

学位論文

TRPV1 の塩基配列と感覚受容の
個人差の関連についての研究

岡本 望

大学院歯学独立研究科 顎口腔機能制御学部門生体調節制御学講座
(主指導教員:金銅 英二 教授)

松本歯科大学大学院歯学独立研究科博士(歯学)学位申請論文

Title:The relationship between variability of hot sensations
and polymorphism of TRPV1 genome sequence

Nozomu Okamoto

Department of Oral & Maxillofacial Biology, Graduate School of Oral Medicine
(Chief Academic Advisor : Professor Eiji Kondo)

The thesis submitted to the Graduate School of Oral Medicine,
Matsumoto Dental University, for the degree Ph.D. (in Dentistry)

要 旨

TRPV1 (transient receptor potential cation channel subfamily V member 1) は熱、カプサイシン、酸等によって開く陽イオンチャネルであり、ヒトを含めた多くの哺乳動物では、熱痛覚と辛味はいずれも末梢感覚神経に発現する TRPV1 受容体によって認識される。この分子については、これまでの研究から温度閾値が約 43°C であること、カプサイシンの濃度閾値が約 0.6 μM であること、さらにその結合部位といった分子特性が明らかにされている。しかしこのような明確な分子特性に反して、日常生活におけるヒトの熱感覚受容および辛味受容の感度には明らかな個人差が存在する。本研究では、熱痛覚受容とカプサイシン受容の個人差と TRPV1 分子の関連を解明することを目的とした。被験者 30 名に対し、熱や辛味に対する自覚症状に関するアンケート、48°C に熱したホットプレートに手を当てて、熱痛覚による逃避までの潜時を測定する熱痛覚感度テスト、濃度 0 $\mu\text{g/ml}$ から 0.15 $\mu\text{g/ml}$ までのカプサイシン溶液を低濃度から順に口に含み、カプサイシン感度閾値を明らかにするカプサイシン感度テストを行った。さらに被験者の口腔粘膜からゲノムを抽出して TRPV1 ゲノム配列を解析し、各テスト結果との相関を調べた。これにより、本人の自覚や嗜好と実際の感度の間には相関がないことが明らかになった。さらに熱痛覚感度は最小 2.1 秒、最大 25 秒、平均 7.23 秒 \pm 5.52、カプサイシン感度は最小 0.05 $\mu\text{g/ml}$ 、最大 0.15 $\mu\text{g/ml}$ 、平均 0.088 $\mu\text{g/ml}$ \pm 0.027 とそれぞれ大きな個人差がみられたが、同じ受容体によって伝え

られるはず二つの感度の間にも明確な相関はみられなかった。TRPV1 領域約 49 kbp の中でもエクソンを中心に合計約 12 kbp の配列を調べたゲノム配列解析からは新規のものを含めた多数の SNP が検出され、それらのうちのいくつかは熱痛覚感度との相関がみられたが、カプサイシン感度との相関はみられなかった。本研究からは、熱痛覚感度とカプサイシン感度は独立した認識システムを持つこと及び熱痛覚感度のほうがゲノム配列の影響を受けている可能性が高いことが明らかになった。カプサイシンに対する感覚により強く影響を与えていると思われるゲノム配列非依存性の要因については今後のさらなる研究が必要とされる。

緒 言

transient receptor potential cation channel subfamily V member 1 (TRPV1)は複数の刺激に応じて開口する非選択的陽イオンチャネルであり、皮膚等に分布する侵害受容神経の軸索終末に発現して、各種の刺激を痛みとして中枢に伝達する役割を担っている¹⁾。TRPファミリーは神経組織を中心に発現するチャネルタンパク群で、末梢神経系から中枢神経系まで広く分布して多種多様な役割を担っていると考えられているが^{2,3)}、なかでもTRPV1、TRPV2、TRPM8、TRPA1は特定の温度範囲に応じて開口する温度感受性チャネルであることが分かっている。温度閾値はTRPV1が約43°C⁴⁾、TRPV2が約52°Cで⁵⁾、TRPM8は約27°C⁶⁾、TRPA1は約17°C⁷⁾であり、周囲環境の認識や侵害性のある温度から逃避することによる生体防御に必須であると考えられている⁸⁾。また、これらのチャネルは口腔内にも発現しており、味覚の一部を担うことも知られている⁹⁾。TRPM8はハッカやミントに含まれるメンソールに反応して清涼感を生じさせ^{10,11)}、TRPV1はトウガラシに含まれるカプサイシンに反応して辛味や熱感を生じさせる¹²⁾。

これまでに培養細胞を用いた実験により、TRPV1は熱に対する閾値が約43°C⁴⁾、カプサイシンに対する閾値が約0.6 μM¹²⁾であることが証明されている。このように、熱とカプサイシン双方の受容体であるTRPV1の分子特性が詳細に明らかにされている一方で、熱刺激に対する感度やカプサイシンに対する感度は多様な個人差が認められる。例えば熱に関し

ては入浴時の浴槽温度についての嗜好は様々である。また、食品の温度に関しても多様な嗜好が認められる。さらに味覚でもカプサイシンを含む辛い食品に対する嗜好も多様性がある。

このような個人差が生じる要因の1つとして TRPV1 分子そのものの違いが考えられる。TRPV1 は哺乳類全般の進化の過程においてよく保存されたタンパクであり¹³⁾、生物の生存に重要な役割を果たしていることが予想されるが、TRPV1 ノックアウトマウスが飼育下で生存できること¹⁴⁾等から自然淘汰のない現代社会に生きるヒトにおいては生命維持のため必須とされる機能を担っているわけではないことが推測できる。これは TRPV1 の機能に影響を及ぼすような突然変異が生じてもその個体は淘汰されることなく生存できることを示しており、そのような突然変異がヒトの中に Single Nucleotide Polymorphism (SNP) として蓄積している可能性を示唆している。実際に National Center for Biotechnology Information (NCBI) の SNP データベースには、ヒト TRPV1 遺伝子上の SNP が数千ヶ所以上も登録されている。このうち、ほとんどの SNP はイントロン上のものであり、遺伝子機能に与える影響は皆無もしくは非常に小さなものであると考えられるが、中にはエクソン内もしくはエクソンのごく近位に存在し、アミノ酸配列や mRNA 機能に影響を与えるものもある¹⁵⁾。これら SNP の中に、熱痛覚感度やカプサイシン感度を変化させるものが含まれている可能性がある。

本研究では、TRPV1 に受容される熱刺激、カプサイシン刺激に対する感度と TRPV1 ゲ

ノム配列の関係を調べることを目的として、熱刺激やカプサイシン刺激に対する本人の自覚や嗜好と、実際の熱痛覚感度とカプサイシン感度の関係を調べ、さらにそれらの結果と TRPV1 ゲノム配列を比較した。その結果、本人の自覚や嗜好と実際の感度の間にはそれほど強い相関はないことが明らかになった。さらに熱痛覚感度とカプサイシン感度はそれぞれ大きな個人差がみられたが、同じ受容体によって伝えられるはずの 2 つの感度の間にも明確な相関は見られなかった。一方、ゲノム配列の解析からは新規のものを含めた多数の SNP が検出され、それらのうちのいくつかは熱痛覚感度との相関がみられたが、カプサイシン感度との相関はみられなかった。

材料と方法

1. 被験者

本研究は「ヘルシンキ宣言」、「ヒトゲノムと人権に関する世界宣言」、及び松本歯科大学「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」に基づき計画立案を行い、松本歯科大学「研究等倫理審査委員会」の承認を受けて行った(臨床研究:承認番号 0173、ヒトゲノム・遺伝子研究解析:承認番号 0174)。

被験者は、20～35 歳の健常人 30 名（男性 17 名、女性 13 名）を対象とした。試料採取

及び行動テストは事前に十分インフォームド・コンセントを行い、参加者の同意意思を確認して実施した。採取した試料については、松本歯科大学「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従って保管し、匿名化作業を行った後に解析を行った。

2. 行動テスト

被験者には室温 20～25℃の室内にて、ヘッドフォンを用いて 5 分間静かな音楽を聴いて安静にした後、簡単なアンケートを実施した。その後、熱痛覚感度テスト、カプサイシン感度テストを行い、最後に試料採取を行った。

2.1 アンケート

アンケート項目は独自に作成した。問 1 と問 6 は熱に関連した質問、問 2～4 はカプサイシンに関連した質問で、問 5 は熱痛覚に影響を与える末梢循環に関連した質問となっている。各質問に対する回答は「当てはまる」「少し当てはまる」「あまり当てはまらない」「当てはまらない」に該当する 4 項目からの選択肢とした。実際に使用したアンケート用紙を図 1 に示す。

2.2 熱痛覚感度テスト

48℃のホットプレートに手を当て、熱くて我慢できなくなったら手を離してもらい、その逃避潜時を計測した。逃避潜時の有効数字は小数点以下 1 桁とした。ホットプレート設定温度は、他の TRP ファミリーサブタイプの閾値と重複しない 48℃とした。測定は最初に

左手、続いて右手の順とした。また、逃避潜時の最大は 25 秒とした。

2.3 カプサイシン感度テスト

カプサイシン溶液 3 mg/ml (80% Ethanol、7% tween80、0.1 M Phosphate buffered saline) を蒸留水で希釈し、8 種類の濃度の溶液 (0 $\mu\text{g/ml}$ 、0.05 $\mu\text{g/ml}$ (0.16 μM)、0.06 $\mu\text{g/ml}$ (0.20 μM)、0.07 $\mu\text{g/ml}$ (0.23 μM)、0.08 $\mu\text{g/ml}$ (0.26 μM)、0.09 $\mu\text{g/ml}$ (0.29 μM)、0.10 $\mu\text{g/ml}$ (0.33 μM)、0.15 $\mu\text{g/ml}$ (0.49 μM) を作成した。被験者には、各濃度のカプサイシン溶液 5 ml を低濃度のものから順に口に含んでもらった。5 秒間、口に含んだ後に吐き出し、水道水で洗口後に判定をし、次の濃度の溶液に移った。溶液を口に含んでから次の濃度の溶液を含むまでの間隔は 30 秒で一定とした。各濃度ごとに刺激の有無を被験者自身が判定して「入ってない」「たぶん入っていない」「入っているような気がする」「入っている」の 4 項目の選択肢から回答を得た。なお、被験者には濃度は知らせなかった。得られた回答が「たぶん入ってない」から「入っているような気がする」に変化するところを感度閾値とした。

3. ゲノム配列解析

3.1 試料採取

歯間ブラシで頬粘膜を擦過して粘膜細胞を採取し、ゲノム DNA 抽出キット ISOHAIR (TOYOBO、大阪、日本) を用いてゲノム抽出を行い、蒸留水 100 μl に溶かした。その

後、Mag Extractor (TOYOBO、大阪、日本) で精製し、濃度を 1 µg/ml に調整した。被験者 30 人のうち 23 人分を採取した。

3.2 配列解析

ゲノム 1~5 µg/ml に KOD plus neo (TOYOBO、大阪、日本) を用いて、基本的には付属のマニュアル通りに PCR を行った。プライマーは Primer3 (オープンソース、<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>) を用いて TRPV1 ゲノム領域のエクソンおよびその周囲のみを標的として増幅するように設計した。設計したプライマーを表 1 に示す(表 1)。各プライマーペアの PCR のサイクルは、94°C で 2 分間の熱変性後、98°C で 10 秒の熱変性及び 68~72°C で 3~5 分のアニーリング及び伸長を 45 回繰り返した。このサイクルで増幅がみられなかったプライマーペアについては、94°C で 2 分間の熱変性後、98°C で 10 秒の熱変性及び 72~74°C で 3~5 分のアニーリング及び伸長を 10 回、94°C で 2 分間の熱変性後、98°C で 10 秒の熱変性及び 70~72°C で 3~5 分のアニーリング及び伸長を 10 回、94°C で 2 分間の熱変性後、98°C で 10 秒の熱変性及び 68~70°C で 3~5 分のアニーリング及び伸長を 40 回繰り返した。増幅した各 PCR 産物は NucleoSpin Gel and PCR Clean-up (タカラバイオ、草津、日本) を用いて精製した。シーケンス反応はマクロジェンジャパン (東京、日本) に PCR 産物とプライマーを送付し反応を依頼した。シーケンス反応に用いたプライマーを表 2 に示す(表 2)。解析結果は NCBI ゲノム配列データベースの NG_029716 と比較した。

4. 統計解析

相関は Spearman の順位相関係数を用いて検討した。p 値が 0.05 以下、絶対値 0.3 以上で弱い相関が、0.6 以上で相関があるとした。2 群の間の有意差については Student t-test を用いた。有意水準は p 値が 0.05 以下とした。

結 果

1. 行動テスト

1-1. アンケート

日常生活における自覚に関するアンケートでは、各項目とも解答には個人差がみられた (表 3)。このうち、辛い食品の嗜好を問う問 2~4 の回答には互いに強い相関がみられた。また問 1 と問 2、4 にも負の弱い相関がみられ、猫舌の自覚がある人は辛い食品が苦手な傾向がみられた。問 1 と問 5 にも正の弱い相関がみられた。問 5 はしもやけの経験について問うもので、末梢循環の良し悪しを示しており¹⁶⁾、しもやけになりやすい、すなわち末梢循環が悪い人が猫舌である傾向がみられた。

1-2. 熱痛覚感度テスト

熱痛覚感度テストでは左手の結果と右手の結果の平均値を用いた。なお、右手と左手の結果が大きく違う 4 名は除外した。潜時の値は最小 2.1 秒、最大 25 秒、平均 7.23 秒、標準偏差 5.52 であった。アンケート項目のうち、熱に関連した質問である問 1 とは相関係数 0.32、問 6 とは相関係数-0.38 であり、熱痛覚感度と本人の自覚する熱に対する感覚には弱い相関があった。これに対し他の問とは相関はなかった(表 3)。

1-3. カプサイシン感度テスト

カプサイシン感度テストでは最小 0.05 $\mu\text{g/ml}$ 、最大 0.15 $\mu\text{g/ml}$ 、平均 0.088 $\mu\text{g/ml}$ 、標準偏差 0.027 だった。アンケート結果との間にも相関はみられなかった(表 3)。また、カプサイシン感度と熱痛覚感度との間にも相関はみられなかった (相関係数 0.10)。多くの被験者は熱痛覚感度 2~12 秒、カプサイシン感度 0.06~0.1 $\mu\text{g/ml}$ の範囲内の値を示したが、熱痛覚感度だけが低いタイプ、カプサイシン感度が低いタイプ、両方の感度が低いタイプがそれぞれ 1~2 名のみ存在した(図 2)。

2. ゲノム配列解析

ヒト TRPV1 ゲノム領域 45 kbp のうち、エクソンとその周辺を中心に約 19 kbp 相当の配列を解析した。NCBI のゲノム配列データベースに登録されたヒト第 17 番染色体配列 (NG_029716) と被験者全員のゲノム配列を比較したところ、63 ヶ所に SNP と思われる差異があった(図 3)。これらの SNP は 1 人にしかみられないものから、全員にみられるも

のまで発現頻度は様々だった(表 4)。NCBI の SNP データベースに登録されたものは 47 ヶ所あったが、それ以外の 16 ヶ所は新規 SNP だった(表 5)。また、63 ヶ所の SNP のうち、37 ヶ所はイントロン領域にあり、さらにそのうちの 10 ヶ所はエクソン-イントロン境界から 50 bp 以内の距離にあり、スプライシングに影響を与える可能性が考えられた^{17,18)}。残りの 26 ヶ所の SNP はエクソン内に存在した。このうち 15 ヶ所は非翻訳領域(UTR:Untranslated Region)にあり、6 ヶ所は 5'側 UTR に、9 ヶ所は 3'側 UTR に存在した。さらにアミノ酸コード領域に存在した 11 ヶ所の SNP はアミノ酸配列を変化させないサイレンス変異が 7 ヶ所、アミノ酸を変化させるミスセンス変異が 4 ヶ所だった。ミスセンス変異 4 つ(E107K,M135I,T469I,V508M)はいずれもデータベースに登録されている SNP であった。

3. SNP と熱痛覚感度及びカプサイシン感度

各 SNP については、被験者を変異なしグループ、ヘテログループ、ホモグループに分け、熱痛覚感度に差があるかどうか検討したところ、C18432(データベース ID なし)、rs161388、rs520671、rs74389246、rs4790521、rs222747 の 6 ヶ所の SNP について有意差が検出された(表 6)。このうち、C18432、rs161388、rs520671、rs74389246 の 4 ヶ所はエクソンから 50 bp 以上離れたイントロン領域にあり、どのように TRPV1 の機能に影響を与えているか不明である。また、rs4790521 (A47940) は mRNA の 3' - 非翻訳領域にありアミノ酸

配列には影響を与えないが、変異なし (A/A) 及びヘテロ (A/G) グループより、ホモ (G/G) グループのほうが熱痛覚感度が低かった。rs222747 (G24506) はアミノ酸コード領域にあり、315 番目のメチオニンをイソロイシンに変える変異である。この 315 番目のメチオニンは TRPV1 分子の N 末端細胞内領域のアンキリンリピートに存在している。この部位がイソロイシンに変異している TRPV1 分子を持つグループの方が、持たないグループよりも熱痛覚感度が高かった。

カプサイシン感度についても同様の検討を行ったが、有意差が検出された SNP はひとつもなかった。

被験者 30 名の中には、熱痛覚感度もカプサイシン感度も顕著に鈍い被験者が 1 名のみおり、この被験者のゲノム配列中にはこの被験者にのみ見られる SNP が 8 ヶ所存在した。その内訳は rs141635154、C5805T、G28668C の 3 ヶ所はイントロン領域にあり、rs148221847、rs11870382、rs11867691 の 3 ヶ所は 5'側、C48055A、C48514A の 2 ヶ所は 3'側にあった。

考 察

熱に対する感覚は、本人の自覚と実際の感度に弱い相関があり、またゲノム配列上にも実際の感度と相関する SNP が存在した。このことから TRPV1 ゲノムの配列が TRPV1

分子の機能、さらに熱に対する感度に影響を与えていることが示唆された。特に熱痛覚感度との間に有意差が検出された rs222747 では315番目のメチオニンがイソロイシンに変異している。この SNP についてはこれまでに様々な研究が行われており、大脳皮質の興奮性が上昇するという報告¹⁹⁾や過敏性腸症候群²⁰⁾や慢性膵炎²¹⁾との関連は検出されなかったという報告などがあるが、健常人の熱やカプサイシンに対する感覚との関連性の報告はない。また、分子特性としてはこの SNP があると TRPV1 分子発現量が増えてカプサイシンへの反応性が上昇するという報告がある¹⁵⁾。今回の結果では、熱痛覚感度の上昇(閾値の低下)がみられ、この熱痛覚感度の変化は TRPV1 の発現量の違いによるものである可能性が考えられる。有意差が検出された SNP のうち rs4790521 は 3' 非翻訳領域にある。5'側、3'側の非翻訳領域はアミノ酸配列に関与しないが、mRNA の安定性や翻訳効率、局在制御などに関与することがあり²²⁾、結果的に TRPV1 のタンパク量等に影響を与えている可能性が考えられる。今回の検証では、イントロン領域にも有意差が検出された SNP があつた。pre-mRNA 上には、エクソン領域にもイントロン領域にもスプライシング制御配列があることが知られており、エクソンから離れた部位の SNP もスプライシング効率や転写効率等に影響を与えることで mRNA 量を変化させる可能性がある。

今回の検証では、TRPV1 同一分子に受容される刺激であるにも関わらずカプサイシン感度と熱痛覚感度との間に相関はみられなかった。この結果については、TRPV1 分子上のカプサイシン結合部位と熱感受性決定部位がそれぞれ別のドメインであること²³⁾により説明

することができる。しかし、カプサイシン感度は、カプサイシンに対する自覚とも TRPV1 のゲノム配列とも関連がみられなかった。さらに rs222747 によって TRPV1 分子のカプサイシンに対する反応性が上昇するという報告¹⁵⁾とも一致しない。これらの事実は、カプサイシン感度の個人差はゲノム配列やそれに影響される TRPV1 分子機能の差によるものではないことを示唆している。また、一卵性及び二卵性の双子を被験者とした研究では、カプサイシンに対する感度や嗜好にはある程度の遺伝的要因があると報告されているが²⁴⁾、カプサイシンを好む人には刺激的な出来事や冒険を好むタイプが多い等²⁵⁾、香辛料に対する感覚や嗜好と性格との関連に関する報告も多くある²⁵⁻²⁸⁾。これは、カプサイシンに対する感度や嗜好には単純な TRPV1 の機能だけではなく、人格形成にも関わるさらに上位の脳機能が関与していることを示しており、今回の検証におけるカプサイシン感度にみられた大きな個人差も TRPV1 分子機能と高次脳機能双方の影響を受けているため、TRPV1 の SNP との関連は検出されなかったと考えられる。一方でアンケート項目は純粋にカプサイシンに対する嗜好を問うものであり、人格等の影響を強く受けている可能性が大きい。本研究においては、カプサイシン感度と熱痛覚感度の両方で多くの被験者が一定の範囲内の多数派グループに収まっており、カプサイシン感度が鈍いタイプ、熱痛覚感度が鈍いタイプ、その両方が鈍いタイプはそれぞれ 1~2 名散見されるのみであった。そのため有意差や相関の検出には多数派グループ内における僅差が大きく影響しており、多数派グループから逸脱している少数名については正確な統計学的検討がなされていない可能性が高い。実

際、1人だけ確認されたカプサイシン感度にも熱痛覚感度にも鈍いタイプの被験者のゲノムにはこの被験者にしかみられない SNP が 8 ヶ所存在し、これらの中にはカプサイシン感度と熱痛覚感度両方に影響を与えるものが含まれている可能性があるが、1名にしかみられないため統計学的検討はできなかった。多数派グループから逸脱したタイプに関して正確な検証を行うには被験者数を増やし、さらなる検討を行う必要がある。

今回の研究では、熱痛覚感度に関与する SNP がいくつか検出されたが、カプサイシン感度との相関はみられず、2つの感度が独立した認識システムを持つことが明らかになった。カプサイシンに対する感度により強く影響を与えていると思われるゲノム配列非依存性の要因については、今後のさらなる研究が必要である。

結 語

本研究では、熱痛覚受容とカプサイシン受容の個人差と TRPV1 分子の関連を解明することを目的とした。まず熱痛覚感度テスト、カプサイシン感度テストを行い、さらに被験者の TRPV1 ゲノム配列を解析し、各テスト結果との相関を調べた。その結果、本人の自覚や嗜好と実際の感度の間には相関がないことが明らかになった。さらに熱痛覚感度は最小 2.1 秒、最大 25 秒、平均 7.23 秒±5.52、カプサイシン感度は最小 0.05 µg/ml、最大 0.15 µg/ml、

平均 $0.088 \mu\text{g/ml} \pm 0.027$ とそれぞれ大きな個人差がみられたが、同じ受容体によって伝えられるはず二つの感度の間にも明確な相関はみられなかった。TRPV1 ゲノム領域からは多数の SNP が検出され、それらのうちのいくつかは熱痛覚感度との相関がみられたが、カプサイシン感度との相関はみられなかった。これらより熱痛覚感度とカプサイシン感度は独立した認識システムを持つこと及び熱痛覚感度のほうがゲノム配列の影響を受けている可能性が高いことが明らかになった。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、ご指導を賜りました松本歯科大学大学院顎口腔機能制御学部門生体調節制御学講座 金銅英二教授、松本歯科大学口腔解剖学第 1 講座 奥村雅代講師に深甚なる感謝の意を表します。また的確な研究の助言を頂きました松本歯科大学大学院顎口腔機能制御学部門生体調節制御学講座 澁谷 徹教授、富田美穂子教授に深く感謝申し上げます。最後に、この研究生生活を絶えず支え応援してくれました両親（父:岡本 学、母:岡本 博美）、妻(岡本 文)に心から感謝致します。

参考文献

- 1) Bevan S, Quallo T, Andersson DA (2014) TRPV1. *Handb Exp Pharmacol* 222 : 207-45.
- 2) Moran MM, Xu H, Clapham DE (2004) TRP ion channels in the nervous system. *Curr Opin Neurobiol* 14 : 362-9.
- 3) Venkatachalam K, Montell C (2007) TRP channels. *Annu Rev Biochem* 76 : 387-417.
- 4) Voets T, Droogmans G, Wissenbach U, Janssens A, Flockerzi V, Nilius B (2004) The principle of temperature-dependent gating in cold- and heat-sensitive TRP channels. *Nature* 428 : 748-54.
- 5) Caterina MJ, Rosen TA, Tominaga M, Brake AJ, Julius D (1999) A capsaicin-receptor homologue with a high threshold for noxious heat. *Nature* 399 : 436-41.
- 6) McKemy DD, Neuhauss WM, Julius D (2002) Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation. *Nature* 415 : 52-8.
- 7) Story GM, Peier AM, Reeve AJ, Eid SR, Mosbacher J, Hricik TR, Earley TJ, Hergarden AC, Andersson DA, Hwang SW, McIntyre P, Jegla T, Bevan S, Patapoutian A (2003) ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures. *Cell* 112 : 819-29.
- 8) Dhaka A, Viswanath V, Patapoutian A (2006) Trp ion channels and temperature

sensation. *Annu Rev Neurosci* 29:135-61.

9) Liman ER (2006) Thermal gating of TRP ion channels: food for thought?. *Sci STKE* 14 :12.

10) McKemy DD, Neuhausser WM, Julius D (2002) Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation. *Nature* 7 : 52-8.

11) Peier AM, Moqrich A, Hergarden AC, Reeve AJ, Andersson DA, Story GM, Earley TJ, Dragoni I, McIntyre P, Bevan S, Patapoutian A (2002) A TRP channel that senses cold stimuli and menthol. *Cell* 8 :705-15.

12) Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D (1997) The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 23 : 816-24.

13) Montell C (2003) The venerable inveterate invertebrate TRP channels. *Cell Calcium* 33 : 409-17.

14) Caterina MJ, Leffler A, Malmberg AB, Martin WJ, Trafton J, Petersen-Zeitz KR, Koltzenburg M, Basbaum AI, Julius D (2000) Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor. *Science* 14 : 306-13.

15) Xu H, Tian W, Fu Y, Oyama TT, Anderson S, Cohen DM (2007) Functional effects of nonsynonymous polymorphisms in the human TRPV1 gene. *Am J Physiol Renal Physiol*

293 :1865-76.

16) Long WB 3rd, Edlich RF, Winters KL, Britt LD (2005) Cold injuries. *J Long Term Eff Med Implants* 15 : 67-78.

17) Matera AG, Wang Z (2014) A day in the life of the spliceosome. *Nat Rev Mol Cell Biol* 15 : 108-21.

18) Lee Y, Rio DC (2015) Mechanisms and Regulation of Alternative Pre-mRNA Splicing. *Annu Rev Biochem* 84 :291-323.

19) Mori F, Ribolsi M, Kusayanagi H, Monteleone F, Mantovani V, Buttari F, Marasco E, Bernardi G, Maccarrone M, Centonze D (2012) TRPV1 channels regulate cortical excitability in humans. *J Neurosci* 18 : 873-9.

20) Song YA, Park SY, Park YL, Chung CY, Lee GH, Cho DH, Park KJ, Cho SB, Lee WS, Joo YE (2012) Association between single nucleotide polymorphisms of the transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV-1) gene and patients with irritable bowel syndrome in Korean populations. *Acta Gastroenterol Belg* 75 : 222-7.

21) van Esch AA, Lamberts MP, te Morsche RH, van Oijen MG, Jansen JB, Drenth JP (2009) Polymorphisms in gene encoding TRPV1-receptor involved in pain perception are unrelated to chronic pancreatitis. *BMC Gastroenterol* 24 : 97.

22) Mignone F, Gissi C, Liuni S, Pesole G (2002) Untranslated regions of mRNAs.

Genome Biol 3 : REVIEWS0004.

23) Tominaga M, Tominaga T (2005) Structure and function of TRPV1. Pflugers Arch
451 : 143-50.

24) Törnwall O, Silventoinen K, Kaprio J, Tuorila H (2012) Why do some like it hot?
Genetic and environmental contributions to the pleasantness of oral pungency. Physiol
Behav 10 : 381-9.

25) Byrnes NK, Hayes JE (2013) Personality factors predict spicy food liking and intake.
Food Qual Prefer 1 : 213-221.

26) Marvin Z (1994) Behavioral Expressions and Biosocial Bases of Sensation Seeking.
Cambridge University Press 6/24 : 463.

27) Bègue L, Bricout V, Boudesseul J, Shankland R, Duke AA (2015) Some like it hot:
testosterone predicts laboratory eating behavior of spicy food. Physiol Behav 139 :
375-7.

28) Byrnes NK, Hayes JE (2015) Gender differences in the influence of personality
traits on spicy food liking and intake. Food Qual Prefer 42 : 12-19.

表 1 ゲノム PCR に使用したプライマー一覧

name	配列
AF	5'- GAGAGCATGAGAGCACAGTAGCC -3'
AR	5'- CACAGGAGATATGTCCCAAGACC -3'
B1F	5'- CAGGAACGAGAGGCCTAAGAGAG -3'
B1RN	5'- GCAGTTCAACTCAGACCCAGACT -3'
C1F	5'- GGAGCTTTAGGTAACAAGGCTGAT -3'
C1R	5'- TAACCGAGTACACCCCGTCTACAAT -3'
C1RN	5'- TGGGTAACAAGAGCAAACTTCG -3'
C2F	5'- CGCTCCCCTAATAACACACTGTC -3'
C2R	5'- GACTGTAAGTCACGGCAGTTTCTC -3'
EF	5'- CTCATGGAGCAAAATGGACCTCT -3'
ER	5'- AAGGCATCCCCTTTCTTCTTCTC -3'
FF	5'- GAGAGTGCATGAGGCTCTTTGAG -3'
FR	5'- TGAGCACTGAGTGAACCAGACAC -3'

表 2 シーケンス反応に使用したプライマー一覧

name	配列
S1	5'- CACATTCCAGAAGCCCTCAT -3'
S2	5'- GAGCTTGGTTTGGGAGGTTG -3'
S3	5'- GGAGCCACAGGTTTGAGAGG -3'
S4	5'- CCATCACACAGCCAACACTC -3'
S6	5'- TGCTTTTCTGGACAGTCACC -3'
S7	5'- CAGGCACTTTCTGCCCAGTT -3'
S8	5'- GCAGGCAGGAGCTTTAGGTA -3'
S9	5'- AGTTTCACCCCATTCACTGC -3'
S10	5'- GCGGCACAGCATTGTAAGAT -3'
S11	5'- CCGGCTTCCACTGTGTATTT -3'
S13	5'- GGCTGTATTACATTGCACA -3'
S14	5'- CGCCAGGCTACAGAAACAAAG -3'
S14R	5'- AGAGTGAGGAACAGGGCTGA -3'
S15	5'- CCCCAAGTGAATCTCCTAACA -3'
S15R	5'- GGGCCTAACATGTCCCAGTA -3'
S16	5'- ATGCATGCACACACCCACAC -3'

表3 アンケート結果

	「当てはまる」	「少し 当てはまる」	「あまり 当てはまらない」	「当てはまらない」	相関係数						
					問2	問3	問4	問5	問6	熱	CAP
問1	5 (16.67)	11 (36.67)	9 (30.0)	5 (16.67)	-0.40	-0.09	-0.35	0.34	-0.07	0.32	-0.25
問2	8 (26.67)	10 (33.33)	8 (26.67)	4 (13.33)	--	0.65	0.81	-0.17	0.26	0.01	-0.01
問3	3 (10.0)	7 (23.33)	16 (53.33)	4 (13.33)	--	--	0.68	-0.03	0.14	0.07	-0.10
問4	5 (16.67)	7 (23.33)	15 (50.0)	3 (10.0)	--	--	--	-0.16	0.05	-0.03	-0.16
問5	2 (6.67)	6 (20.0)	12 (40.0)	10 (33.33)	--	--	--	--	-0.12	0.07	0.17
問6	2 (6.67)	16 (53.33)	11 (36.67)	1 (3.33)	--	--	--	--	--	-0.38	0.16

各アンケートの回答における人数と割合 (%) を示している。相関係数は $p < 0.05$ のものは太字で示している。

熱：熱痛覚感度 CAP：カプサイシン感度

表 4 検出された SNP

SNP 頻度	イントロン 37 ケ所		エクソン 26 ケ所			
	エクソンからの距離		非翻訳領域		アミノ酸コード領域	
	>50 bp	≤50 bp	5' 側 UTR	3' 側 UTR	サイレンス	ミスセンス
1~2/23	10 ケ所	4 ケ所	3 ケ所	8 ケ所	6 ケ所	2 ケ所
>3/23	17 ケ所	3 ケ所	2 ケ所	1 ケ所	1 ケ所	2 ケ所
23/23	0 ケ所	3 ケ所	1 ケ所	0 ケ所	0 ケ所	0 ケ所
合計	27 ケ所	10 ケ所	6 ケ所	9 ケ所	7 ケ所	4 ケ所

SNP の位置の数を示している。

表 5 新規 SNP 一覧

SNP	位置	SNP の人数分布		
		変異なし	ヘテロ	ホモ
C5805T	intron	25	1	0
C18432G	intron	16	10	0
G23095A	exon3 E107E	25	1	0
C23276T	intron	25	1	0
G28668C	intron	25	1	0
T28800C	intron	25	1	0
A31173C	intron	25	1	0
G42948A	intron	23	3	0
A43106C	intron	25	1	0
C47520T	exon17 L815L	25	1	0
G47748T	3' UTR	25	1	0
T48033A	3' UTR	25	1	0
C48055A	3' UTR	25	1	0
G48088A	3' UTR	25	1	0
C48514A	3' UTR	25	0	1
A48952T	3' UTR	25	1	0

新規 SNP の位置と人数分布を示している。

アミノ酸コード領域の SNP については変異の位置とアミノ酸を示している。

表 6 熱痛覚感度と SNP

SNP	データベース ID	変異なし	ヘテロ	ホモ	有意差
C18432G	---	14 (9.89±6.56)	9 (3.91±1.28)	0 ----	*
G24506C	rs222747	9 (10.55±8.06)	12 (5.18±2.67)	2 (8.31±4.58)	†
T25353C	rs161388	3 (16.08±7.72)	0 ----	20 (6.27±4.58)	**
T25586G	rs520671	4 (9.51±3.10)	6 (4.93±2.11)	13 (8.16±7.40)	*
T28355G	rs74389246	15 (7.34±5.19)	5 (4.36±1.75)	3 (13.93±10.15)	† †
A47940G	rs4790521	12 (6.25±4.79)	8 (7.11±4.87)	3 (13.93±10.15)	† †

熱痛覚感度について有意差が検出された SNP の頻度、及び各グループの平均値を示している。*: 変異無しグループ vs ヘテログループに有意差あり、**: 変異無しグループ vs ホモグループに有意差あり、†: 変異無し+ヘテログループ vs ホモグループに有意差あり、† †: 変異無しグループ vs ヘテロ+ホモグループに有意差あり。

付図説明文

図 1 アンケート用紙

被験者に実施したアンケート用紙を示す。問 1～6 について、4 項目の選択肢を設定した。

図 2 熱痛覚感度とカプサイシン感度

被験者 26 人の熱痛覚感度とカプサイシン感度の分布図を示す。点線の円で囲まれた範囲にグループが集中している(多数派グループ)。

図 3 検出された SNP

ヒトゲノム 17 番染色体の TRPV1 領域約 45 kbp にある TRPV1 のエクソン配置を模式図に示す。矢印は検出された SNP の位置を表している(赤矢印：エクソン内の SNP、青矢印：イントロンの SNP)。

身長 _____ cm 体重 _____ kg 血圧・脈拍 _____
年齢 _____ 歳 性別 男 ・ 女 体温 _____ 度

1. あなたは猫舌ですか。
 - a. 猫舌です。
 - b. ちょっと猫舌です。
 - c. そうでもないです。
 - d. 全然そんなことはありません。

2. 辛い食べ物が好きですか。(例:キムチ、辛口カレー等)
 - a. 大好きです。
 - b. それなりに好きです。
 - c. 苦手ではないです。
 - d. 苦手です。

3. 辛い食べ物をよく食べますか。
 - a. 毎日のように食べます。
 - b. 週2~3回食べます。
 - c. 週1回くらい食べます。
 - d. ほとんど食べません。

4. 食事に辛い調味料をかけますか。
 - a. しょっちゅうかけます。
 - b. それなりにかけます。
 - c. たまにはかけます。
 - d. ほとんどかけません。

5. 「しもやけ」になりやすいですか。
 - a. 今でも毎年なります。
 - b. 子供のころはよくなりました。
 - c. 何回かはなったことがあります。
 - d. なったことはありません。

6. お風呂の温度はどのくらいが好きですか。
 - a. かなり熱め。
 - b. ちょっと熱め。
 - c. 普通。
 - d. ぬるめ。



