

3) 細胞容積調節機能にみた、水輸送における水チャネルの働き

岡崎国立共同研究機構・生理学研究所 機能協関部門
森島 繁

細胞は、様々な調節機構を働かせその恒常性を維持している。なかでも細胞の容積は細胞の生存するためにもっとも重要な要素の1つであり、生理学的には細胞分裂・細胞増殖、細胞の分泌・吸収、細胞の移動などの際、また、病態生理学的には、虚血時、細胞外液の浸透圧・pHの変化、ネクローシス・アポトーシスの細胞死などの際に大きな変化を強いられるが、可能な限りその容積を一定に保つように働く。

細胞の容積は、その内部の浸透圧物質や核などの固形物および細胞骨格などが重要な役割を果たしているが、なかでももっとも基本的な要素は水である。細胞容積が変化する際には必ず細胞膜を横切る水分子の移動が必要である。しかしながら、細胞容積調節時に水分子が細胞膜をどのように移動するかについては、まったくわかっていなかった。

細胞に低浸透圧刺激を与えると、細胞はいったん腫張し（浸透圧性膨張）、そののち、その容積を回復するべく、浸透圧物質（主として、 K^+ および Cl^- イオン）および水を放出し、その容積を減少させる（調節性容積減少：RVD）。水の透過経路として、脂質二重層膜である細胞膜、アクアポリン（水チャネル）、およびその他のイオンチャネル・トランスポータなどが考えられる。われわれは、まず、コンピュータを用いた高速自動画像解析装置を開発し、倒立顕微鏡像より細胞容積求め、浸透圧性膨張の速度より、浸透圧性水透過係数(Pf)を求めた。ヒト小腸上皮細胞由来株である Intestine 407 細胞において、Pf は $10 - 20 \mu m/s$ と、比較的高く、また、その温度依存性から求めたアレニウスの活性化エネルギーは $2.7 kcal/mol$ と、低値を示した。NMRにより求めた拡散性水透過係数(Pd)は $0.5 \mu m/s$ と低値を示した。また、Pf はアクアポリンのブロックである $HgCl_2$ や MMTS により容量依存性に抑制された。

これらのことより、浸透圧性膨張における水の移動は、促通性経路、とりわけアクアポリンを介していることが示唆された。

RVD 相において、水チャネルのブロックである MMTS を与えたところ、容積調節が抑制された。また、この効果は（MMTS のようなチオール修飾剤の）還元剤である DTNB により回復された。また、パッチクランプ法により、MMTS は容積調節性 Cl^- 電流に影響を与えず、また、MMTS による RVD の抑制はグラミシジンによる人工的カチオンチャネルの生成によっても回復しなかった。

RT-PCR および免疫細胞染色により、Intestine 407 細胞に AQP3 が多く発現していることも明らかとなった。AQP3 は水のみではなく、グリセロールなどの浸透圧物質を透過させることの知られているアクアポリンである。

これらの実験より、細胞容積調節機能に水チャネルは必要欠くべからざるものであることが明らかになった。