

バックグラウンドからフォアフロントへ： 細胞生死と生体恒常性に関わるセンサーチャネル（後編その2）

総合研究大学院大学 岡田 泰伸

体液の恒常性の維持は、体液 NaCl と体液量の制御・維持ばかりでなく、体液の浸透圧の制御・維持によっても行われている(図 8C)。後者過程において中心的に働くのは、脳のオスモセンサー領域である視索上核 (SON) や室傍核 (PVN) に存在するアルギニンバソプレシン (AVP) とオキシトシン (OXT) を産生・分泌する AVP ニューロンと OXT ニューロンである。両ニューロンは、SON や PVN から下垂体後葉 (PP) に軸索を投射して、その終末部から AVP と OXT を血中へと分泌する(図 9)。そのようにして体循環に入って AVP は、主として腎臓の集合管での水の再吸収の亢進(アクアポリンの形質膜挿入)をもたらしことによって、体液浸透圧の調節を行っており、OXT は脳と骨に働いて、食塩摂取減少と骨 Na 蓄積増加をもたらし体液浸透圧調節に関与している(図 8C)。血中 AVP/OXT は心臓・血管系、乳腺、子宮などの種々の臓器に働いて、血圧上昇、乳汁分泌、分娩誘起などにも関わっている(図 9)。更に、AVP と OXT は、下垂体後葉部軸索終末からばかりでなく、それらの産生ニューロンの細胞体・樹状突起から視床下部内へも分泌され、更にはその他の脳部位へと投射された軸索終末からそれらの領域へも分泌されて、社会行動、父性/母性行動、摂食抑制、記憶、認知機能、精神発達や不安/抗不安などの精神状態の制御にも関与することが知られはじめている(図 9)。これらの分泌は、体液浸透圧のごくわずか(±1% 程度)の変化を検知して行われており、その検知に関与するのが両ニューロンの細胞膜上にある“浸透圧”センサーであると考えられている。しかし、その本体については、既に教科書の定説ともなっている有力な仮説(後述)はあるが、未だ検証に成功されてお

らず、その真偽のほどは定かとは言えない。そこで私達は、そこには膜圧センサーチャネルが関与するに違いないと考え、佐藤かお理君が中心となって、AVP ニューロンの“浸透圧”センサーメカニズムの再検討に乗り出すことにした。その研究は、すべて上田陽一先生(産業医大教授)との共同で進められ、そこではこれまでの AVP ニューロンと OXT ニューロンが区別なしに用いられてきた難点を排除するために、上田先生が開発された AVP ニューロンのみを選択的に GFP 蛍光ラベルしたトランスジェニックラット (Endocrinology 2005) を用いた。その結果、驚くべきことに、これまでの定説の多くは全く正しいものとは言えないことが判明したのである。[教訓その 28: 古いパラダイムは、いかに堅牢といえども、新しい武器と新しい仮説によって打ち破られ、その 1 つ 1 つの戦いによって新しいパラダイムの登場が用意される。]

V. 脳オスモセンサーによるバソプレシン分泌制御の膜圧センサーチャネルメカニズム

AVP ニューロンと OXT ニューロンを区別せずに、大細胞性ニューロンとして一括して調べられてきたこれまでの研究によって立てられた、脳オスモセンサーニューロンによる浸透圧感受的 AVP/OXT 分泌メカニズムに関する定説は、次の 3 点に要約される。第 1 に、オスモセンサーニューロンは、その浸透圧検知シグナルを有効に伝達するために、(RVI や RVD などの)細胞容積調節能(図 1 参照)を持っておらず、高浸透圧時には浸透圧性細胞縮小が、そして低浸透圧時には浸透圧性細胞膨張が維持されたままになるという Bourque らの“オスモセンサーニューロン容積調節能

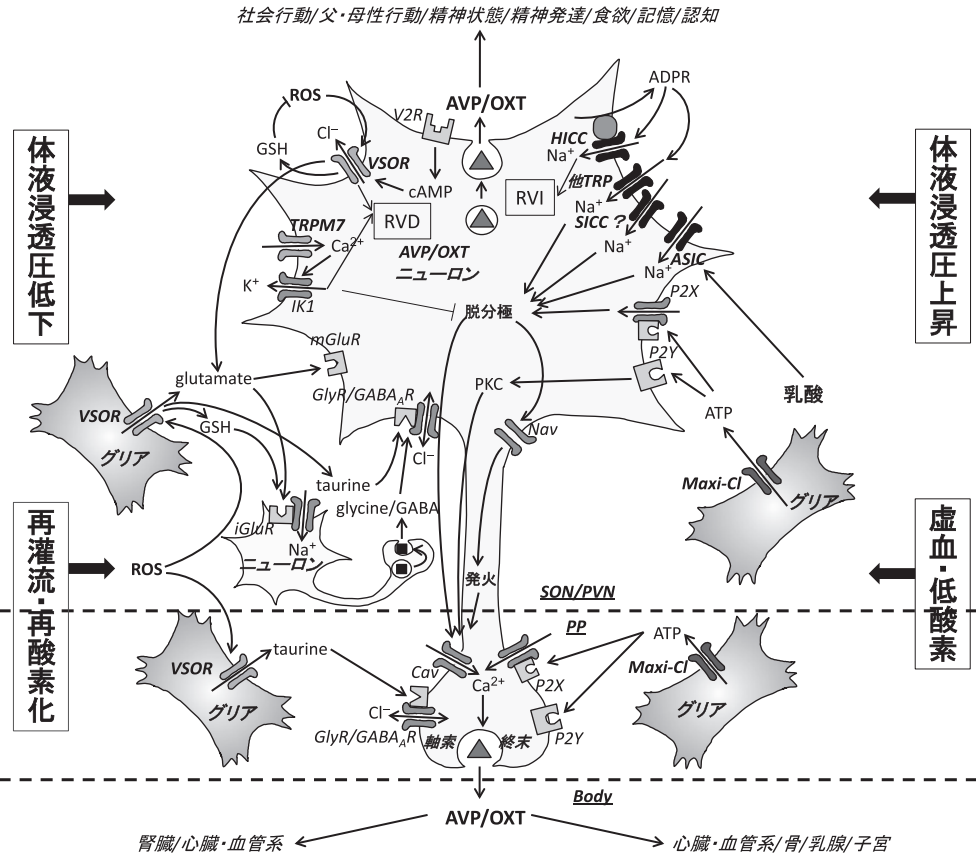


図9. 膜圧センサーチャネルによる AVP/OXT 分泌制御と生体恒常性維持 (作業仮説). 体液浸透圧上昇, 体液浸透圧低下, 虚血・低酸素, 再灌流・再酸素化などの外的刺激と, それらに応答するチャネル種はそれぞれ色分けされて対応付けられている (オンライン提供カラー図参照). mGluR と iGluR は, それぞれ代謝型, イオンチャネル型のグルタミン酸レセプターを表す. その他の略号は本文参照. (本図は現在の作業仮説であるが, 解明が進んだ暁には, 実際はもっと面白くて驚くほどに美しいものであるに違いない! [教訓その9: 参照].)

欠失説”である (Nature Neurosci 2003). 第2に, オスモセンサーニューロン膜には stretch-inactivated cation channel (SICC) とよばれる細胞膜伸展によって不活性化されるカチオンチャネルがあり (図9 参照), これが浸透圧センサーとしての役割を果たし, 体液浸透圧増加時にはオスモセンサーニューロンの脱分極を亢進して (電位作動性 Na^+ チャネル (Nav) 活性化によって) 興奮性を高めて, (軸索終末近傍の電位作動性 Ca^{2+} チャネル (Cav) の活性化からエキソサイトーシスの亢進をもたらして) AVP/OXT 分泌を刺激し, 逆に体液浸透圧減少時 (即ち, 細胞膜伸展時) には脱分

極が消失して分泌を抑制するという Bourque らの “SICC 誘導性脱分極説” である (Nature 1993; TINS 2009). そして, マウスの SON や PVN にも, またそこにいる AVP ニューロンにも N 末端領域にカプサイシン結合サイトを持った野生型の TRPV1 は発現せず, かわりにカプサイシン結合サイトを欠失した N 末端変異型 TRPV1 が発現しており, それこそが SICC の分子実体であると Bourque らは主張している (Nature Neurosci 2006). 第3に, 体液浸透圧減少時には, オスモセンサー周囲のグリア細胞 (SON のアストロサイト, PP のピチュイサイト) が浸透圧性膨張を示す

ことによってタウリンを分泌し、このタウリンがオスモセンサーニューロンのグリシンレセプター・アニオンチャネル (GyR) を活性化して (主として過分極をもたらして)、興奮性を鎮めて AVP/OXT 分泌を抑制するという Hussy らの“グリア放出タウリン誘導性過分極説”である (J Physiol 1997; 1998; 2003). そして、ここでタウリンの放出経路は、グリア細胞の swelling-activated anion channel (即ち VSOR) であると想定されている (図 9 参照). しかしながら、これらの教科書定説は、少なくともラット AVP ニューロンの場合には、あてはまらない. まず第 1 に、浸透圧膨張後の AVP ニューロンは立派に RVD 能を示し [98], 浸透圧性縮小後においても RVI を (見かけ上は示さないように見えるが、条件を選べば) 示すことができることを明らかにしており [99], AVP ニューロンについては“オスモセンサーニューロン容積調節能欠失説”は成立しない. また Bourque らは、SON のオスモセンサーニューロンには、VSOR 活性そのものが欠失 (それゆえに RVD も欠失) していると報告した (J Neurosci 2012) が、実際にはラット AVP ニューロンには高い VSOR 活性が見られた [98]. 第 2 に、SICC そのものが実際に存在するという他グループからの追試報告は未だなく、私達も AVP ニューロンにパッチクランプ法を適用して追試を行ったが、どうしても確認できなかった (佐藤・岡田, 未発表). 更には、組織レベルおよび単一細胞レベルにおける RT-PCR によって、野生型の TRPV1 の遺伝子が SON 領野のみならず、そこにある AVP ニューロンにも発現していることを佐藤君はラットで確認している [100]. 加えて、TRPV1 のカプサイシン結合サイトは、その N 末端領域ではなく、他の領域に存在するものと現在では一般に考えられている (富永真琴先生: 私信). 以上の事実は、“SICC 誘導性脱分極説”の前提そのものが成立しないことを示唆している. 第 3 に、私達も低浸透圧負荷時に SON のアストロサイトから実際にタウリンが放出され、その放出はエキソサイトーシスによるものではなく、VSOR を介して行われるものであることを確認したが [80], このタウリンによる AVP ニューロンの GlyR 刺激は過分極をもたらさず、逆に脱分極をもたらすことが

判明した [80]. この事実は、“グリア放出タウリン誘導性過分極説”もまた見直されるべきものであることを示している. [教訓その 29: 教科書の定説については、それこそをも疑うべきものと教えるべし.]

では、高浸透圧センサーは何か? SICC である可能性は、もはや一般論としてはありえないが、特殊 OXT ニューロンの場合における可能性は (まだ誰も調べていないので) 残っている. OXT ニューロンのみを CFP で蛍光ラベルしたトランスジェニックラットが上田陽一先生によって開発されている (J Endocrinol 2010) ので、これを用いての今後の研究に期待がかかる (私達自身これも是非手がけたいと望んできたが、実はこの 4 月から学長という立場となり、私自身が主管する形のラボは持てないことになってシマッタ! でも希望は捨ててはいない!). しかし、前述したように、殆どの細胞で発現している高浸透圧下の細胞縮小時に活性化される膜圧センサーカチオンチャネルとしては、TRPM2ΔC+CD38 が分子実体 [82] の HICC がある. それゆえ、オスモセンサーニューロンの高浸透圧センサーもまた、この HICC である可能性がある (図 9). そして、この HICC の活性化によって ADP リボース (ADPR) が放出されるので、野生型 TRPM2 がこの ADPR によって活性化される可能性もある. 更には、前述したように野生型 TRPV1 の発現が私達によって確認されているので、これが関与する可能性もあり、これも含めて他の TRP ファミリーメンバーの関与についても検討する必要がある (図 9). 加えて、TRP 以外にも、酸によって活性化されるカチオンチャネルである ASIC が関与する可能性が、上田陽一先生のグループが中心となって行った研究によって明らかにされている [101]. 虚血・低酸素条件下や、おそらく高浸透圧条件下においても産生が増加する乳酸が、ASIC を活性化するからである (図 9). 一方、虚血・低酸素条件下においては、脳グリアから ATP が種々のルート [62, 91] を介して放出されるが、このうちでもっとも主たるルートは膜圧センサーアニオンチャネルの Maxi-Cl であることを私達は明らかにしている [70]. 細胞外に放出された ATP は、P2 レセプター (P2X, P2Y) の刺激を介して、PP での AVP 分泌を亢進するこ

とが報告されている (Prog Brain Res 2008 Sladek と Song ; J Cell Physiol 2013 Cuadra ら) ので, 虚血・低酸素条件下における AVP 分泌変化には, Maxi-Cl 活性変化が寄与する可能性がある (図 9). 一方, 低浸透圧センサーの本体として最も可能性の高いのは, もう 1 つの膜圧センサーアニオンチャンネルの VSOR であろう. VSOR は SON や PVN や PP のアストロサイト膜上で活性化されることで, タウリンを放出する. VSOR はアストロサイトのみならず AVP ニューロン膜上でも活性化されて, 本ニューロンの RVD を (おそらく TRPM7 [29, 102] などの Ca^{2+} 透過性チャンネルや IK1 [24, 103] などの K^{+} チャンネルとの協働によって) 実現させる [98]. VSOR 活性化は, 膜電位を Cl^{-} 平衡電位へとシフトさせる (過分極か脱分極かは細胞内 Cl^{-} レベルによる) と共に, タウリンばかりでなくグルタミン酸や GSH の細胞外放出をもたらすので, タウリンによる GlyR や GABA_A レセプター (GABA_AR) の活性化, グルタミン酸や GSH によるグルタミン酸レセプター (GluR) の活性化を次々と引き起こすにちがいない (図 9). 虚血・低酸素負荷後の再灌流・再酸素化は, 活性酸素種 (ROS) の発生を著しくもたらす (例えば [104] 参照) ので, ROS によっても活性化される VSOR [32] を開口して, AVP 分泌に影響を与える可能性がある. AVP は, 軸索終末から PP や他脳領域へと分泌されるばかりでなく, 細胞体・樹状突起から SON や PVN 内へも分泌されるので, AVP ニューロン自身やその周囲のアストロサイトに発現している AVP レセプターをオートクリンの・パラクリンのに刺激して, AVP 分泌へフィードバック的制御をする可能性 (例えば [98] 参照) がある. OXT 分泌については, 未だ詳しい情報が不足しているが, AVP 分泌と同様に種々の膜圧センサーチャンネルとそれらから放出されたオーガニックシグナルの働き (図 6 参照) が, その浸透圧依存的分泌の制御に相乗的に関与しているものと推定される (図 9). 即ち, 体液の浸透圧変化の検知は, オスモセンサーニューロンとその近傍のグリ

ア細胞の容積変化として, その細胞膜上にある膜圧センサーチャンネルによって検知されている. そして, 体液浸透圧の調節・制御は, 膜圧センサーチャンネル活性による膜電位変化のみならず, それらによって放出される種々のオーガニックシグナルによるレセプター刺激によっても実現されている. 生理学研究においては, センサー分子とシグナル分子システムと生体全体の反応は, 一つ一つが正確に理解される必要があると共に, 統一的にも捉えられなければならない. そして, たった一つの過ちが, 全体の理解をも過ちへと導くことになることに注意しなければならない. [教訓その 30: 森を見て木と葉を見よ. そして, 葉を見て木と森を見よ.] (つづく)

文 献

98. Sato K, Numata T, Saito T, Ueta Y & Okada Y: V₂ receptor-mediated autocrine role of somatodendritic release of AVP in rat vasopressin neurons under hypo-osmotic conditions. *Sci Signal* **4**: ra5, 2011
99. Sato-Numata K, Ueta Y & Okada Y: AVP neurons possess the cell volume regulation mechanism under hyperosmotic conditions. *J Physiol Sci* **64** (Suppl 1): S213, 2014
100. Okada Y & Sato-Numata K: Correlation between the mechanisms for cell volume regulation and for body fluid osmolarity control. *J Physiol Sci* **64** (Suppl 1): S66, 2014
101. Ohbuchi T, Sato K, Suzuki H, Okada Y, Dayanithi G, Murphy D & Ueta Y: Acid-sensing ion channels in rat hypothalamic vasopressin neurons of the supraoptic nucleus. *J Physiol* **588**: 2147-2162, 2010
102. Numata T, Shimizu T & Okada Y: Direct mechanostress sensitivity of TRPM7 channel. *Cell Physiol Biochem* **19**: 1-8, 2007
103. Okada Y & Hazama A: Cytosolic Ca^{2+} activates volume-regulatory K^{+} channels but not Cl^{-} channels in cultured epithelial cells exposed to a hypotonic solution. *Biomed Res* **9** (Suppl. 2): 161-165, 1988
104. Wang X, Takahashi N, Uramoto H & Okada Y: Chloride channel inhibition prevents ROS-dependent apoptosis induced by ischemia-reperfusion in mouse cardiomyocytes. *Cell Physiol Biochem* **16**: 147-154, 2005