

TRANSPORTSOME

特定領域研究:生体膜トランスポートソームの分子構築と生理機能

QUARTERLY
Autumn
2009

平成21年度成果特集

目次

第36回国際生理学会世界大会:2009年一期の夏の夢	倉智 嘉久	2
第36回国際生理学会世界大会(IUPS2009)に参加したある「非」生理学者の感想	永森 収志	3
国際生理学会に参加して	油井 直史	5
第36回国際生理学会世界大会(IUPS2009)見聞録	中尾 章人	6
IUPS2009 サテライト シンポジウム参加報告	加藤 賢太	6
平成21年度第一回班会議報告 ～阿蘇の大自然の中で知と癒しの空間に包まれた班会議～	首藤 剛	8
平成21年度成果特集		
シナプスを分子の目で見ると	高森 茂雄	10
Dual oxidase 1 (Duox1)は H_2O_2 を産生し、気道(管腔臓器)の感染防御に機能する - Nox(Nox1-5)は O_2^- を産生するのに対し、Duox(Duox1, 2)は、 H_2O_2 を産生する - 上山 健彦、齋藤 尚亮		12
食塩負荷から血管トーンス亢進へのシグナル伝達機構 - Na^+ ポンプ・ Na^+/Ca^{2+} 交換輸送体の機能協関 - 岩本 隆宏、喜多 紗斗美、伊豫田 拓也、山本 信太郎		17
SLC26輸送体の細胞内ドメインSTASの機能解析 洪 繁、東 祥子、後藤 秀実、石黒 洋、山本 明子 渡辺 崇、貝淵 弘三、相馬 義郎、有村 奈利子		21
編集後記		27

表紙について

今回の表紙は、高森先生、上山先生からお寄せ頂いた図と、首藤先生が撮影された班会議開催地、阿蘇の写真を組み合わせてデザインされています。本特定領域の研究および活動の成果を感じて頂ければ幸いです。

第36回 国際生理学会世界大会：2009年一期の夏の夢

一期の夏の夢が過ぎ去りました。皆様には、多いに楽しんでいただけたものと思います。8年間の準備の成果が問われる一週間でした。参加者は約4000名、その半分近くが海外からの参加者でした。学術プログラム内容は非常に充実したものになり、各分野のトップランナーの研究者の講演・シンポジウムが目白押しでした。開会式では、ご臨席くださいました皇太子殿下のお言葉とオックスフォード大学のデニス・ノーブル教授のご挨拶がお互いに木霊するようで、えも言えぬ暖かい雰囲気醸成されました。大会初日、アーウィン・ネアー教授のFEN レクチャーは、京都国際会議場のメインホールがほぼ満席という大盛況でした。それに引き続きメインホールまへのロビーで開催されたウェルカムレセプションでは、大阪府立芥川高校の和太鼓の演技がとてとてもすばらしく、日本の若い力で私たちをおおいに元気づけてくれましたし、大会の大成功を確信させてくれました。初日から最終日まで各会場はどことも聴衆があふれ、ランチョンセミナーでも弁当なしの立ち見の方も多く見受けられました。2日目昼休みの神戸市立商業高校の中国獅子舞の演技、3日目の韓国舞踊の演技なども、44年振りに東アジアで開催された国際生理学会世界大会を盛り上げてくれたと思います。

本大会は、望むことのできる最大限を越える成功を納めることができたと思います。これも、生理学会の皆様のご協力・ご支援、そして全日シンポジウムや PSJシンポジウムを企画実施していただきました関連学会、特定領域などの研究グループ、グローバル COE など、多くの皆様のご協力があった賜物です。特定領域「膜輸送複合体」も、金井先生など皆様のご協力ですべて全日シンポジウムを開催していただきました。ありがとうございました。ここに深甚の感謝を申し上げたいと思います。

また、大会の各会場の進行には、多くの生理学教室などから若手教員の方々にご協力をいただきました。世界恐慌ともいべき経済の混乱が昨年秋より始まり、旅費が得られないためにシンポジウムの企画のキャンセルなどもいくつかありました。さらに、今年に入ると新型インフルエンザの第一次の流行がありました。これら、前途多難を思わせる様々な状況の中、このようなすばらしい世界大会を実現できたことは、日本生理学会を始めとした多くの関係する日本の生命科学分野の皆様のご誇りともいべきでしょう。

「生命の機能：素子と統合」というメインテーマを掲げ、ニュージーランドのクライストチャーチでの第34回世界大会の時に、日本への誘致のプレゼンテーションを行いました。国際生理科学連合理事会での説明、代議員会での説明、そして圧倒的支持を得て京都での開催が決まりました。それから、8年の間、「学際化」、「国際化」という2項目を掲げた生理学会年会の組織的改良の取り組み、国際プログラム委員会作業、全日プログラムなどの世界大会の学術プログラム構成の工夫、ランチョンセミナーを始めとした資金調達の工夫など、皆様のご協力を得ながら進んで来たものと思います。特に、学術プログラム作成では、金井好克教授(大阪大学)、森泰生教授



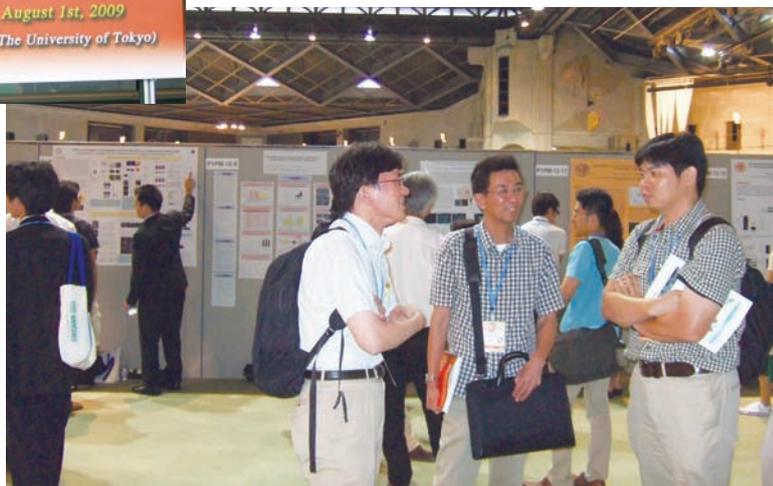
(京都大学)、久保義弘教授(生理研)、井上隆司教授(福岡大学)の皆さんがプログラム実務幹部会メンバーとして、ポスターセッションの分類整理、各プログラムの最終段階での微調整やウェブ掲載など、種々大変な作業をすべて担っていただきました。特定領域「膜輸送複合体」のメンバーが、プログラム作業の全てを担っていただきました。

学術プログラムはメインテーマのメッセージを具体化するべく、IUPSの各コミッションの分類を尊重しつつ、今の最先端の素子研究の講演、シンポジウムを組み、さらに、統合生命科学という次代の方向性を目指したプログラムを充実するように注意しました。どの分野の研究者の方も毎日「これを聞かなくては」という講演やシンポジウムがあったと思います。チュートリアルでは、種々の技術指導も行っていただき、ミーティング・レクチャーでは世界の第一線の先生方と若手研究者の交流の場も実現できました。市民公開講座も多くの市民の参加をいただきました。日本生理学医学者史展示、あるいはIUPS大会に併行して「こどもサイエンスプログラム」(「臨床医工学・情報学」関西5大学連携、臨床医情報学コンソーシアム関西、大阪大学臨床医工学融合研究教育センターなど主催)の開催も実現できました。特に、こどもサイエンスプログラムでは、大阪大学、京都府立医科大学、関西大学などの教員の方々に加え、アーウィン・ネアー教授、ジム・ハドスパス教授など多くの海外からの研究者にも、講義・実習に参加していただきました。こども達が世界の第一流の研究者に直接接することができ、とてもよかったと思います。ネアー教授を見た時、子供達が「サンタクローズみたい」とつぶやいていました。コングレスディナーも盛会で、閉会式にも多くの方々に参加していただきました。これは、最終日までとても充実した学術プログラムにできたことの結果だと思います。

祭りは過ぎ去りました。この世界大会を糧として、生理学分野が担う新しい生命科学の構築に日本の生理科学者がどれだけ貢献してゆけるのか、それが次に問われることとなります。それに答えを出すのは、皆さんと続く若い研究者達だと思います。本特定領域研究に参加されておられます皆さんが新しい分野を牽引され、日本での生命科学研究がますます盛

んになり、発展することを祈念し、第36回国際生理学会世界大会の報告といたしたいと思います。

国際プログラム委員会(ISPC)委員長・副会長
倉智 嘉久
(大阪大学医学系研究科)



第 36 回国際生理学会世界大会 (IUPS2009) に参加したある「非」生理学者の感想

IUPSの歴史、規模さらには発表されたホットな研究などに関しては他の執筆者にお任せして、一参加者として見聞きたこと、少しばかりの感想を書き散らしてみたいと思う。また、IUPS期間に同じ会場内で開催された子供向けサイエンスプログラムの運営に幸いにも関わることが出来たので、その報告をあわせて簡単に行いたい。

まず始めに「生理学」というと全く自分に縁のないものと考えていたことを、恥ずかしながら告白したい。(恥を上乗りすると UCLAの Department of Physiology に長年所属していた。) IUPSに参加することが決まったとき、場違いなところに出ることになるのではと、不安だった。何もここで私の無知を自慢したいのではない。確かに私は、膜タンパク質をどうやったら恥ずかしがらせずに裸に出来るかということばかりを考えている人間であるが、「生理学」と聞いて「カンケーねーよ」と思った不屈きものは私だけではないはずであ

るところが IUPSでの様々なプログラムにおいて、そのことを思い出すことは全くなかったし、それどころかいつの間にか自分が生理学をやっている気になっていた。私の所属する金井研では、アミノ酸トランスポーターを対象とした研究を主として行っている。学会期間中に覗いたセッションは多分にそのバイアスがかかったものであるから居心地が悪くないのは当然なのかもしれないが、それにしても IUPSの期間中、私の持っているおそらく間違っている「生理学」へのイメージを 100%裏切らなかつた場面は実験機器の展示会場ぐらいだろうか。あれはあれで、ほっとしたが。

さて、私にとってはそんな IUPS2009であったわけだが、IUPSの幅の広さと奥行き深さのバランスに、今こうして記事を書くことであらためて感服している。IUPSで私が聞くことが出来たセッションは全体のうちほんのわずかであったが、研究分野を牽引している面々がそろっているシンポジウムは

言うまでもなくエキサイティングであったし、ポスターセッションで一つ隣の並びにあるポスターは、普段ほとんど注意を払っていなかったけれども、実は結構興味深い研究だったりした。わずかだが IUPSにかかわっていたために身びいきになっていないかと考え、様々な分野から参加した知人らに聞いてみたが、皆一様に満足しているようだった。個々の講演やポスターの内容はあまりにも多岐にわたり、研究の内容を書くことは限られた紙面(というより私の能力)では難しいので割愛するが、分子の構造から疾患、そして生体のしくみ、それらを一つの枠組みの中で語ろうとする研究者らの意気込みを感じた。と、ここまで調子よく書きながら、「あれ、これって聞いたことあるお話ね」と思った私は、IUPS2009のホームページで次のフレーズを発見した。「Function of Life: elements and integration」。IUPS2009のテーマであった。すばらしいことである。さらに IUPS2009の特筆すべきことは、PIレベルの研究者だけではなく、Jrファカルティーやポスドク、特に学生も多く来日しており、普段切磋琢磨している研究者らと交流が出来たことではないかと思う。これも海外からの参加者や学生にとって魅力的かつ出席しやすい学会であったためであろうが、その裏にあるに違いないオーガナイザーである先生方の苦勞を考えると感服する。是非近いうちにまた同様なスタイルの学会を開催していただきたいと心から思うが、そんなことは準備に力を注いできた方々の費やした時間のことを考えると、決して大きな声ではいえない。いつかまた、後に続く研究者が IUPS2009 likeな学会を開催した際に、良い発表が出来るように、願わくは講演ができるように、良い研究をしていきたいと思っている。

最後に、前述の子供向けサイエンスプログラムについて報告させていただく。これは「サイエンスプログラム-科学にふれる夏休み-」と題して、IUPSの期間中、同一会場である国立京都国際会館にて大阪大学MEIセンター、臨床医工学・情報学関西5大学連携などが、理科離れの進む小中高生の科学への興味を喚起することを目的として企画したものだそう。IUPS2009が学生の参加者を大事にしたその理想を、さらに児童まで広げたものだろうか。のべ 400人ほどの参加者がいたと聞いている。私は、「味覚」「聴覚」「顔・認知」「心臓循環器」「細胞」の6セッションのうち「細胞」をお手伝いさせていただいた。このセッションは大阪大学倉智研古谷先生を中心に本特定領域からは京都大学森研、大阪大学金井研などからのメンバーによって運営された。ちなみに「聴覚」の代表は、もちろん日比野先生である。私自身は、ほんのちょっと端っこにかかわった程度であるから言っただけいいと思う、このプログラムは成功だったと。もちろん外部へのサーベイで確認した。皆一様に、またやってほしい、来年といわず次の休みにも参加したいと言う。大成功かもしれない。うれしいものである。Nobel Prize laureateである Dr. Ernest Neher を講演者として迎えたのだが、博士が修了証書を授与したときの子供たちの喜びようを思い出すと、これまた古谷先生や清中先生らの苦勞を忘れて無責任にもまたやってほしいものだと思ってしまう。ただ、こちらに講演者として呼んでもらうのはかなり難しいかもしれない。なんといっても Nobel Prize laureateが前任者である。

永森 收志

(大阪大学金井研)



国際生理学会に参加して

さる7月27日、京都で国際生理学会が開催され参加させて頂きました。長い歴史を持つ本学会に参加することができ、非常に嬉しく思っております。私は研究に携わるようになって4年目になる大学院生で、その前は内科の臨床医として働いておりました。現在の研究テーマは集合管水チャネルであるアクアポリン2(AQP2)の細胞内輸送に関することで、FAPP2というゴルジ体に局在する分子が、AQP2のPKAによる管腔側膜へのソーティングに必須であることを主旨として、7月30日にポスター発表させて頂きました。老若男女を問わず、多くの外国からいらっしゃった学者の先生方と有意義な議論をすることができ、非常に良い勉強の機会とすることができました。

また7月30日に開催されたシンポジウム、Insulin resistance through the life courseでの発表を興味深く聞かせて頂きました。中でもアメリカのジョージタウン大学、Ecelbarger先生とTiwari先生の主としてインスリンの尿細管への作用に関する研究成果のご発表を興味深く拝聴させて頂きました。マウス及びラットで、インスリン刺激によりSGK-1リン酸化を介してENaCの管腔側膜分画の増加が起こること、インスリン抵抗性モデルとしてよく確立されたobese Zucker ratのインスリンレセプターに着目し、この発現量及びリン酸化が減弱していることを見出したこと、インスリンレセプターのノックアウトマウスにおいても予測に反し血圧は上昇を示し、このノックアウトマウスにおいてNO

の産生低下が起こっていることをつきとめ、インスリン作用によるNO産生はENaC制御より強い影響を持つ可能性があるという一連のお話は大変興味深く、我々が日頃診察する機会の多い糖尿病の患者さんの病態を考える上でも大変有用であると思えました。糖尿病の病態は個々により多様であり、こうした相反する多くの事象に制御されており、こうした難解な制御が分子生物学的に細かくひも解かれつつあることを嬉しく思いました。またこの観点からENaCのみならずAQP2やAQP3など他の尿細管チャネルにおいてインスリン、及びインスリンレセプターがどのような影響を持つか、また少しシンポジウムの内容とは逸れますがAGEなどの糖化合物がどのような影響を持つかなど、現代社会の脅威となっている糖尿病に関するこれらの観点からの分子病態の解明は非常に興味深いものがあると思えます。国際生理学会への参加により今後のこの領域の研究成果にさらに深い関心を持つに至り、また自分の研究に対するモチベーションもさらに上がったように感じます。

このような素晴らしい学会に参加し、研究成果を発表できたことを心より嬉しく思っております。また若輩者であるにも関わらず、体験記を書かせて頂き恐縮に感じております。最後になりましたが、本学会の関係者の皆様、News letterの関係者の皆様に深く御礼申し上げます。

油井 直史
(東京医科歯科大学腎臓内科学)



第36回国際生理学会世界大会(IUPS2009)見聞録

IUPS2009が、7月27日から8月1日までの6日間、国立京都国際会館において開催されました。私は、国際生理学会(IUPS)では子供向けの展示を担当させていただきました。

私が担当したのは細胞についてのポスターでした。ポスターの内容は、細胞の多様性についての説明から始まり、小器官の働き、神経細胞における活動電位、パッチクランプの手法の説明をはさんで、最後はiPS細胞について言及してあり、非常に盛りだくさんの内容でした。ポスターの前には、子供が喜び様々な工夫が凝らされていました。特に子供たちに好評だったのは、細胞の観察と、様々な細胞の絵が貼り付けられた変わり絵でした。

7月30日の展示では、小学生くらいの子供達がたくさん来ました。久しく小さい子供と触れ合う機会がなかったので、初めはなかなかわかりやすい言葉を使うことができず、子供達がそっぽを向いたり、説明途中でどこかに行ってしまったりする場面がありました。最終的には、説明よりも実際に体を使ったほうが楽しそうだったので、説明はほどほどに、あとは手をつかった実習に切り替えました。印象的だったのは、子供が実際に顕微鏡を使い、細胞の形が見えだした瞬間、歓声が上がったことです。微小管の分布があまりに精密なので驚いたのでしょう。自然の精密さを感じとってくれた瞬間だったと思います。数ある中で特に人気があったのは、ピペットマンでした。水を入れた容器とピペットマンが置いてあるだけなのですが、子供たちは夢中になってピペットマンと格闘していました(写真)。よく見ると、子供たちも漫然とやっていた訳ではありませんでした。どうすればきれいに吸えるかをひたすら追求している子もいれば、何個かのエッペンチューブを出して、それらに均等な量入れている子もいました。自分で設定した目的意識をもって、



何かをする姿勢をすでに身につけているのには感心しました。子供達には、私が説明したことは残念ながらあまり伝わらなかったようですが、体を動かして何かを感じとってくれたようです。片付けの時には、子供たちが走り回ったじゅうたんのうちは毛羽立ってだまになっていました。

7月31日の展示では、中高校生が来てくれました。これくらいの年齢になるとある程度の知識を持っていました。特に、イオンチャネルについて知っていたのには驚きでした。モチベーションの高い生徒ばかりで、説明のしがいがありました。

展示を通して、今の子供達の科学に対する意欲を感じることができ、安心しました。科学離れが危惧されているけれども、まだまだこういう子供達が多くいることも強調していく事柄だと思っています。私も彼らに負けずにがんばってまいります。

中尾 章人

(京都大学工学研究科 合成・生物化学専攻
分子生物化学 修士課程1年)

IUPS2009 サテライト シンポジウム参加報告

IUPS2009に引き続き8月2日から4日にかけて、比叡山中腹に位置するロテル・ド・比叡において、サテライト シンポジウム「Ion channels and membrane transport systems: function, structure, and physiology」が本特定領域研究「生体膜トランスポートソームの分子構築と生理機能」と京都大学グローバルCOEプログラム「物質科学の新基盤構築と次世代育成国際拠点」の共催で開かれました。まず、倉智嘉久先生(大阪大学)がOpening remarkを述べられ、本特定領域からは金井好克先生を始めとする諸先生方が発表されました。Plenary lectureでは初日にWilliam Catterall先生(University of Washington)が電位依存性ナトリウムチャネルのゲートのsliding helix model、電位依存性カルシウムチャネルの活性制御機構をご説明され、2日目にAnjana Rao先生(Harvard University)がNFATの機能解析、ORAI1の酵母での特徴的な局在に関してご講演下さいました。急遽2名の先生方の追加講

演もあり、盛況のうちに月田早智子先生(大阪大学)のClosing remarkとなり、「Ion channel forever」というお言葉で3日間の日程が終了しました(下の写真は質疑の模様)。

今回のシンポジウムではDinner buffet等において著名な先生方と交流する機会が設けられました。多くの先生が発表の時



よりも分かり易く話してくだり、知識を深めることができました。John Cuppoletti 先生(University of Cincinnati)はとても気さくな方で、失礼ながらも「著名な方ですか？」とお尋ねしたところ、「銀行を襲ってから日本に来たから、自分はアメリカではとても有名なのだ」とおっしゃられていました。2日目の昼には延暦寺を訪れました。平和への祈りをささげた方もいたかもし

れません。

この3日間は私にとって実り多いものになりました。お世話いただいた諸先生方に感謝致します。

加藤 賢太

(京都大学工学研究科 合成・生物化学専攻)



平成21年度第一回班会議報告

～阿蘇の大自然の中で知と癒しの空間に包まれた班会議～

平成21年8月26日から28日まで、熊本県阿蘇市赤水「阿蘇リゾートグランヴィリオホテル」において特定領域研究「生体膜トランスポートソームの分子構築と生理機能」の平成21年度第一回班会議を開催致しました。本年度は、領域の最終年度ということもあり、地方開催であるにも関わらず、計画班・公募班あわせて49グループ、総参加者数125名と大盛況となりました。今回の会議では、本領域および領域外にて先端研究をリードする5人の先生方によるハイライトレクチャーを大きな目玉として、各班の研究代表者からの研究進捗報告(口頭発表48演題)および各班または領域外からのポスター発表76演題を実施しました。

阿蘇リゾートグランヴィリオホテルは、熊本空港から車で約1時間の場所に位置するため、参加者の多くは、熊本空港に準備した送迎バスにより会場を訪れました。会場に到着後、直ちに班会議が開会され、最初に、本班会議の世話人代表である中西宏之先生(熊本大学)に開会の挨拶を頂きました。このとき、それまで閉ざされてあった会場の暗幕をフルオープンにし、まさに、阿蘇ならではのパノラマ絶景が目の前に現れるという粋な計らいが行われ、参加者全員の度肝を抜いたことが印象的でした。次に、金井好克代表(大阪大学)による「領域の目標と展開」と題したご挨拶により、本特定領域の概要と設定目的が述べられ、その後、早速、班員による研究進捗報告が始まりました。今回の班会議の研究進捗報告は、1日目午後A01班「トランスポートソームの構成と機能に関する研究」、1日目夕方および2日目午前A02班「トランスポートソームと生体膜の相互作用に関する研究」、2日目午前および3日目午前A03班「トランスポートソームの生理機能と

その破綻による病態に関する研究」の班員による研究発表がなされました。A01班の発表では、それぞれに着目する個々の輸送担体を含むトランスポートソームがどのように構築され機能を発揮するかについて活発な議論がなされ、森泰生先生(京都大学)に総括をいただきました。A02班の発表では、主として、個々の班員が着目するトランスポートソームとそれが形成されるプラットフォームである細胞膜マイクロドメインや細胞骨格との相互作用およびその機能発現における作動環境の役割の解明についての研究成果が発表され、最後に竹島浩先生(京都大学)による総括がなされました。A03班では、輸送担体トランスポートソームとシグナル系とのクロストークに関する話題から、これらトランスポートソームの細胞・組織・個体における生理機能とその破綻により生じる病態との関わりまで、極めて多様性のある研究内容について、各班員より研究発表がなされ、鈴木洋史先生(東京大学)が総括されました。どの研究進捗報告も、これまでの2-5年間の集大成であり、本特定領域研究の前進に大きく貢献するものであったことを改めて痛感させる有意義なものであったと感じました。ちなみに、全体を通じていえることですが、研究進捗報告の発表時間(質疑応答込み)は、計画班で15分、公募班で10分と短く、極めてタイトなスケジュールでありましたが、座長の先生方のご配慮により、滞りなく会議が進行できたことを、改めて感謝申し上げます。

ハイライトレクチャーは、班会議全日程にかけて実施しました。まず、領域外から3名、これまでの研究のハイライトおよび今後の展望について語っていただきました。水島昇先生(東京医科歯科大学)からは「オートファジーの生理的役割



と制御シグナル]についてご講演いただきました。望月敦史先生(理化学研究所)からは「生体分子ネットワークの構築とダイナミクス」という題目でご講演いただき、理論生物学の面白さ・可能性についてご教授いただきました。斉藤隆先生(理化学研究所)からは「T細胞活性化シグナルの時空間的制御」という題目のもと、免疫シナプスのダイナミクスについてご講演頂き、トランスポートソーム研究にも応用できる多くのヒントを示唆していただきました。次に、領域内から2名の先生にご講演頂きました。まず、梅田真郷先生(京都大学)からは「暑がり”遺伝子の発見」という題目で、先生のされているトランスポートソーム研究とは異なるユニークな研究領域についてご紹介頂きました。最後に、竹島浩先生(京都大学)からは「結合膜構造におけるチャンネルマイクロアセンブリ」という題目で、本領域内でのコラボレーションを通じての多くの研究成果についてご発表頂きました。どのご講演も、今後の我が国の医科学・生物学領域の礎となるもので、班会議に参加して拝聴できてよかったと思える大変有意義なものでありました。先生方のご講演に改めて感謝申し上げます。

本領域の班会議のもう一つの目玉は、夜の懇親会、ポスター発表および意見交換会であると思います。ここ阿蘇において

もこれまでの班会議と同様、毎晩、おいしい食事やお酒に囲まれ、熱い意見交換がなされました。懇親会では、倉智先生(大阪大学)に乾杯のご発声を頂き、熊本阿蘇・天草の山の幸・海の幸を堪能していただきながら、班員の皆様の交流が活発に行われたものと思います。ポスター発表においても(押しピンが不足するという不測の事態が発生しましたが)、皆様のご理解とご協力のもと、大変有意義なポスター討論ができたと思います。ポスター発表後も(言うまでもありませんが)、毎晩、夜遅くまで活発な討論がなされ、以前にも増して皆様の交流が深まったようでした。

空き時間には、ツアー等に参加され、阿蘇を満喫された方も多いと思いますが、会議を終え、運営側としましては、参加者の皆様が、阿蘇の大自然の中で知と癒しの空間を満喫できたのであれば幸いに思います。稿を終えるにあたり、参加していただいた皆様に改めて感謝を申し上げますとともに、今後も第2回班会議および若手ワークショップ等、本領域の活動がございましたら、ぜひともご協力頂けますようよろしくお願い申し上げます。

首藤 剛

(熊本大学大学院 医学薬学研究所 遺伝子機能応用学分野)



平成21年度成果特集

シナプスを分子の目で見ると

高森 茂雄(A01 公募班 研究課題 シナプス小胞トランスポートソームの生理機能)

同志社大学生命医科学部医生命システム学科/発達加齢脳研究センター分子生物学部門

特定領域研究「膜輸送複合体」では、日頃より大変お世話になっております。私事で恐縮ですが、平成21年6月1日をもちまして、同志社大学生命医科学部医生命システム学科に教授として着任いたしましたので、遅ればせながらご報告いたします。これまで北海道→東京→アメリカ→東京→ドイツ→東京と移り住んで参りましたが、今年から初めての関西(京都)での生活が始まりました。同志社大学には、今出川キャンパス、京田辺キャンパスと2つのメインキャンパスがありますが、生命医科学部があるのは後者の京田辺キャンパスです。京都駅から近鉄線で約15分南に走ると車窓の景色が一変し、周囲が山で囲まれた田園風景になります。京田辺キャンパスは、そんな片田舎に位置しており、キャンパス内でも多くの緑に囲まれ、周辺環境は抜群です!

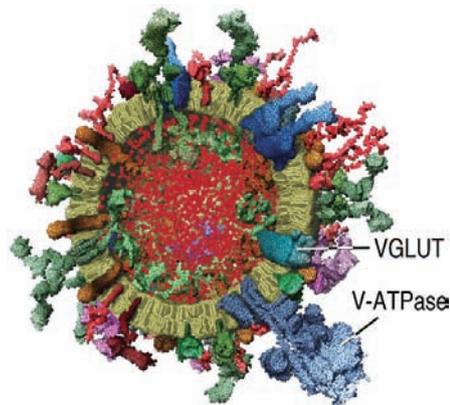
同志社大学は、関西私学の雄の1つとして知られていますが、実はこれまで理系、特に生物学・医学分野に相当する学部はありませんでした。「ありませんでした」というのは、実は正確な表現ではなく、1875年に同志社大学創立者である

新島襄氏は、医療を中心とした身体に関わる教育と実践を重視し、その一環として1887年には京都看病婦学校と同志社病院を創設したとのことです。残念なことに、その試みは財政上の理由から長く継続させることができず頓挫してしまったというのが実情のようです。そんな歴史がある中、同志社大学は、昨今の少子高齢化社会における医療のニーズに応えるべく、その人材育成の重要性を訴え、2008年に生命医科学部と大学院生命医科学研究科を新たに発足させました。このように、同志社大学生命医科学部は、産声を上げたばかりの真新しい学部です。学部には、医工学科・医情報学科・医生命システム学科の3つの学科があり、それぞれの学科には6~9つの研究室があります。生命医科学部という1つの学部内に、工学系・物理系・化学系・生物学系といった広汎の学問分野が集まっているので、お互いの知恵を出し合えば新しい分野の創造に繋がる予感がしています。また、同志社大学は、学部・学科とは独立した組織として、「発達加齢脳研究センター」を2009年5月に発足させ、脳研究を強力に推進する姿勢を打ち出しました。私は、この発達加齢脳研究センターの分子生物学部門の主宰者として、同志社における脳研究の推進を使命としております。正直、学部の教育に関して全く経験のない私は、講義の準備に忙殺されてとまどう部分も多いのですが、徐々に研究にパワーを注げるように努力して参りたいと思います。

研究のお話を少し。私は、1997年に学位を取得した後、マックスプランク研究所に研究員として入所してから、今日に至るまで一貫してシナプス小胞の機能分子の研究に従事して参りました。昔の同僚からも"Synaptic Vesicle Mania"とからかわれる始末です。シナプス小胞は、神経伝達物質を内腔にため込んだオルガネラで、エキソサイトシスによる神経伝達物質の放出過程で重要な働きを担います。シナプス小胞にはどのようなタンパク質が存在し、どのような生理機能をもっているのか? シナプス小胞はどのようにしてできあがるのか? シナプス小胞はシナプス終末でどのような動態を示すのか? そのような疑問を持ちながら、その分子メカニズムの研究をしてきました。どちらかと言えば、神経科学とか細胞生物学といった分野に分類される研究を志向していたのですが、シナプス小胞膜に存在するグルタミン酸トランスポーター(VGLUT: Vesicular glutamate transporter)の分子同定に成功したことで、トランスポータータンパク質の研究に傾倒していくことになりました(Takamori et al., Nature, 2000等)。その後、2004年に東京医科歯科大学のCOE特任講師として着任し、小さいながらも研究グループを主宰する機会を頂いてからは、生化学的手法を用いたVGLUTの機能解析に焦点を絞って研究を行いました。中でもVGLUT



同志社大学 京田辺キャンパス 医心館にて
(左より、相川 義勝、徳丸 直也、筆者、熊丸 絵美)
2009年11月撮影



シナプス小胞の三次元分子構造モデル

シナプス小胞にどの分子が何コピー含まれるかをモデル化したマニアックな(?)プロジェクト。完成に10年余りかかった仕事で、私にとっても印象に残る論文となりました (Takamori et al., Cell, 2006)。

の人工脂質二重膜への再構成実験からは、興味深い実験結果が得られて、最近論文に纏めることが出来ました (Nature Neuroscience, 2009)。VGLUT とつきあい始めて既に 10 年以上経ちますが、まだまだ理解できないことが沢山あります。例えば、ほ乳類の神経系には、VGLUT1/VGLUT2/VGLUT3 と 3 つのイソ型が発現していますが、その機能の違いは未だにはっきりしません。第 2 に、我々の再構成実験から導かれた「VGLUT のグルタミン酸 /Cl⁻ 交換体仮説」の実証もまだ完全ではありません。また、VGLUT によって如何にして小胞内のグルタミン酸量が制御されているのか? といった根本的な問題も実は明確な答えはありません。今後も、私のライフワークとして、VGLUT に纏わる謎を紐解いて行きたいと思っておりますので、特定領域に参加されているトランスポーター分野の諸先輩の方々には、引き続き御指導御助言をいただくと心強く思います。

VGLUT ばかり研究していても飽きてくるので(笑)、この

異動を機会にトランスポーター以外の新しい研究テーマや、そのための実験系の開発に関しても積極的に模索していきたいと思っています。特に、共焦点顕微鏡をベースとした蛍光プローブのイメージング設備を導入して、分子生物学と生理学を融合した「シナプス終末の分子生理学」とでも呼ぶべき学際領域の発展に貢献していきたいと思います。

11 月からは、相川義勝博士と熊丸絵美博士の 2 名を新たに特任助教として迎え、また徳丸直也氏が研究補助員として研究室に参画し、当研究室でもいよいよ研究をスタートできる体制が整ってきました。依然として小さなラボですが、「明るく楽しく!」をモットーに、小粒でもピリリッとスパイスの効いた研究を目指して邁進したいと思います。今後ともよろしく願いいたします。また、当大学院では修士課程・博士課程の門が開かれております。興味のある学生さんがいらっしゃいましたら、お気軽にご連絡頂けると幸いです (stakamor@mail.doshisha.ac.jp)。

Dual oxidase 1 (Duox1)はH₂O₂を産生し、 気道(管腔臓器)の感染防御に機能する

— Nox(Nox1-5)はO₂⁻を産生するのに対し、Duox(Duox1, 2)は、H₂O₂を産生する —

上山 健彦、齋藤 尚亮 (AO1 公募班)

神戸大学 自然科学系先端融合研究環バイオシグナル研究センター 分子薬理分野

我々は、これまで NADPH oxidase(Nox)の活性化機構を解明してきました。今回、Nox family の1つである Dual oxidase 1(Duox1)の活性化機構と、この system が気道(管腔臓器)の感染防御に機能するメカニズムを解明しました。さらに、Nox system は活性酸素(O₂⁻)を産生して機能するのに対し、Duox system は、過酸化水素(H₂O₂)を産生し生理機能に関与することを見出しました。本研究により、各々の臓器・組織・細胞は、発現する Nox family 蛋白を利用して、細胞の特異的部位で、特異的機構を用い、特定の活性酸素種(reactive oxygen species: ROS)を得ることにより、ROS が関与する生理機能を効率よく行うシステムを備えていることが判明しました。本研究は、今後、各臓器における ROS の生理機能を解明する上で、大いに貢献すると考えられます。本研究成果は、*FASEB J*, 23, 1205-1218, 2009 に掲載されました¹⁾。また、我々の現在までの研究成果は、*Antioxid Redox Signal*, 11, 2607-2619, 2009 にまとめることができ、Duox1 の気道上皮線毛細胞の apical surface への局在像(図4A)は、表紙を飾りました²⁾(図1)。この機会に、我々の研究成果と Nox 研究に関する update を紹介させていただきます。

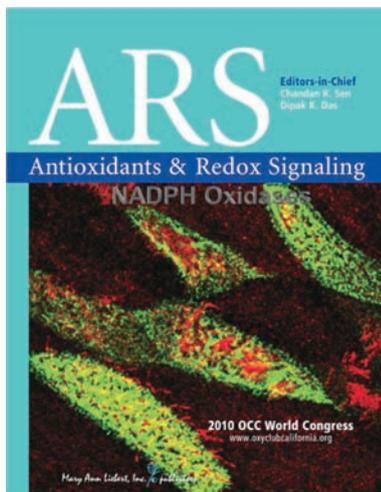


図 1

はじめに

生体内における活性酸素(O₂⁻)の産生は、好中球やマクロファージなどの貪食細胞における respiratory burst(呼吸爆発)として 1930 年代より知られていた。1960 年代前半に、respiratory burst が酵素により起こることが提唱され NADPH oxidase と命名された。1960 年代後半になると、小児期より重篤な感染症を繰り返す慢性肉芽腫症(chronic granulomatous disease: CGD)患者の貪食細胞が respiratory burst を消失していることが判明した。1970 年代後半になると NADPH oxidase

の酵素本体蛋白質である cytochrome *b*₅₅₈ (gp91^{phox}: 現在では Nox2 に統一)が同定された。1980 年代後半には、NADPH oxidase は、複数の因子によりの構成されていることが判明し、その構成因子(膜因子: Nox2 と p22^{phox} の heterodimer = cytochrome *b*₅₅₈、細胞質因子: p47^{phox}, p67^{phox}, p40^{phox}, Rac) が次々と分子クローニングされ、貪食細胞における NADPH oxidase の全貌が解明されつつあった。ところが、1980 年代後半頃より、貪食細胞以外の細胞が reactive oxygen species (ROS: 活性酸素種) 産生能を有しているとの報告が相次ぎ、1999 年、遂に上皮細胞に発現する新規 NADPH oxidase (Nox) が gp91^{phox} のホモログとして報告された(Nox1)。この報告を皮切りに次々と組織特異的に存在する Nox が分子クローニングされ、2001 年には 7 種の Nox(Nox1-Nox5, Duox1 and Duox2)が出揃い、Nox family と呼ばれるようになった²⁾(図 2)。

Nox1 の報告以降、Nox1 のみの細胞内導入では O₂⁻ 産生を再現することができないため、貪食細胞(Nox2=gp91^{phox})における活性化因子である p47^{phox} や p67^{phox} に相応する上皮細胞ホモログの存在が示唆されていたが、2003 年に漸く、Nox organizer 1 (Noxo1)と Nox activator 1 (Noxa1)が、p47^{phox} と p67^{phox} の各々のホモログとして報告された^{2, 3)}。さらに 2006 年には、Dual oxidase 1(Duox1)と Dual oxidase 2(Duox2)の活性化(成熟)化因子として、各々 Duox activator 1(Duoxa1)と Duox activator 2(Duoxa2)が報告され、Nox family とそれらの活性化に必要な因子は全て出揃った²⁾(図 2, 3)(2009 年 9 月号の *Science Signaling* に、tyrosine kinase substrate with SH3 domains: Tks4 and Tks5 による Nox の制御が報告されたが、筆者らはこの説には否定的である)。

Nox2 の遺伝子異常により CGD を発症することは、上記のごとくであるが、Nox2 の活性化因子の異常によっても CGD が起こる(p22^{phox}, p47^{phox}, p67^{phox}, p40^{phox}, Rac2)⁴⁻⁹⁾。新規 Nox

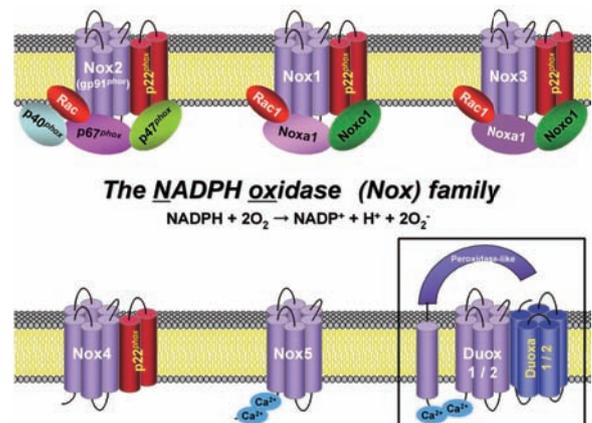


図 2 7 種から構成される Nox family とそれぞれの活性化因子

Isozyme	Tissue	Function	Patient, KO animal
Nox1	Colon, Prostate Vascular smooth muscle cell	Vasoregulation (BP) Host defense	— +
Nox2 (gp91 ^{phox}) (phagocyte oxidase)	Myeloid cells	Host defense	CGD* (Nox2, p22 ^{phox} , p47 ^{phox} , p67 ^{phox} , p40 ^{phox} , Rac2) +
Nox3	Inner ear	Otoconia biosynthesis	— +
Nox4 (Renox)	Kidney, Osteoclast, Endothelium	?	— +
Nox5	Lymph nodes, Testis	?	— +
Duox1 & (Thox) Duox2	Thyroid gland Gastrointestinal tract Respiratory tract	Thyroxin synthesis E.C. matrix cross-linking Host defense	CHT** (Drosophila) (RNAi-TG)

* chronic granulomatous disease, ** congenital hypothyroidism

図3 Nox family の発現部位とその機能、患者、自然発症病態マウスや KO マウスの有無

についても、ヒトの患者、自然発症の病態マウスやノックアウト(KO)マウスの解析により、その機能が解明されてきている。Nox1 system は、Nox1 KO マウスの解析により、血圧の調節や血管の病態に関与すること、Nox3 system では、Nox3 (マウス)、p22^{phox} (マウス)、Noxo1 (マウス)の各々の遺伝子異常により、耳石欠損による平衡覚障害をきたすこと、Duox2 system では、Duox2(ヒト)、Duoxa2(ヒト)の各々の遺伝子異常により、先天性甲状腺機能低下症をきたすことが分かっている^{2,10)}。また、Drosophila の Duox にはサブタイプが存在しないが(dDuox)、dDuox specific RNAi 配列を持つ transgenic drosophila は、腸管感染症により死に至ることが報告されている²⁾(図3)。

全身にわたる細胞種や組織・器官が ROS 産生能力を有しているという事実認識に伴い、最近、ROS が、Nox family 蛋白自身やその活性化因子の異常に起因する先天性疾患のみならず、発生や分化、老化、癌化などの種々の細胞内シグナリングや神経変性疾患の原因や悪化因子として関与することが注目を浴びている。本研究では、Duox1 の活性化機構と、この system が、気道(管腔臓器)の感染防御に機能するメカニズムを解明した。さらに、Duox system が、Nox system と異なり、過酸化水素(H₂O₂)を産生し生理機能を果たすことを見出した¹⁾。この事実は、各々の組織・臓器の特異的部位で、特異的活性化機構で産生される、特定の ROS が、生理機能や疾患と関わっていることを示しており、今後の各臓器における ROS の機能解明を行う上で、示唆に富むものと考えられる。

Duox1 は気道上皮線毛細胞の apical surface に発現し、気道内に H₂O₂ を放出する(図4A)

我々は、Duox1 の活性化機構を解明するために、気道上皮細胞の初代培養法 [air-liquid interface (ALI) culture] を確立した。初代ヒト気道上皮細胞をメンブレン・インサート上に

播種すると約一週間でコンフルエントの状態になるが、この時、インサート内の培地を吸引することにより細胞の apical 側が空気に曝されるようにして (ALI culture : 通常 28 日間)、気道面に接する気道上皮細胞を模した状態で培養する。ALI culture 開始約 10 日後 (Day10) より、Duox1 蛋白質がウエスタンブロッティング (WB) で検知できるようになり、Day20 前後以降は、著明な発現増加のみならず糖鎖付加によるこの蛋白質の成熟も認められた。Duox1 の発現に相応するように、Day10 前後より H₂O₂ 産生が検知できるようになり、Day20 前後以降に著明に増加した。この ALI culture 細胞を Duox 抗体と線毛のマーカーである β -tubulin 抗体を用いて免疫染色すると、Duox1 は線毛細胞に存在することがわかった(図4A)。この染色像を 3-D 再構築すると、Duox1 は apical surface に局在することがわかった。ALI culture の経過と気道上皮細胞の分化経過 (免疫染色による) を参照してみると、Duox1 の apical surface への局在と線毛細胞の出現は、共に Day19 頃より検知できるようになっていた。これらの実験結果より、気道上皮線毛細胞の apical surface に発現する Duox1 が、気道内に H₂O₂ を放出して気道内の感染防御を担っているモデルが考えられた(図4A 右)。このモデルを、簡便化したシステムで研究するため、HEK293 細胞を用いることにした。ところが、Duox1 を HEK293 細胞に導入しただけでは、H₂O₂ の産生を検知することができず、Duox1 の活性化には、他の何らかの因子が必要であることが予測されたが、我々はこの因子の同定をできずいた。ところが 2006 年になり、Duox (1/2) を活性化する因子として Duoxa (1/2) が報告された¹¹⁾。

Duox1 は Duoxa1 (α , γ) により活性化される(図4B、C)

そこで、我々は肺胞上皮由来細胞株 (NCI292) を用いて、Duoxa1 のクローニングを行った。すると、4 種の splicing subtype (α , β , γ , δ) の存在が判明し (図 4B)、HEK293 細胞を用いた再構成実験により α , γ subtype のみが Duox1 の活性化に対し active form であることが分かった。さらに、 α ,

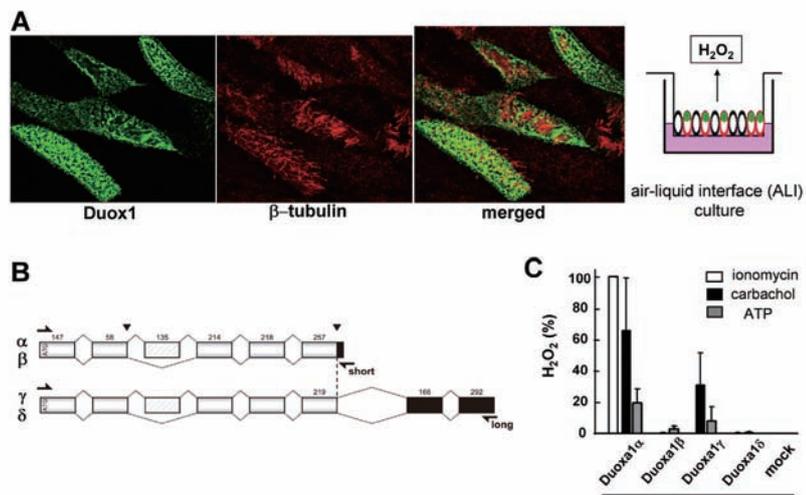


図 4

- Duox1 は気道上皮線毛細胞の apical surface に発現し、気道内に H₂O₂ を放出する。初代培養気道上皮細胞を ALI 培養すると、 β -tubulin 陽性 (赤) の線毛細胞に Duox1 (緑) が共局在している。この染色像を 3D 再構築すると、Duox1 は apical surface に局在していた。
- Duoxa1 には、4 種の splicing subtype が存在する
- 4 種の subtype の中で、 α , γ のみが active form である (HEK293 細胞を用いた再構成実験)

γ subtype は ionomycin のみならず、carbachol や ATP などの Gq 蛋白質を介して細胞内 Ca^{2+} を上昇させる刺激によっても活性化された(図4C)。

細胞質膜に局在する Duox1-Duoxa1(α , γ)複合体は糖鎖付加を受けている(図5、6)

Duox1 活性化における Duoxa1 subtype 間の違いの原因を明らかにするために、HEK293 細胞を用い Duox1 と Duoxa1 を共発現させた。すると、Duoxa1 α , γ との共発現の場合のみ、Duox1 は Duoxa1 と共に細胞質膜にターゲットしてい

た(図5A)。糖鎖付加を調べてみると、Duox1 の単独発現では、Duox1 の糖鎖付加は不完全である(WB 上バンドが2本で endoglycosidase H 耐性がない：図5B 右)が、Duoxa1 α , γ との共発現により、更なる糖鎖付加(Golgi 体における複合型糖鎖付加)を受けて endoglycosidase H 耐性を獲得していることが分かった。Duoxa1 α , γ についても糖鎖付加を受けており、Duoxa1 α は、endoglycosidase H 耐性を獲得していた(図5B)。最後に、ヒトの気道切片と我々が作製した Duoxa1 抗体を用いて、Duoxa1 も Duox1 と同様に apical surface に局在することを確認した(図5C)。

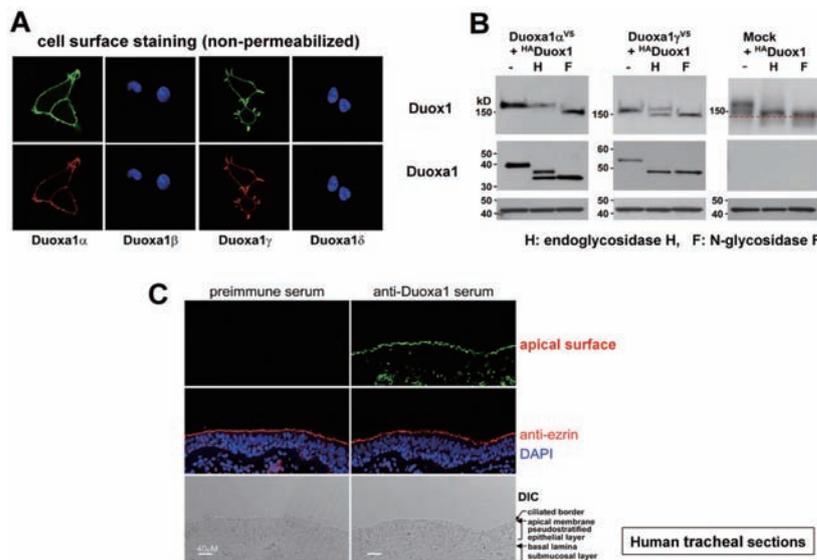


図5

- A. Duox1 と Duoxa1 α , γ との共発現時のみ、その両者が細胞質膜にターゲットする(HEK293 細胞)
 B. Duox1 は、Duoxa1 α , γ との共発現により、endoglycosidase H 耐性の糖鎖付加を受ける(HEK293 細胞)
 C. Duoxa1 も Duox1 と同様に 気道上皮細胞の apical surface に局在する：apical surface 局在蛋白質の positive control として ezrin を用いる

図6は、我々が提唱する管腔臓器(気道、唾液腺、涙腺、乳腺など)における Duox-LPO-SCN⁻ system を用いた感染防御システムのモデルである。管腔臓器の感染防御には、Lactoperoxidase (LPO)、thiocyanate(SCN⁻)、H₂O₂ の3役者が必要である。LPO は、漿液性分泌細胞において産生され腺管の末端部腔内に分泌される。殺菌物質の基となる SCN⁻や I⁻は、中等度の太さを持つ腺管の上皮細胞に存在する sodium iodide symporter(Na-I symporter : NIS)により中間部位の腺管腔内に分泌される。SCN⁻や I⁻自体が持つ殺菌能力は低いが、これらが中枢側の(太い)腺管の上皮細胞の apical surface に存在する Duox により産生されて管腔内に放出される H₂O₂ により酸化され、hypothiocyanite (OSCN)と hypoiodite (OI⁻)になることで殺菌能を獲得し、管腔臓器の一次免疫を担うのである¹²⁾。

Duoxa1 と Duoxa2 は Duox (Duox1, 2) 活性化において cross-functioning が可能である(図7)

ここまでは、Duox1 とその活性化(成熟)因子である Duoxa1 についてのみ述べてきたが、Duox2 についても特異的活性(成熟)化因子である Duoxa2 の存在が報告されている。そこで、Duox1 と Duox2 の各々の活性化に際し、Duoxa1 と Duoxa2 間に cross-functioning があるかどうかを調べてみた。すると、Duox1(図7A)、Duox2(図7B)は、各々 Duoxa1、Duoxa2 により(matched pair)最も強く活性化され H₂O₂ を産生するが、各々 Duoxa2、Duoxa1 によっても(mis-matched pair)弱いながらも活性化され、Duox(1/2)-Duoxa(1/2)間には cross-functioning が存在することが分かった。

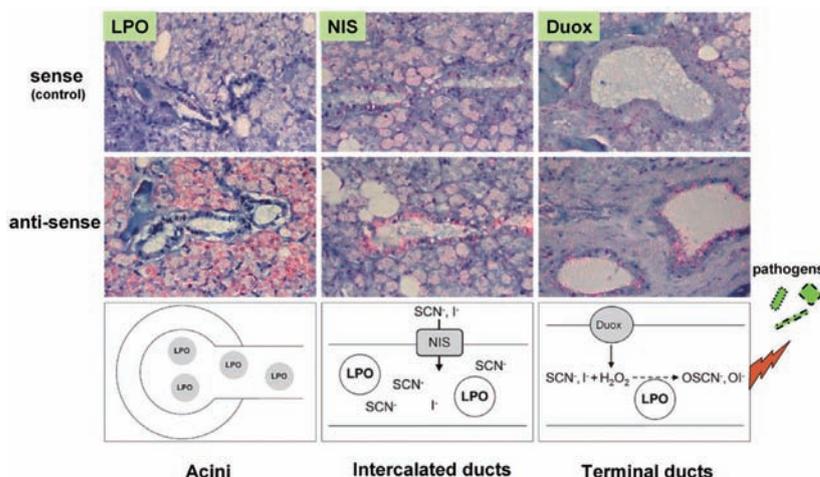


図6 管腔臓器(気道、唾液腺、涙腺、乳腺)における Duox-LPO-SCN⁻ system を用いた感染防御システム

管腔臓器の感染防御には、3 役者(LPO、SCN⁻、H₂O₂)が必要である。LPO は漿液性分泌細胞により末梢部腺管腔内に、SCN⁻、I⁻は NIS により中間部位の腺管腔内に、H₂O₂ は Duox により中枢側の腺管腔内に供給される。LPO、NIS、Duox の局在は、in-situ hybridization による(陽性シグナル：淡赤色)。

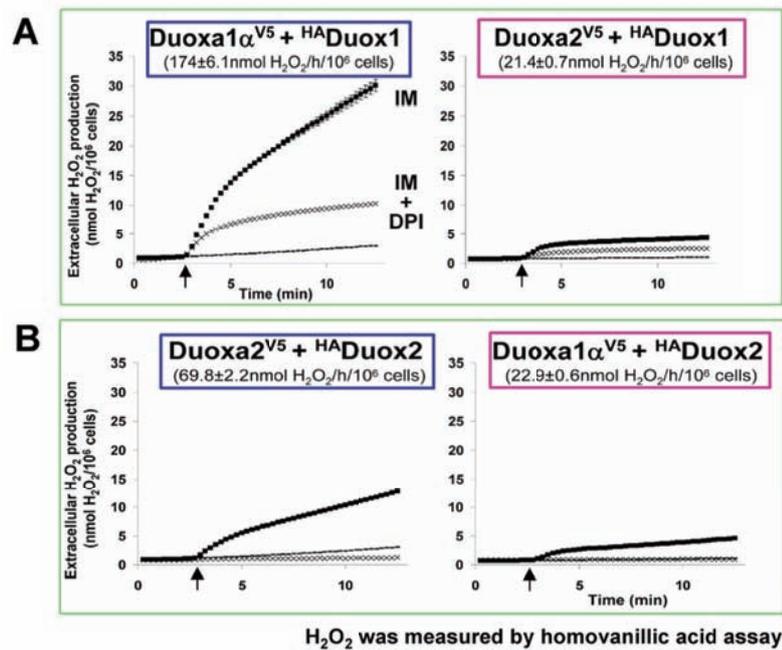


図7 Duox(Duox1/2)活性化における Duoxa1 と Duoxa2 間の cross-functioning matched pair(Duox1-Duoxa1 α , Duox2-Duoxa2 : 青枠)に比較すると明らかに弱い、Duoxa1 α と Duoxa2 は共に mis-matched pair(Duox1-Duoxa2, Duox2-Duoxa1 α : 赤枠)でも Duox1(A)と Duox2(B)を活性化し得る。

Duox-Duoxa1 の matched pair は H₂O₂ のみを産生するが、mis-matched pair は O₂⁻ を leak する(図8)

図7の実験では、Duox-Duoxa 複合体から産生される ROS として、H₂O₂ を測定していたが、本実験では O₂⁻ を2種類のアッセイ法を用いて測定することにした。すると、matched pairs (Duox1-Duoxa1, Duox2-Duoxa2)では、O₂⁻を検出できなかったが、mis-matched pair(Duox2-Duoxa1)では、O₂⁻を検出することができた(図8A)。H₂O₂ 産生量と O₂⁻ 産生量の絶対値を比較してみると、mis-matched pair では H₂O₂ 産生量の約半量の O₂⁻ を検出できることが分かった(図8B)。次に、何故 mis-matched pair においては O₂⁻ を検出できるようになるのかを調べた。まず、mis-matched pair における Duox と Duoxa の細胞内局在を調べてみたが、matched pair と同様、Duox2 と Duoxa1 は共に細胞質膜にターゲットしていた(図8C)。そこで、細胞質膜上での Duox-Duoxa の複合体の形成状態を免疫沈降法(共沈法)を用いて調べてみた。すると、matched pair では、Duox-Duoxa が stable な複合体を形成しているのに対し、mis-matched pair では、Duox-Duoxa 複合体が unstable であることが考えられた(図8D)。以上より、mis-matched pair における O₂⁻ の検出は、細胞質膜上での unstable な Duox-Duoxa 複合体形成による O₂⁻ の leak によると考えられた。

まとめ

1. Duox は、Duox-Duoxa 複合体を細胞質膜で形成することにより機能する(図4A、5)。
2. Duoxa1 subtype の中で、 α , γ subtype のみが active form である(図4B、4C、5)。
3. Duox, Duoxa は、ER で糖鎖付加を受けるが、Duox-Duoxa

複合体が細胞質膜にターゲットし機能するには、Golgi 体での複合型糖鎖付加が必要である(図4B)。

4. Duox-Duoxa の matched pair は細胞質膜で stable な複合体を形成し H₂O₂ のみを産生するが、mis-matched pair では細胞質膜にターゲットはするが、unstable な複合体に留まり H₂O₂ 以外に O₂⁻ を leak する(図7、8、9A)。
5. Nox (Nox1-5)は O₂⁻ を産生(図9B左)、Duox(Duox1, 2)は H₂O₂ を産生(図9B右)し、生理機能を発揮すると考えられる。

本研究により、各々の臓器・組織・細胞は、各々に発現する Nox family 蛋白を利用して、細胞の特異的部位で、特異的制御機構を用い、特定の ROS を産生することにより、必要とされる ROS が関与する生理機能を効率的に行うことができるシステムを備えていることが明らかになった。本研究は、ROS の各臓器における生理機能の解明に、大いに貢献すると考えられる。

参考文献

- 1) Morand S, Ueyama T, Tsujibe S, Saito N, *et al.* (2009) Duox maturation factors form cell surface complexes with Duox affecting the specificity of ROS generation. *FASEB J* 23, 1205-1218
- 2) Leto TL, Morand S, Hurt D, Ueyama T (2009) Targeting and regulation of ROS generation by Nox family NADPH oxidases. *Antioxid Redox Signal* 11, 2607-2619
- 3) Ueyama T, Lekstrom K, Tsujibe S, Saito N, *et al.* (2007) *Free Radic Biol Med* 42, 180-190
- 4) Larsen EC, Ueyama T, Brannock PM, Shirai Y, *et al.* (2002) *J Cell Biol* 159, 939-944

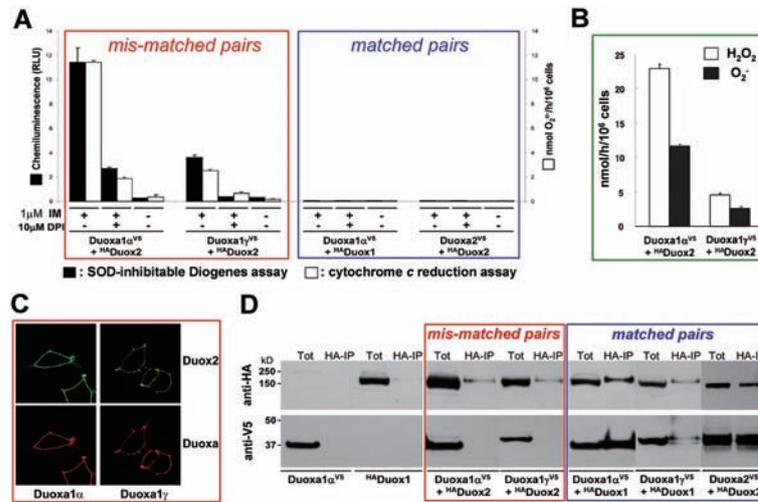


図 8

- A. Duox-Duoxa の matched pair(青枠)は H₂O₂ のみを産生するが、 mis-matched pair(赤枠)は O₂⁻ を leak する
- B. mis-matched pair では、 H₂O₂ の産生量の約半量の O₂⁻ を leak する
- C. mis-matched pair においても matched pair と同様、 Duox と Duoxa は細胞質膜に局在する
- D. O₂⁻ の leak は、 細胞質膜上での unstable な Duox-Duoxa 複合体形成に起因する

細胞外に露出するように Duox に付加した HA tag を利用して、 細胞質膜に局在する ^{HA}Duox-Duoxa 複合体を溶出後、 共沈実験を行った。 matched pair (青枠)では細胞膜上での Duox-Duoxa 結合を検知できるが、 mis-matched pair (赤枠)ではできない。

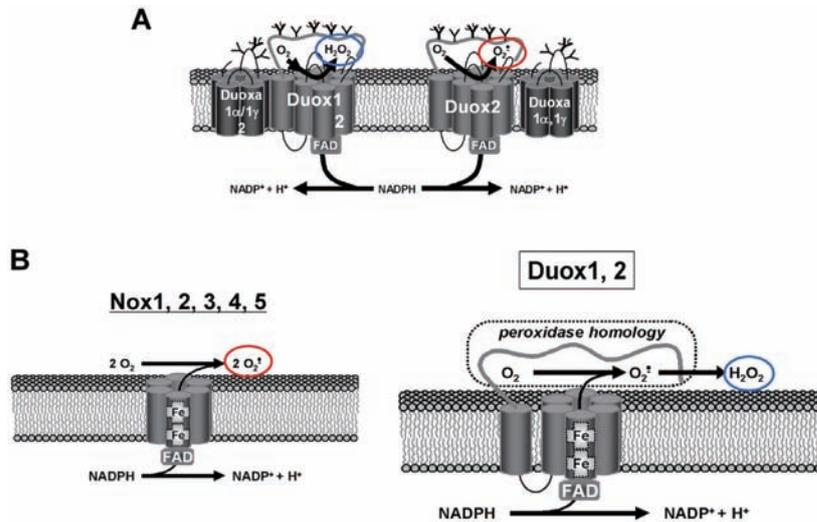


図 9

- A. Duox-Duoxa の matched pair(左)は H₂O₂ のみを産生するが、 mis-matched pair(右)は O₂⁻ を leak する
- B. Nox(Nox1-5)は O₂⁻ を産生(左)、 Duox(Duox1, 2)は H₂O₂ を産生(右)し、 生理機能を発揮する

- 5) Ueyama T, Lennartz MR, Noda Y, Kobayashi T, *et al.* (2004) *J Immunol* 173, 4582-4589
- 6) Ueyama T, Eto M, Kami K, Tatsuno T, *et al.* (2005) *J Immunol* 175, 2381-2390
- 7) Cheeseman KL, Ueyama T, Michaud TM, Kashiwagi K, *et al.* (2006) *Mol Biol Cell* 17, 799-813
- 8) Ueyama T, Tatsuno T, Kawasaki T, Tsujibe S, *et al.* (2007) *Mol Biol Cell* 18, 441-454
- 9) Ueyama T, Kusakabe T, Karasawa S, Kawasaki T, *et al.* (2008) *J Immunol* 181, 629-640
- 10) Ueyama T, Geiszt M, Leto TL (2006) *Mol Cell Biol* 26, 2160-2174
- 11) Grasberger H, Refetoff S (2006) *J Biol Chem* 281, 18269-18272
- 12) Geiszt M, Witta J, Baffi J, Lekstrom K, *et al.* (2003) *FASEB J* 17, 1502-1504

食塩負荷から血管トーンス亢進へのシグナル伝達機構

— Na⁺ポンプ・Na⁺/Ca²⁺交換輸送体の機能協関 —

岩本 隆宏、喜多 紗斗美、伊豫田 拓也、山本 信太郎 (A02 公募班)

福岡大学医学部薬理学

はじめに

過剰の食塩摂取は高血圧に対する主要なリスクファクターである。高血圧患者の9割以上は原因不明の本態性高血圧に分類されるが、その約4割が食塩負荷で血圧が上昇する食塩感受性高血圧患者である。食塩感受性高血圧患者では、過剰の食塩摂取によりNa⁺が体内に貯留し、体液量が増加することにより、血圧が上昇すると考えられている。しかし、この食塩感受性高血圧の発症機序は必ずしも明確ではなく、Na⁺貯留や体液量の増加がどのように血圧を上昇させるかについては不明な点が多い。このミニレビューでは、私達の知見を中心に、“食塩負荷から血管トーンス亢進へのシグナル伝達機構”にNa⁺ポンプ・Na⁺/Ca²⁺交換輸送体(NCX)の機能協関が関わっていることについて概説したい。

細胞内Ca²⁺濃度による血管トーンス制御

血管平滑筋細胞内のCa²⁺濃度が上昇すると、Ca²⁺・カルモデュリン複合体がミオシン軽鎖リン酸化酵素(MLCK)を活性化し、さらにリン酸化したミオシン軽鎖がアクチン・ミオシンのクロスブリッジが回転し、血管収縮が引き起こされる(血管トーンスの増大)。一方、血管平滑筋細胞内のCa²⁺濃度が低下すると、MLCKが不活性化され、ミオシン脱リン酸化酵素の働きによりミオシン軽鎖が脱リン酸化され、血管が弛緩する(血管トーンスの低下)。この細胞内Ca²⁺濃度は、細胞膜および筋小胞体膜に発現する種々Ca²⁺チャネルやCa²⁺輸送体により巧みに制御されている。

血圧は心拍出量と末梢血管抵抗の積として算出されるが、本態性高血圧患者や実験高血圧動物の心拍出量は正常であることが多く、ほとんどの高血圧は末梢血管抵抗の増加により生じる。この末梢血管抵抗は細動脈の血管トーンスによりダイナミック

に調節されている。実験動物の場合、生理的な灌流圧を負荷した摘出腸間膜動脈の血管トーンスを測定することにより(後述の図5)、末梢血管抵抗を推定することができる。実際、実験的に測定した血管トーンスレベルは全身血圧と良く相関することが報告されている¹⁾。

内因性ウアバイン

1991年に、Hamlynらはヒト血漿から内因性ウアバインを単離・同定した²⁾。内因性ウアバインは主に副腎皮質や視床下部で合成・貯蔵され、ヒトや動物の血中にnMレベルで存在している。この内因性ウアバインの分泌はACTHにより亢進される。実際、ACTH誘発高血圧症では内因性ウアバインの血中レベルが増加している。また、食塩感受性高血圧と内因性ウアバインの関連については多くの報告がある³⁾。食塩感受性高血圧患者や実験高血圧動物では血中の内因性ウアバインが増加しており、その増加量は血圧上昇と良く相関する。正常血圧者(食塩感受性)に強制的に食塩負荷すると、血中の内因性ウアバインが増加し、血圧が上昇する。低濃度のウアバインをげっ歯類(ラットやマウス)に長期投与すると血圧が上昇し、その高血圧はウアバイン拮抗薬PST2238(rostauroxin)により抑制できる。これらの報告は、食塩感受性高血圧の発症に内因性ウアバインが関与することを強く示唆している。

2004年に、私達はNCX阻害薬およびNCX遺伝子改変マウスを用いた研究から、動脈平滑筋に発現する1型Na⁺/Ca²⁺交換輸送体(NCX1)が食塩感受性高血圧の発症に重要な役割を果たすことを見いだした⁴⁾。一方、Lingrelらのグループは、Na⁺ポンプ変異体のノックインマウスを用い、内因性Na⁺ポンプ抑制因子(内因性ウアバイン)が血圧調節に密接に関わることを実験的に証明した⁵⁾。興味深いことに、NCX1を介する食塩感受

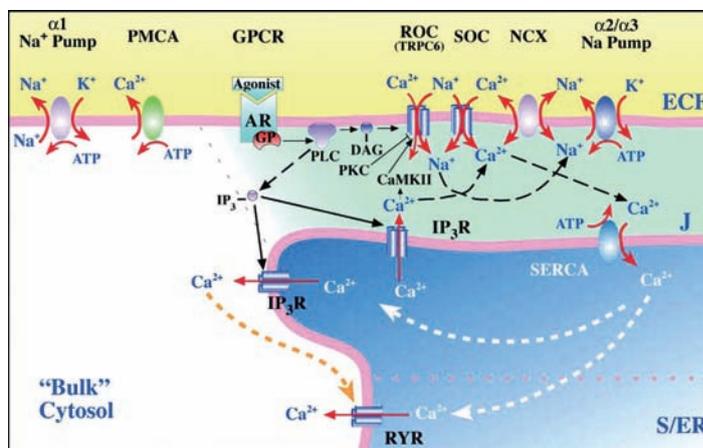


図1 PLasmERosom(細胞膜-junctional S/ER領域)のモデル

PLasmERosomは、細胞膜マイクロドメイン、junctional筋小胞体、“diffusion-restricted” junctional space(J)から構成される。この細胞膜マイクロドメインには、 $\alpha 2 / \alpha 3$ Na⁺ポンプ、NCX1、受容体およびストア依存性チャネル(ROC、SOC)、また junctional筋小胞体には、SERCA、IP3R、Ryanodine受容体が発現する。(文献3から引用)

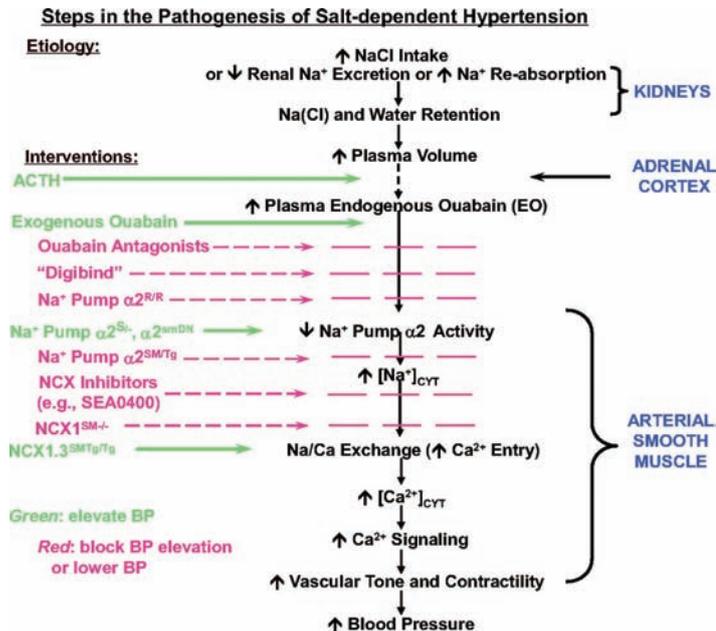


図2 食塩感受性高血圧発症のシグナル伝達経路

本ミニレビューで取り上げた材料および処置を左側にリストした。食塩感受性高血圧発症のシグナル伝達経路を促進するものは緑色で、また阻害するものは赤色で表示した。(文献3から引用)

性高血圧の発症には内因性ウアバインが関与する可能性が高いと考えられた(後述)⁴⁾。

細胞膜マイクロドメイン：内因性ウアバインの作動環境

Na⁺ポンプ(Na⁺, K⁺-ATPase)は細胞膜を介するNa⁺とK⁺のイオン濃度勾配を形成する重要なイオントランスポーターである。Na⁺ポンプはATPase活性、ウアバイン結合部位、リン酸化部位をもつ α subunit($\alpha 1 \sim \alpha 4$)とポンプ活性の構造と機能に重要な β subunit($\beta 1 \sim \beta 3$)から構成される。 α subunitは組織特異的な発現分布を示し、 $\alpha 1$ は普遍的に(腎臓に多い)、 $\alpha 2$ は心臓、骨格筋、血管に、 $\alpha 3$ は脳に、 $\alpha 4$ は精子に存在している。 $\alpha 2$ と $\alpha 3$ は細胞膜と筋小胞体の隣接部位"PLasmERosome"(細胞膜マイクロドメイン)に局在することが知られている(図1)³⁾。興味深いことに、同部位にはNCX1も共存している。一方、 $\alpha 1$ は同部位には共存せず、細胞膜全体に広く分布している。PLasmERosomeの間隙は12~20nm、その容積は $10^{19} \sim 10^{18}$ Lと推定される。PLasmERosomeにおいて局所的なイオン濃度変化(高濃度)が誘導された場合、"bulk cytosol"への拡散はかなり制限されると考えられる。

げっ歯類の $\alpha 1$ はウアバインに低感受性(>100 μ M)であり、nMレベルのウアバインは $\alpha 2$ (高感受性)のみを阻害する。つまり、げっ歯類の動脈平滑筋細胞において、内因性ウアバインはPLasmERosomeに局限してNa⁺濃度を変化させる。ヒトの $\alpha 1$ はウアバインに高感受性(<0.05 μ M)であるが、nMレベルのウアバインは $\alpha 1$ を部分的に阻害し、基本的にはげっ歯類と同じ現象が引き起こされると考えられる。 $\alpha 1$ はhousekeeping遺伝子で種々組織に発現し細胞膜に広く分布しているため、"bulk cytosol"のNa⁺濃度を調節していると考えられる。一方、 $\alpha 2$ と $\alpha 3$ はPLasmERosomeに限定分布しているため、局所の

Na⁺濃度の調節に特化した役割を有すると考えられる。このPLasmERosomeにはNCX1が共発現しており、この細胞膜マイクロドメインにおいてNa⁺ポンプ($\alpha 2$)・Na⁺/Ca²⁺交換輸送体(NCX1)の機能協同が形成される。つまり、内因性ウアバインが動脈平滑筋細胞"PLasmERosome"の $\alpha 2$ Na⁺ポンプに作用すると(局所Na⁺濃度の増加)、NCX1を介したCa²⁺流入が誘導され、血管トーンが増大することにより血圧が上昇すると考えられる(図2、詳細は後述)。

$\alpha 2$ Na⁺ポンプ

上述のように、げっ歯類にウアバインを長期投与すると血圧が上昇する。もしウアバイン(外因性および内因性)が動脈平滑

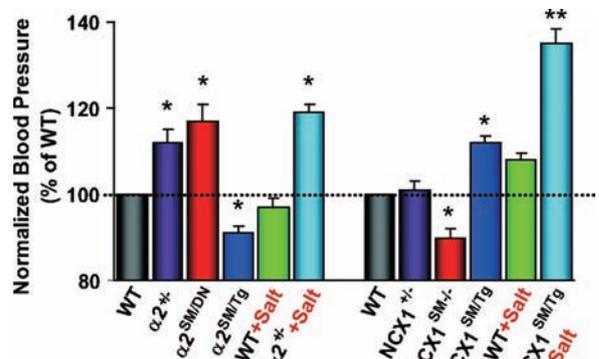


図3 $\alpha 2$ Na⁺ポンプおよびNCX1の種々遺伝子変異マウスの収縮期血圧(相対値)

縦軸には各対照マウス(野生型マウス)に対して標準化した種々遺伝子変異マウスの収縮期血圧(相対値)を示した。+Saltでは4%NaCl含有高食塩食(2週間)もしくは8%NaCl含有高食塩食+1%食塩水(4週間)を処置した。*P<0.05, **P<0.01(文献3から引用)

筋の $\alpha 2\text{Na}^+$ ポンプを阻害することにより血圧上昇を誘導しているなら、 $\alpha 2\text{Na}^+$ ポンプの発現抑制でも同様の血圧上昇が観察されるはずである。そこで、私達は $\alpha 1$ および $\alpha 2$ のヘテロ欠損マウス($\alpha 1^{+/-}$ 、 $\alpha 2^{+/-}$)の血圧を測定したところ、 $\alpha 1^{+/-}$ マウスは正常血圧であるが、 $\alpha 2^{+/-}$ マウスは軽度な高血圧状態であることを観察した(図3)³⁾。また、それを裏付ける結果として、 $\alpha 2^{+/-}$ マウスの摘出腸間膜動脈(生理的な灌流圧下)において、血管トーンが増大していることを確認した⁶⁾。さらに、 $\alpha 2^{+/-}$ マウスでは食塩負荷による昇圧反応が亢進していた(図3)。一方、血管平滑筋特異的な $\alpha 2$ 高発現マウス($\alpha 2^{\text{SM/TB}}$)では血圧の低下が観察された(図3)⁷⁾。ウアバイン拮抗薬 rostafuroxin は野生型マウス腸間膜動脈のウアバイン誘発による血管トーンの亢進を抑制したが、 $\alpha 2^{+/-}$ マウス腸間膜動脈の血管トーンの亢進には影響を及ぼさなかった。また、rostafuroxin はげっ歯類のウアバイン誘発高血圧およびヒトの本態性高血圧(有効率: 約30%)に対して有効であった³⁾。

また、Lingrelらのグループは $\alpha 2\text{Na}^+$ ポンプのウアバイン結合部位を低感受性に変えた変異体のノックインマウス($\alpha 2^{\text{R/R}}$)を作製した⁵⁾。 $\alpha 2^{\text{R/R}}$ マウスでは、野生型マウスと異なってACTH投与による高血圧が誘発されなかった(図4)。また、野生型マウスのACTH誘発高血圧およびウアバイン誘発高血圧はDigibind(ウアバインの中和抗体)の投与により抑制された(図4)。これらの結果は、 $\alpha 2\text{Na}^+$ ポンプのウアバイン結合部位が血圧調節に重要な役割を果たすことを示すとともに、内因性ウアバインの昇圧因子としての生理的意義を実証するものである。

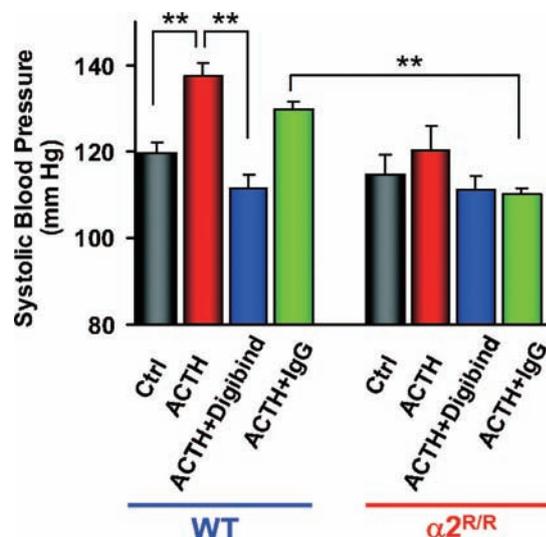


図4 野生型マウス(高感受性 $\alpha 2$)および $\alpha 2^{\text{R/R}}$ ノックインマウス(低感受性 $\alpha 2$)のACTH誘発昇圧反応(低感受性 $\alpha 2$)のACTH誘発昇圧反応
ACTH(500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ SC、8時間毎5日間)は野生型マウス(WT)の血圧を上昇させたが、ノックインマウスの血圧には影響を及ぼさなかった。Digibind(30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、血圧測定の前2時間投与)は野生型マウスのACTH誘発昇圧反応を抑制した。一方、対照のIgGは効果が認められなかった。血圧は tail cuff法もしくはテレメトリー法により測定した。** $P < 0.01$ (文献3から引用)

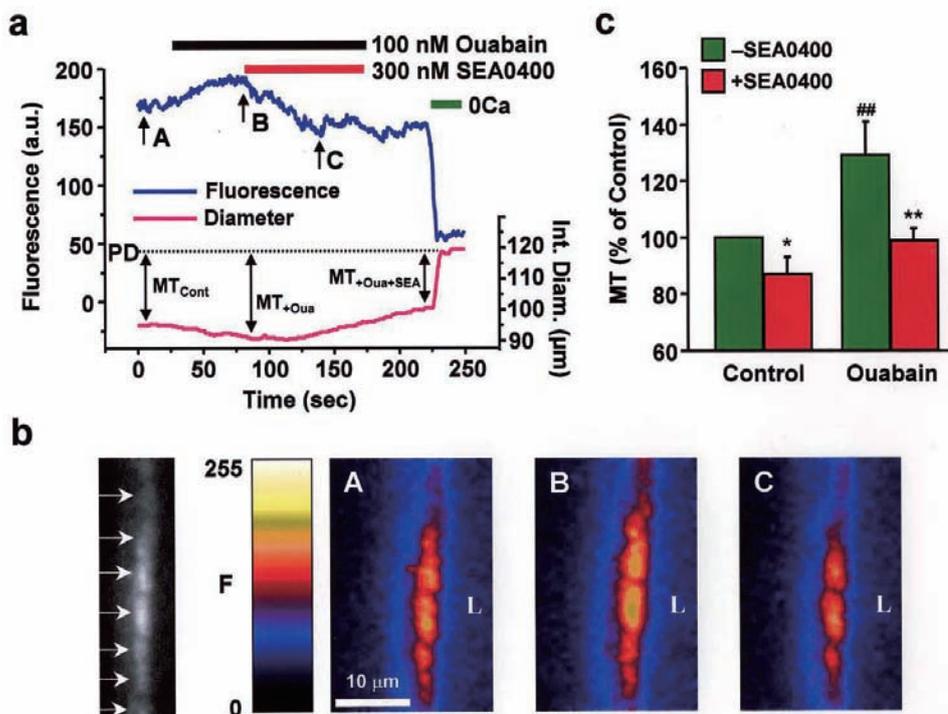


図5 マウス灌流腸間膜動脈における細胞内 Ca^{2+} 濃度および血管トーンに及ぼす低濃度ウアバインおよびSEA0400の影響
a: マウス腸間膜動脈(灌流圧: 70mmHg)のFluo-4蛍光強度と血管径の同時測定。実験の最後に、0mM Ca^{2+} 溶液を処置し、受動的血管径(PD)を測定した。
b: 左のモノクロ写真はaで使用した動脈壁(縦断面の片方)のFluo-4蛍光の共焦点画像。矢印は個々の平滑筋細胞を示す。右のカラー写真はaの各ポイントのFluo-4蛍光強度を示す疑似カラー画像。
c: 標準化した血管トーンデータのまとめ(5標本)。* $P < 0.05$ 、## $P < 0.01$ (文献4から引用)

Na⁺/Ca²⁺ 交換輸送体(NCX1)

Na⁺/Ca²⁺ 交換輸送体(NCX)は、細胞膜を介して3個のNa⁺と1個のCa²⁺を交換輸送するイオントランスポーターである⁷⁾。通常、この輸送体は細胞膜を介するNa⁺の濃度勾配に従ってCa²⁺を細胞外へ汲み出す役割を担っているが(Ca²⁺流出モード)、細胞内にNa⁺が蓄積する特殊な状態では、逆に細胞外からCa²⁺を流入させる(Ca²⁺流入モード)。この輸送体には、NCX1～NCX3の3種のアイソフォームが存在する。NCX1は心臓、血管、腎臓、脳をはじめとする種々臓器に普遍的に発現し、NCX2とNCX3はおもに脳、骨格筋に発現している⁸⁾。

培養血管平滑筋細胞において、低濃度ウアバイン(nMオーダー)によるNa⁺ポンプ阻害は細胞内Na⁺濃度("bulk cytosol")をほとんど変化させることなく、細胞内Ca²⁺シグナルを増大させた³⁾。また、α2^{+/+}マウスの培養細胞では細胞内Na⁺濃度("bulk cytosol")の僅かな増加にもかかわらず、細胞内Ca²⁺シグナルは大きく増強された。これらの知見は、PLasmERosome(図1)におけるα2Na⁺ポンプとNCX1の機能連関を支持している。さらに、最近の薬理的・遺伝子工学的な研究成果から、動脈平滑筋細胞のCa²⁺調節におけるNCX1の役割、また血管トーンや血圧制御におけるNCX1の役割が明らかになりつつある。血管平滑筋特異的なNCX1高発現マウス(NCX1^{SM/Tg})は安静時に軽度な高血圧状態(約12%上昇)を示し、さらに高食塩食を4週間負荷することにより、血圧が約37%上昇した(図3)⁴⁾。また、この高食塩負荷時の高血圧は特異的NCX阻害薬SEA0400により抑制された。一方、血管平滑筋のNCX1発現量が約半分に減少したNCX1ヘテロ欠損マウス(NCX1^{+/-})を用いて、DOCA食塩高血圧モデルの作製を試みたところ、野生型マウスの場合とは異なり、血圧上昇が誘発されなかった⁴⁾。さらに、SEA0400は正常血圧ラット、高血圧自然発症ラット(SHR)、脳卒中易発症性SHR、Dahl食塩非感受性ラット、2腎1クリップ型腎性高血圧ラットなどの血圧には影響を与えなかったが、DOCA食塩高血圧ラット、食塩負荷したDahl食塩感受性ラット、食塩負荷したSHRにおいては著明な降圧作用を示した⁴⁾。また、SEA0400はACTH誘発高血圧およびウアバイン誘発高血圧に対して効果を示すとともに、野生型マウス腸間膜動脈のウアバイン誘発血管トーンの亢進(細胞内Ca²⁺濃度の増加)を抑制した(図5)⁴⁾。これらの結果は、食塩感受性高血圧の発症におけるNCX1の役割を支持している。

一方、血管平滑筋特異的なNCX1欠損マウス(NCX1^{SM/-})は安静時に軽度の低血圧状態を示し、さらにその摘出腸間膜動脈(生理的な灌流圧下)では血管トーンの基礎レベルが低値で

あった²⁾。実際、野生型マウスにSEA0400を投与すると、血圧は軽度に低下し(5～10mmHg)、腸間膜動脈の血管トーンは約10%減少した⁴⁾。このように、NCX1は安静時においても血管トーンや血圧の調節に一部関与すると考えられた。また、SEA0400はα2^{+/+}マウスにおける血管トーンの亢進を抑制した。これは、NCX1がα2Na⁺ポンプの下流で機能していることを示唆している(図2)。

おわりに

上述したように、食塩感受性高血圧の発症には動脈平滑筋細胞のNCX1を介するCa²⁺流入が重要な役割を果たしている可能性が高い。従来から、食塩負荷した動物およびヒトにおいて、血中の内因性ウアバインが増加することが多数報告されている³⁾。そこで、高食塩摂取時には内因性ウアバインの分泌が亢進し、α2Na⁺ポンプに対する阻害作用により、動脈平滑筋細胞"PLasmERosome"のNa⁺濃度が増加し、NCX1を介したCa²⁺流入が引き起こされるものと考えられる。この一連の過程により、動脈平滑筋の細胞内Ca²⁺濃度が増加し、特に末梢動脈における血管トーンが高まり、高血圧を発症すると考えられる(図2)。

食塩感受性高血圧患者では、食塩制限や利尿薬投与により血圧低下を示す例が多い。古くから、利尿薬を高血圧患者に長期投与すると末梢血管抵抗が低下することが知られている。この説明として、利尿薬には体液量減少作用以外の直接的な血管拡張作用があるのではないかと推察されてきた。現在、直接的な証拠はないが、食塩制限や利尿薬投与が体内のNa⁺貯留を改善し、内因性ウアバインの分泌を低下させることにより、動脈平滑筋におけるNCX1を介するCa²⁺流入を間接的に抑制し、末梢血管抵抗を低下させている可能性が考えられる。

引用文献

- 1) Davis, M.J. et al. (1999) *Physiol. Rev.* 79, 387-423.
- 2) Hamlyn, J.M. et al. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 6259-6263.
- 3) Blaustein, M.P. et al. (2009) *Hypertension* 53, 291-298.
- 4) Iwamoto, T. et al. (2004) *Mat. Med.* 10, 1193-1199.
- 5) Dostanic-Larson, I. et al. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 15845-15850.
- 6) Zhang, J. et al. (2005) *J. Physiol.* 569, 243-256.
- 7) Pritchard, T.J. et al. (2007) *Am. J. Physiol.* 293, H1172-H1182.
- 8) Iwamoto, T. et al. (2007) *Cardiovasc. Hematol. Disord. Drug Targets* 7, 188-198.

SLC26 輸送体の細胞内ドメイン STAS の機能解析

洪 繁¹(A02 公募班)、東 祥子²、後藤 秀実²、石黒 洋³、山本 明子³

渡辺 崇⁴、貝淵 弘三⁴、相馬 義郎⁵、有村 奈利子⁶

¹ 名古屋大学附属病院消化器内科、² 名古屋大学大学院消化器内科、³ 名古屋大学大学院健康栄養医学

⁴ 名古屋大学大学院神経情報薬理学、⁵ 慶応義塾大学医学部薬理学、⁶ 玉川大学脳科学研究所

(1)はじめに

我々生物は、全身の上皮膜を介して外界と接している。生物はこの上皮膜を介したイオンの出し入れ(イオン出納)をコントロールすることで、消化、吸収、水分泌などを制御し、生体の恒常性を維持している。即ち、イオン出納を制御することは、間接的に上皮膜を介する水の輸送方向を決定し、高濃度の蛋白を含む消化液分泌量をコントロールする。栄養の吸収はほとんどの場合、上皮細胞の管腔膜内外のイオン濃度勾配を駆動力に栄養とイオンの共輸送を行うことで、外界である腸管内から消化管上皮細胞内へ更には血管内へと輸送される。

我々の血漿中には陰イオンとしてクロライドイオン(Cl⁻)及び重炭酸イオン(HCO₃⁻)、陽イオンとしてナトリウムイオン(Na⁺)が豊富に存在する。このうち上皮細胞の管腔膜にこれらのイオンを通すチャネルや輸送担体が存在し、イオン輸送機構により分泌、吸収されるのは Cl⁻ 及び HCO₃⁻ である。上皮細胞においてイオンの出納に直接かかわるのは、これら陰イオン輸送に関わる膜蛋白であるが、近年まで上皮膜における分泌、吸収過程におけるイオン輸送機構の理解は不十分であった。

消化管や他の上皮細胞も含めて、ほとんど全ての上皮膜はアルカリ(血漿中より高い濃度の HCO₃⁻ を含む)液を分泌する。中でも膵導管細胞は、血漿中の重炭酸イオン濃度(24mM)に比べ、約 5 倍の濃度勾配(125mM)に逆らって細胞内から管腔内にアルカリ液を分泌するのに特化した上皮細胞である。この 5 倍にも及ぶ濃度勾配に逆らって管腔内にイオンを分泌する詳細な分子機構は未だ研究の途上であり、現在までの知見で全てが明らかとなつたとまでは言えないが、我々自身の研究及び海外の他の研究グループからの研究成果により上皮膜におけるイオン分泌機構を理解する有力な手がかりが得られつつある。

本稿では、これまで得られている知見を紹介することで上皮膜のイオン輸送機構を概説すると共に、我々の研究グループで現在進行中のデータを一部紹介する。

(2)上皮膜のイオン輸送機構

図 1 は上皮膜のモデル細胞として、ヒトなどの膵導管細胞におけるイオン分泌機構を示したものである。詳細は割愛するが、基底側膜上の受容体へのアゴニスト(膵導管細胞で

は消化管ホルモン・セクレチン)刺激により細胞内シグナル伝達経路が活性化され、最終的には管腔膜に発現する CFTR Cl⁻チャネルが活性化される。CFTR の活性化によりイオンチャネルが開き、CFTR チャネルを通じて、Cl⁻が膜電位に従い細胞内から管腔内へ分泌される。管腔内に分泌された Cl⁻イオンは、CFTR と同じく導管細胞管腔膜に発現する Cl⁻/HCO₃⁻ 交換輸送体の働きで Cl⁻が細胞内に再度取り込まれるのと交換に、HCO₃⁻が管腔内に分泌される。ヒトなどの膵導管細胞ではアゴニスト刺激により分泌されるイオンの殆どは、HCO₃⁻であることがわかっているが、CFTR により分泌された Cl⁻が Cl⁻/HCO₃⁻ 交換輸送体の働きで再吸収されることで、見掛け上 HCO₃⁻のみが分泌されているようにみえると考えられている。最近の研究の成果により、上皮細胞の管腔膜に発現する Cl⁻/HCO₃⁻ 交換輸送体は SLC26 輸送体ファミリーであることがわかっている(図 2, Mount and Romero, 2004, Review)。

(3) SLC26 輸送体ファミリー

SLC26 輸送体はそのほとんどが 1990 年代以降に同定された比較的新しい輸送体ファミリーであり、全部で 11 遺伝子

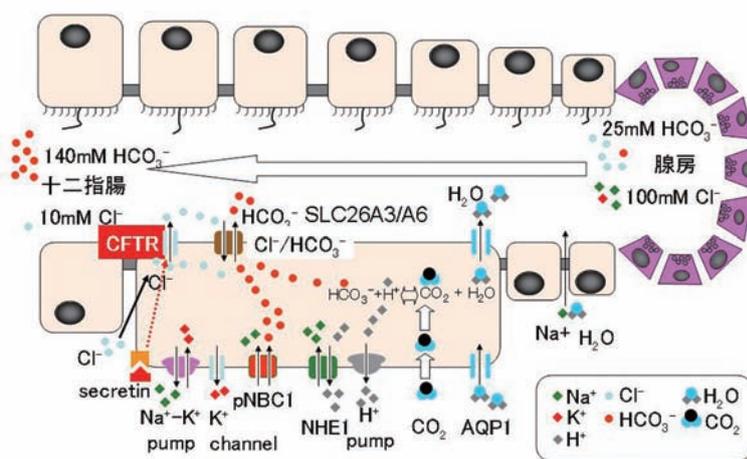


図 1

ヒト、イヌ、ネコ、モルモットなど高濃度の HCO₃⁻ を含む膵液を分泌する動物の膵導管細胞におけるイオン輸送機構モデル。食事摂取刺激などで膵外分泌が刺激されると、腺房細胞の管腔に初期膵液として血漿と同程度の HCO₃⁻ を含む膵液を分泌する。初期膵液は腺房細胞から分泌された非常に高濃度の消化酵素蛋白を含んでいる。高濃度の消化酵素を含んだ膵液は膵導管細胞を経て十二指腸乳頭より十二指腸内に放出される。膵導管細胞では、ホルモンなどのアゴニストにより受容体が刺激され、最終的には管腔膜に発現する CFTR クロライドチャネルを活性化する。CFTR チャネルを通じて分泌された Cl⁻は、同じく管腔膜に発現する SLC26 輸送体(げっ歯類の膵導管細胞の場合は SLC26A3 と SLC26A6、ヒトで発現するアイソフォームはまだ正確には不明である)の働きにより細胞内に再吸収されると共に HCO₃⁻ が管腔内に分泌される。ヒトでは一日 1.5L ~ 2.0L の膵液が分泌されることから、一日約 200-300mEq の HCO₃⁻ 分泌があると考えられる。この十二指腸内に分泌された膵液中のアルカリは胃からの酸の大半を中和する。

Human gene	Aliases	Reported substrates	Tissue distribution	Disease association(s)	Human gene locus	Genbank Accession ID
SLC26A1	Sat-1	SO ₄ ²⁻ , oxalate	Liver, kidney		4p16.3	AF297659
SLC26A2	DTBST	SO ₄ ²⁻ , Cl ⁻	Widespread	Chondrotyplasias	5q31.34	NM_000112
SLC26A3	DRA/CLD	SO ₄ ²⁻ , Cl ⁻ , HCO ₃ ⁻ , OH ⁻ , oxalate	Intestine, sweat gland, pancreas, prostate	Congenital chloride-losing diarrhea	7q31	NM_000111
SLC26A4	Pendrin	Cl ⁻ , HCO ₃ ⁻ , F ⁻ , formate	Inner ear, kidney, thyroid	Pendred syndrome, deafness (DFNB4)	7q31	NM_000441
SLC26A5	Prestin	?	Inner ear	Deafness?	7q22	AY289133
SLC26A6	CFEX PAT-1	SO ₄ ²⁻ , Cl ⁻ , HCO ₃ ⁻ , OH ⁻ , oxalate, formate	Widespread, (Pancreas)		3p21	AF416721 (A6a) AF279265 (A6b)
SLC26A7	None	SO ₄ ²⁻ , Cl ⁻ , oxalate	Kidney		8q22.2	AF331521
SLC26A8	Tat1	SO ₄ ²⁻ , Cl ⁻ , oxalate	Sperm, brain		6p21.3	AF314959
SLC26A9	None	SO ₄ ²⁻ , Cl ⁻ , oxalate	Lung		1q32	AF314958
(SLC26A10)	None	Pseudogene			12q13	NM_133409
SLC26A11	None	SO ₄ ²⁻	Widespread		17q25	AF345195

Mount D & Romero M. Pflügers Archiv 2004

図 2

SLC26輸送体ファミリーのまとめ。SLC26輸送体は各イオンフォームにより多彩な基質を輸送すること、イオンフォームにより輸送体、イオンチャンネル、交換輸送体、モーター蛋白と機能的にも多彩であることに特徴がある(本文参照)。

が存在する。そのうち 10 番目はヒトでは pseudogene と考えられており、蛋白としては全部で 10 種類である。SLC26 輸送体ファミリーはほかのトランスポーターなどと同じく、ひとつの遺伝子で複数の splice variant が存在する (Chernova et al, 2005)。臓器や組織ごとに別々の variant が発現し、違った機能を果たしている可能性が疑われるが、各々の splice variant の詳細な機能は明らかではない。

SLC26 輸送体は、その機能により大きく 4 種類に分類される。最初のグループは SLC26A1 と SLC26A2 によるグループ (Everett and Green, 1999, Review) で、SO₄²⁻ を輸送する。これらは比較的広範囲の組織に発現しており、SLC26A2 の遺伝子変異では関節の成長が障害されるため遺伝性小人症を発症する。2 つ目は SLC26A3, A4 と A6 が属するグループ (Ohana et al, 2009, Review) で、これらは Cl⁻, HCO₃⁻, formate, oxalate などの陰イオンを細胞膜の内外で交換することによりイオンを輸送する。SLC26A3 は腸管における Cl⁻ 吸収、HCO₃⁻ 分泌の中心蛋白であり、機能が障害されると遺伝性のクロライド下痢症 (Höglund P et al, 1996) となる。SLC26A4 は甲状腺や内耳などに発現する陰イオン交換輸送体であり、特に内耳蝸牛での HCO₃⁻ 分泌に関わるため、Pendred syndrome と呼ばれる遺伝子性難聴の原因遺伝子 (Everett et al, 1997) である。3 つ目のグループは、SLC26A7 と SLC26A9 の陰イオンチャンネルグループである。SLC26A7 は当初、Cl⁻, HCO₃⁻ の交換輸送体として同定された (Lohi et al, 2002) が、後に他の研究グループの解析により交換輸送体ではなくチャンネルであること (Kim et al, 2005) が明らかとなった。SLC26A9 も当初、その機能は Cl⁻/HCO₃⁻ 交換輸送体と報告された (Lohi et al, 2002) が、後に他の研究グループにより Cl⁻ チャンネルであることが報告された (Dorwart et al, 2007; Bertrand et al, 2009)。4 つめのグループは SLC26A5 (Prestin) である。Prestin は輸送体ではなく内耳のモーター蛋白として働いている (Zheng et al, 2000)。

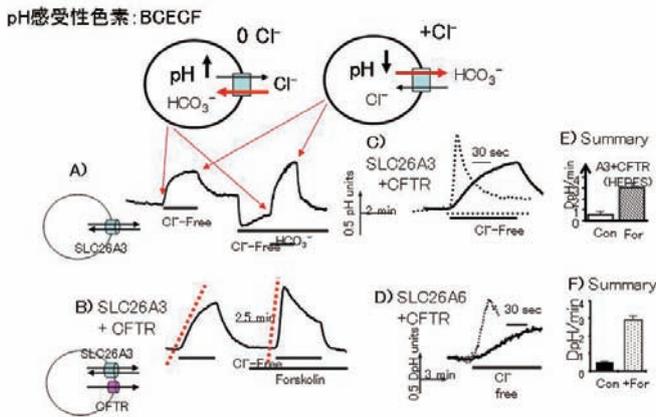
SLC26 輸送体はアミノ酸配列からは一つのファミリーに分類されるが、各々の遺伝子はトランスポーターや交換輸送体、イオンチャンネル、モーター蛋白など非常に多彩な機能を発揮するユニークなファミリーである。

更に驚くべきことには、SLC26A9 は一つの蛋白が Cl⁻ チャンネルとしての働きと Cl⁻/HCO₃⁻ 交換輸送体としての働きの少なくとも 2 つのモードを持っていること、詳細は明らかではないがこれらの機能は Na⁺ の存在下に調節されることから NBC (Sodium-HCO₃⁻ cotransporter) の様に Na⁺-anion cotransporter である可能性も報告された (Chang et al, 2009)。つまり 1 つの膜輸送体蛋白がチャンネルと交換輸送体、共輸送体の 3 つの輸送モードを持つ可能性もあり興味深い。

これまで知られている陰イオン交換輸送体ファミリー蛋白には SLC26 輸送体のほかに SLC4 陰イオン交換輸送体 (AE1, AE2, AE3, AE4) が存在する。SLC4 交換輸送体ファミリーはイオンの交換比率が 1 : 1 であり、イオンの輸送により膜電位が変化しない電気的に中立な交換輸送体であるため、これまでの上皮膜のイオン分泌モデルも電気的に中立な交換輸送体の存在を前提としてきた。しかし我々の自身の研究と他の研究グループの成果により少なくとも SLC26A3 と SLC26A6 は起電性の交換輸送体であることが解明された (Ko et al, 2002; Xie et al, 2002)。すなわち輸送基質が 1 価の陰イオンである Cl⁻ や HCO₃⁻ など場合はそれらの輸送比率は 2 : 1 または 1 : 2 であり、膜を介したイオンの動きにより膜電位の変化を伴う。この発見はこれまで陰イオン交換輸送体は電気的に中立であることを前提としてきた上皮膜におけるイオン輸送機構モデルを根本的に変える発見となった。

(4) SLC26 輸送体と CFTR クロライドチャンネル

主として腸管上皮膜に発現する SLC26A3 や全身の上皮膜に広範囲に発現する SLC26A6 などは、その組織学的分布からは CFTR クロライドチャンネルの発現部位と良く一致



Ko et al. EMBO J.2002

図 3

CFTRによる SLC26陰イオン交換輸送活性の増強。SLC26輸送体の陰イオン交換輸送活性は HEK293細胞に遺伝子を発現させ、pH感受性色素 BCECFを用いて光学的に測定した。還流液中のクロライドを除くと Clが細胞外に輸送されるとともに OH⁻や HCO₃⁻イオンが細胞内に流入することにより細胞の pHが上昇する(A)。SLC26A3と CFTRを細胞に共発現させ adenylate cyclase activatorである forskolinで CFTRを刺激すると、SLC26A3の陰イオン交換輸送活性は著明に上昇した(B)。この CFTRによる SLC26A3の活性化は SLC26A6でも同様である(D)。

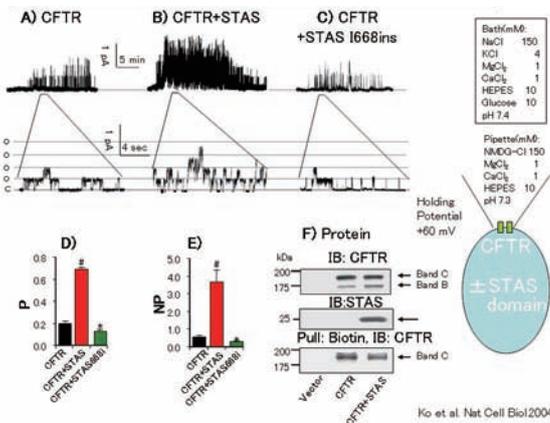
している。更にこれまでの上皮膜における HCO₃⁻分泌モデルでは、CFTR を通る Cl⁻の透過性と SLC26 交換輸送体による Cl⁻再吸収及び HCO₃⁻分泌、即ち CFTR と陰イオン交換輸送体の機能的な連関を前提にモデル化されていた。我々はこれに着目し CFTR と SLC26A3 や A4, A6 を HEK293 細胞などに共発現させ、SLC26 の陰イオン交換輸送活性を測定したところ、Adenylate cyclase activator である Forskolin を用いて CFTR を活性化すると、SLC26A3 や A4, A6 の陰イオン交換輸送活性は少なくとも 6 倍に上昇すること事を発見した

(図 3, Ko et al, 2002)。CFTR と SLC26 輸送体は、同一の上皮細胞管腔膜に発現し機能的に協調作用するだけでなく蛋白間相互作用により CFTR は直接 SLC26 を活性化することが明らかとなった。我々の研究グループによるこの発見は、後に他の研究グループによる解析でも確認されている(Chernova et al, 2003)。

この研究の後、我々は CFTR が SLC26 輸送体機能に影響をおよぼす事から逆に着想し、SLC26 輸送体が CFTR のチャネル活性に影響を及ぼす可能性疑った。HEK293 細胞に SLC26A3 や SLC26A6 を CFTR と共発現させると、驚いたことに CFTR クロライドチャネル活性は著明に増強された(図 4, Ko et al, 2004)。SLC26 輸送体と CFTR クロライドチャネルは、お互いが結合相手の機能を活性化し合うことで、2つの別々の膜蛋白があたかも 1つのイオン輸送体であるかのような膜輸送複合体ユニットを形成していることが証明された。

(5) SLC26 STAS ドメイン

SLC26輸送体には他の多くの輸送体とは違い、そのC末の細胞内に250~400アミノ酸残基からなる比較的大きな細胞内ドメインSTAS(Sulfate Transporter Anti-Sigma factor antagonist)が存在する(Aravind and Koonin, 2000)。SLC26A2 や A3, A4 などでは STAS ドメインに変異が存在すると、蛋白の機能が消失し遺伝病を起こすことから、この STAS ドメインは SLC26 輸送体の機能保持に重要であると考えられていた。更に我々の検討では、CFTR と SLC26 輸



Ko et al Nat Cell Biol 2004

図 4

SLC26A3 STASによる CFTRのクロライドチャネル活性化。CFTRと SLC26A3 STASを共発現させると CFTRのチャネル活性化は著明に活性化された(B)。疾患発症遺伝子変異である I668ins変異体を共発現させた場合は、野生型の STASの場合と違い活性化は起こらない(C)。CFTRと STASの共発現では、膜に発現する蛋白量に変化を認めないことから、STASによる CFTRの活性化は、蛋白間相互作用により起こっている可能性が高い(F)

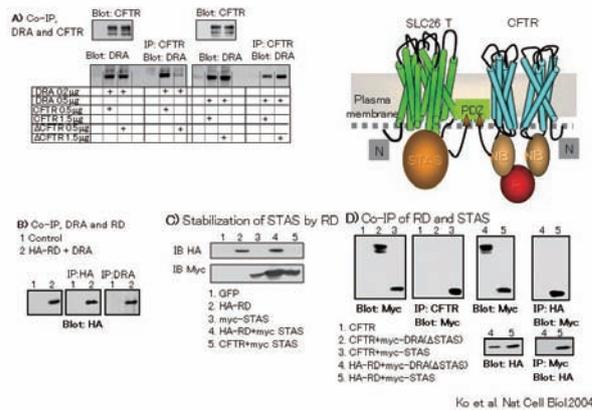


図5

SLC26A3 STASと CFTR Rドメインとの結合。全長の CFTRと SLC26A3(DRA) は免疫沈降される。各々の C末に存在する PDZ binding domainを除いても免疫沈降が阻害されないことから PDZ binding domain以外の結合ドメインの存在が疑われる(A)。全長の SLC26A3(DRA) と CFTR Rドメインは免疫沈降により結合が確認された(B)。CFTR Rドメインは SLC26A3 の膜貫通部位とでなく STASと免疫沈降されることから、CFTR Rドメインと SLC26A3 STASドメインの結合が確認された(D)。

送体は、各々の細胞内活性調節ドメインである R(Regulatory) 及び STAS ドメインにより結合し、相互作用を行っていることも明らかとなった(図5、Ko et al, 2004)。

(6) STAS ドメインは CFTR R ドメインだけでなく、Carbonic Anhydrase とも結合する

SLC26 STAS ドメインは、結合蛋白として CFTR 以外にも重炭酸イオン輸送体の機能に重要である Carbonic Anhydrase も結合することが報告され、SLC26 輸送体と CFTR の膜輸送複合体には少なくとも Carbonic anhydrase も含まれることが明らかである(Alvarez et al, 2005)。

(7) SLC26 STAS は分子スイッチ ?

最近 Romero ら(Chang et al, 2009)は、ヒト SLC26A9 とほぼ相同なマウス Slc26a9 を用いた研究で、野生型の遺伝子から STAS ドメインだけを除いたコンストラクト(m Slc26a9 Δ STAS)を作成すると、m Slc26a9 のクロライドチャンネル活性は完全に消失するが、陰イオン交換輸送活性は比較的保たれることを報告した。この研究からは Slc26a9 のチャンネルまたはトランスポーターのモードの切り替えは、STAS ドメインが行っている可能性が強く示唆される。

更に本研究では、ヒトの SLC26A9 は CFTR により機能が活性化される(Bertrand et al, 2009)が、m Slc26a9 では機能が抑制されることを報告している。興味深いことに、Slc26a9 の STAS ドメインを Slc26a6 の STAS ドメインと入れ替えると(つまり N 末から膜貫通部位までは A9、STAS のみが A6 のコンスト

ラクトでは)、野生型の Slc26a9 で認められる CFTR による活性抑制が消失するだけでなく、野生型の Slc26a6 と同様に CFTR により活性化を受けることを報告した(Chang et al, 2009)。つまり CFTR と SLC26 の膜輸送複合体においては、SLC26 の各々のアイソフォームの機能の違いは膜貫通ドメインではなく STAS ドメインのアミノ酸配列により決定されており、STAS が膜貫通部位のチャンネルや交換輸送活性をスイッチのように切り替えている可能性が示唆される。

(8) SpoIIAA は GTP 結合活性と GTPase 活性を持つ

SLC26 輸送体は大腸菌などの原核細胞では、Sulfate transporter である膜貫通部位と哺乳類の STAS に相当する ASA(Anti-Sigma Factor Antagonist)ドメインの2つの別々の蛋白として存在し、お互いに機能的な関係はない。大腸菌の ASA は SpoIIAA と呼ばれ、転写調節因子である Anti Sigma factor を負に調節する活性調節分子であり(Stragier et al, 1988)、結合相手である SpoIIAB によりリン酸化調節をうけることで、菌の孢子形成に重要な役割を果たしている(Najafi et al, 1995)。また SpoIIAA の機能における役割はわかっていないが、GTP 結合活性と GTPase 活性を持っていることが報告されている(Najafi et al, 1996)。

(9) SLC26 STAS の機能

以上をまとめると、現在までに明らかとなった SLC26 STAS の機能は、

- SLC26 輸送体の陰イオン交換輸活性保持(SLC26A3, SLC26A6)
- SLC26 輸送モードの切り替え(Channel or Transporter; SLC26A9)
- CFTR R ドメインや Carbonic anhydrase などとの結合(SLC26A3, A6)
- CFTR クロライドチャンネル活性増強(SLC26A3, SLC26A6) や抑制(SLC26A9) などである。

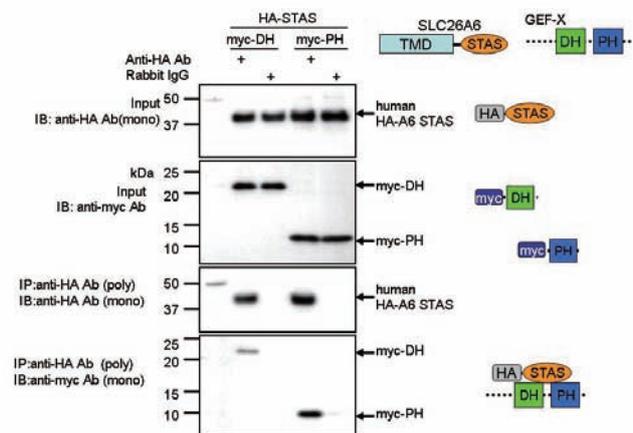


図6

LC-MS/MS解析により同定された新規 SLC26A6 STAS結合 GEF蛋白(GEF-Xとする)。GEF-Xは Rho-GEFファミリーに属する蛋白であり DH及び PHドメインから構成されている。STASドメインと DHドメイン単独でも、PHドメイン単独でも免疫沈降されることから両ドメインと STASドメインの in vitroでの結合が確認された。

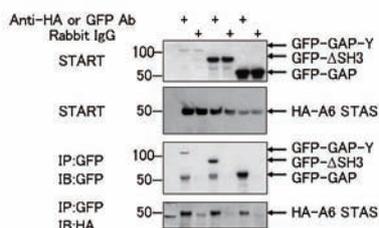
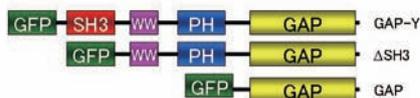


図 7

MS解析により同じく同定された GAP蛋白(GAP-Yとする)。Rac1/*cdc42*の GAPの一つである GAP-Yは C末に存在する GAPドメインが STASとの結合部位であることが確認された。

Bacillus の孢子形成は SpoIIAA のリン酸化により制御されていること、SpoIIAA 自身に GTP 結合活性と GTPase 活性を認めることから、菌の STAS ドメイン相同部位である ASA はその機能から、Rac、*cdc42*、Rho ファミリーなどの低分子量 G 蛋白と同様に、分子スイッチの様な役割が考えられる。哺乳類の STAS ドメインも自分自身の活性調節と結合蛋白の活性調節を行うという機能的性質からは単なる分子間結合部位としての位置づけだけではなく、ASA のように分子スイッチのような役割を推察することが出来る。つまり原核生物の ASA の多彩な機能調節メカニズムからは、真核細胞の STAS ドメインにもリン酸化や GTP 結合などによつての多彩な機能調節機構の存在が疑われるが、これまでの研究では STAS の

機能調節に関してはほとんど研究がなされていない。

(10) SLC26A6 STAS に結合し機能調節に関わる蛋白の同定

以上の結果から、我々は STAS ドメインが自分自身の活性制御と結合相手蛋白(CFTR や Carbonic Anhydrase)の機能調節を行う分子スイッチであるとの仮説のもと、STAS の制御に関わる結合分子の同定を試みている。

ヒト SLC26A6 の STAS ドメインだけを GST に融合させたコンストラクトを作成し、GST 融合 STAS 蛋白を精製した。ヒトの膵導管細胞由来癌細胞である Capan-1 細胞の cell lysate を材料に用いて、精製した GST-STAS をベイトに pull down 実験を行った。得られた STAS 結合蛋白は、液体クロマトグラフトンデム型質量分析計 LCQ Advantage (Thermo Fisher Scientific Ltd.)を用いて解析を行った。その結果、Rho-GEF ファミリーに属する guanine nucleotide exchange factor(GEF) 蛋白(GEF-X) や RAC/*cdc42* に対する GTPase activating protein(GAP) 蛋白(GAP-Y)が同定された(Ko et al, unpublished)。これらの GEF や GAP 蛋白は少なくとも RT-PCR での解析で Capan-1 細胞に mRNA 発現を認めており、更にベイトとして使用した SLC26A6 STAS ドメインと免疫沈降されることから、in vitro レベルでは結合蛋白であることも明らかにした。

今後、今回の解析で同定された GEF や GAP 蛋白が SLC26A6 自身のチャンネルや陰イオン交換輸送活性に及ぼす影響や、SLC26 輸送体と膜輸送複合体を形成する CFTR のクロライドチャンネル機能に及ぼす影響を解析することで、STAS の分子スイッチとしての働きが解明されていくと期待している。

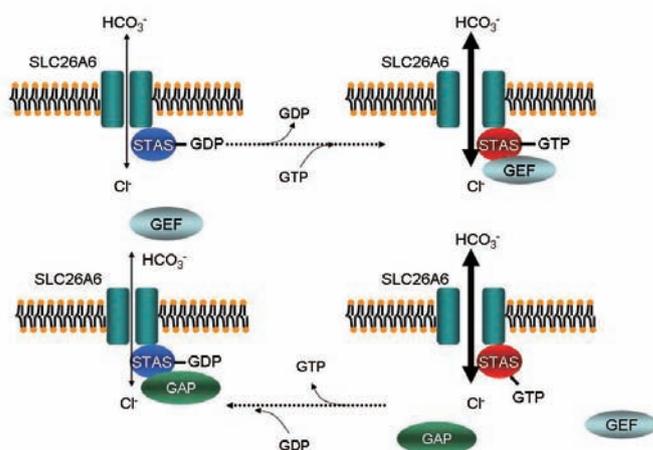


図 8

SLC26A6 STASの機能調節機構-仮説。STASに複数の機能調節蛋白が結合することで、STASと CFTR Rドメインとの膜輸送複合体の機能を調節している可能性がある。今後 STAS結合蛋白の同定、機能解析を継続することで上皮細胞膜における新しいイオン輸送調節メカニズムを明らかにすることを期待している。

参考文献

- 1) Mount DB, Romero MF. The SLC26 gene family of multifunctional anion exchangers. *Pflugers Arch.* 2004; 447(5):710-21. Review.
- 2) Chernova MN, Jiang L, Friedman DJ, Darman RB, Lohi H, Kere J, Vandrope DH, Alper SL. Functional comparison of mouse *slc26a6* anion exchanger with human SLC26A6 polypeptide variants: differences in anion selectivity, regulation, and electrogenicity. *J Biol Chem.* 2005; 280(9):8564-80.
- 3) Everett LA, Green ED. A family of mammalian anion transporters and their involvement in human genetic diseases. *Hum Mol Genet.* 1999; 8(10):1883-91. Review.
- 4) Ohana E, Yang D, Shcheynikov N, Muallem S. Diverse transport modes by the solute carrier 26 family of anion transporters. *J Physiol.* 2009; 587:2179-85. Review.
- 5) Höglund P, Haila S, Socha J, Tomaszewski L, Saarialho-Kere U, Karjalainen-Lindsberg ML, Airola K, Holmberg C, de la Chapelle A, Kere J. Mutations of the Down-regulated in adenoma (DRA) gene cause congenital chloride diarrhoea. *Nat Genet.* 1996; 14(3):316-9.
- 6) Everett LA, Glaser B, Beck JC, Idol JR, Buchs A, Heyman M, Adawi F, Hazani E, Nassir E, Baxevanis AD, Sheffield VC, Green ED. Pendred syndrome is caused by mutations in a putative sulphate transporter gene (PDS). *Nat Genet.* 1997; 17(4):411-22.
- 7) Lohi H, Kujala M, Makela S, Lehtonen E, Kestila M, Saarialho-Kere U, Markovich D, Kere J. Functional characterization of three novel tissue-specific anion exchangers SLC26A7, -A8, and -A9. *J Biol Chem.* 2002; 277(16):14246-54.
- 8) Kim KH, Shcheynikov N, Wang Y, Muallem S. SLC26A7 is a Cl⁻ channel regulated by intracellular pH. *J Biol Chem.* 2005; 280(8):6463-70.
- 9) Dorwart MR, Shcheynikov N, Wang Y, Stippec S, Muallem S. SLC26A9 is a Cl⁻ channel regulated by the WNK kinases. *J Physiol.* 2007; 584:333-45.
- 10) Bertrand CA, Zhang R, Pilewski JM, Frizzell RA. SLC26A9 is a constitutively active, CFTR-regulated anion conductance in human bronchial epithelia. *J Gen Physiol.* 2009; 133(4):421-38.
- 11) Zheng J, Shen W, He DZ, Long KB, Madison LD, Dallos P. Prestin is the motor protein of cochlear outer hair cells. *Nature.* 2000; 405(6783):149-55.
- 12) Chang MH, Plata C, Zandi-Nejad K, Sindić A, Sussman CR, Mercado A, Broumand V, Raghuram V, Mount DB, Romero MF. Slc26a9-anion exchanger, channel and Na⁺ transporter. *J Membr Biol.* 2009; 228(3):125-40.
- 13) Ko SB, Shcheynikov N, Choi JY, Luo X, Ishibashi K, Thomas PJ, Kim JY, Kim KH, Lee MG, Naruse S, Muallem S. A molecular mechanism for aberrant CFTR-dependent HCO₃⁻ transport in cystic fibrosis. *EMBO J.* 2002; 21(21):5662-72.
- 14) Xie Q, Welch R, Mercado A, Romero MF, Mount DB. Molecular characterization of the murine Slc26a6 anion exchanger: functional comparison with Slc26a1. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2002; 283(4):F826-38.
- 15) Chernova MN, Jiang L, Shmukler BE, Schweinfest CW, Blanco P, Freedman SD, Stewart AK, Alper SL. Acute regulation of the SLC26A3 congenital chloride diarrhoea anion exchanger (DRA) expressed in *Xenopus* oocytes. *J Physiol.* 2003; 549:3-19.
- 16) Ko SB, Zeng W, Dorwart MR, Luo X, Kim KH, Millen L, Goto H, Naruse S, Soyombo A, Thomas PJ, Muallem S. Gating of CFTR by the STAS domain of SLC26 transporters. *Nat Cell Biol.* 2004; 6(4):343-50.
- 17) Aravind L, Koonin EV. The STAS domain—a link between anion transporters and antisigma-factor antagonists. *Curr Biol.* 2000; 10(2):R53-5.
- 18) Alvarez BV, Vilas GL, Casey JR. Metabolon disruption: a mechanism that regulates bicarbonate transport. *EMBO J.* 2005; 24(14):2499-511.
- 19) Stragier P, Bonamy C, Karmazyn-Campelli C. Processing of a sporulation sigma factor in *Bacillus subtilis*: how morphological structure could control gene expression. *Cell.* 1988; 52(5):697-704.
- 20) Najafi SM, Willis AC, Yudkin MD. Site of phosphorylation of SpoIIAA, the anti-anti-sigma factor for sporulation-specific sigma F of *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol.* 1995; 177:2912-3.
- 21) Najafi SM, Harris DA, Yudkin MD. The SpoIIAA protein of *Bacillus subtilis* has GTP-binding properties. *J Bacteriol.* 1996; 178:6632-4.

編集後記

平成21年度は、本特定領域研究5年目の最終年度です。7～8月、京都で国際生理学会が開催され、本領域の多くの皆さんが世界のトップランナーとして参加され、活発な議論を展開されました。熊本では、中西宏之先生のご尽力により本年度第1回目の班会議が開催され、多くの研究成果が報告されました。このような熱い夏を経て、実り多き秋、学会シーズンを迎えております。金井領域代表のリーダーシップの下、班員間の交流は深まり、次々と質の高い研究成果が出ています。新しく研究室をもたれた方々もおられます。班員の皆様の宣伝と交流の場を提供するTRANSPORTSOME本号は、この熱い思いと希望、そして実りをお届けします。最後にご多忙の折、執筆して頂きました方々に心より御礼申し上げます。(仁科)

TRANSPORTSOME

第10号(2009年12月発行)

編集人: 仁科 博史、畑 裕、古川 哲史

発行人: 金井 好克

発行所: 特定領域研究「生体膜トランスポートソームの分子構築と生理機能」事務局

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-2 大阪大学大学院医学系研究科生体システム薬理学教室内

Tel: 06-6879-3521

Fax: 06-6879-3529

E-mail: transportsome@pharma1.med.osaka-u.ac.jp

URL: <http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/pharma1/transportsome/top.html>

印刷:(有)レイ・プリンティング

