルホテル（石川県・加賀市）

Sugimoto N, Miwa S, Katakura M, Matsuzaki K, Shido O, Tsuchiya H, Yachie A、「Theobromine, the primary methylxanthine found in Theobroma cacao, inhibits malignant glioblastoma cell growth by negatively regulating Akt/mammalian target of rapamycin kinase」、Experimental Biology 2014、2014 年 4 月 30 日、サンディエゴ（米国）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉本 直俊（SUGIMOTO, Naotoshi）

金沢大学・医学系・准教授

研究者番号：8 0 2 7 2 9 5 4

(2) 研究分担者

紫藤 治（SHIDO, Osamu）

島根大学・医学部・教授

研究者番号：4 0 1 7 5 3 8 6