胃壁細胞における胃酸分泌の分子基盤

浅野真司

立命館大学 薬学部

〒525-8577 滋賀県草津市野路東 1-1-1

Molecular Basis of Gastric Acid Secretion in Parietal Cells

Shinji Asano

College of Pharmaceutical Sciences, Ritsumeikan University

1-1-1, Noji-Higashi, Kusatsu-city, Shiga 525-8577, Japan

Gastric acid secretion in parietal cells is performed by proton pump, H^+ , K^+ -ATPase, in combination with several related ion transporters located on the apical and basolateral membranes. In this review I will introduce several recent topics about molecular basis of gastric acid secretion in parietal cells. First, I wish to introduce 3D structures of H^+ , K^+ -ATPase resolved recently. The structures demonstrated the interaction between the α - and β -subunits fixes and favors the E2P conformation (the “ratchet effect”). The binding site of a K^+ -competitive inhibitor SCH 28080 on the α -subunit of H^+ , K^+ -ATPase was also identified in the 3D structure. Secondly, I wish to introduce ion transporters on the apical membrane necessary for gastric acid secretion. Among others KCNQ1/KCNE2 was identified as a K^+ channel involved in K^+ recycling and replenishment of K^+ in the lumen. Thirdly, I wish to introduce actin-binding proteins, ezrin and Huntingtin interacting protein 1 related (Hip1r), which are necessary for gastric acid secretion. Ezrin is involved in membrane fusion between tubulovesicles and apical membrane whereas Hip1r is involved in endocytosis and regeneration of tubulovesicles from apical membrane. Finally, the roles of parietal cells in differentiation of gastric epithelial cells as well as gastric acid secretion will be introduced.

Key words : gastric acid secretion / proton pump / membrane fusion / actin-binding protein

1. はじめに

胃酸の分泌は、胃底腺に存在する胃壁細胞によって行われる。Fig. 1に示すように胃壁細胞内では炭酸脱水酵素の働きによって炭酸ガスと水から炭酸が形成される。炭酸はプロトンと重炭酸イオン (HCO_3^-) とに開裂し、 HCO_3^- は基底側膜に存在する Cl^- / HCO_3^- 輸送体 (AE2) によって血液中に輸送される。一方、プロトンは頂端膜に存在する胃酸分泌プロトンポンプ、 H^+ , K^+ -ATPase によって管腔内へ能動的に

輸送される。これが酸分泌にあたる。最近になって、胃酸分泌プロトンポンプの立体構造が報告され、同じファミリーのATPaseであるSERCA Ca^{2+} -ATPaseや Na^+ , K^+ -ATPaseでは見られない特徴的な構造が明らかになった。本稿では、まずこの点について紹介する。

胃酸分泌プロトンポンプによるプロトン輸送活性は、胃壁細胞に存在するさまざまなイオン輸送体の活性と関連しており、それらによって巧みな機能調節を受ける。その代表的なものが頂端膜に発現する K^+ のリサイクリングに関わる輸送体 (チャネル?) であり、 Cl^- の分泌を行う輸送体 (チャネル?) である。これらの輸送体については胃酸分泌プロトンポンプと比較して特定が遅れていたが、近年、遺伝子

Fig. 1 Gastric acid secretion by parietal cells is performed by the combined operation of gastric proton pump, several ion transporters and carbonic anhydrase. Carbonic anhydrase catalyzes a reaction producing proton and HCO_3^- from water and CO_2 . Proton is actively transported into gastric lumen by gastric proton pump, H^+ , K^+ -ATPase whereas HCO_3^- is transported into blood by a $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ exchanger, AE2. KCNQ1/KCNE2 located on the apical membrane is involved in replenishment of K^+ in the lumen. Cl^- channel(s) or transporter(s) on the apical membrane are also involved in gastric acid secretion.

クローニングや、遺伝子改変動物のフェノタイプ解析などによって同定が進みつつある。この点についても最近の研究の動向を紹介する。

胃壁細胞は分泌刺激を受けると、細胞内に存在するプロトンポンプを含んだ細管小胞が管腔側膜と融合して微絨毛を発達させて、プロトンポンプによる酸分泌を活性化させる。一方、分泌刺激が除かれると、管腔側膜から細管小胞が再構成されるものと見られる。したがって、胃酸分泌にはアクチン細胞骨格系のダイナミックな再構成を伴い、膜融合やエンドサイトーシスに関わるタンパク質の関与が重要である。本稿では、Huntingtin interacting protein 1 related (Hip1r)とエズリンという2種類のアクチン結合タンパク質の胃酸分泌に対する関与についても紹介する。

また、胃壁細胞は胃酸分泌機能のほかに、胃粘膜を構成する細胞に栄養因子を分泌して分化を促し、胃粘膜の組織構築に働くことが知られている。本稿の最後では、この点についても紹介したい。

2. 胃酸分泌プロトンポンプ

2.1 胃酸分泌プロトンポンプの基本的な構造

胃酸分泌プロトンポンプは前述のように H^+ , K^+ -

ATPaseとも呼ばれ、ATPの加水分解のエネルギーを利用して、細胞外（管腔内）の K^+ を細胞内に輸送するのと交換に胃壁細胞内のプロトンを管腔内へと分泌して100万倍以上のプロトンの濃度勾配を形成する。プロトンポンプによるATPの加水分解時には、ATP結合ポケットに存在するアスパラギン酸残基がリン酸化されて安定なアシルリン酸中間体（EPと呼ばれる）が形成されることから、同様なEP中間体を形成する膜輸送ATPaseとともにP-type ATPaseと総称されている。

プロトンポンプは触媒サブユニットである α 鎖（ATP4A）と、非触媒サブユニットである β 鎖（ATP4B）から構成される。 α 鎖は分子量がおよそ110 kDaの膜10回貫通型のタンパク質で、ATPの結合部位、リン酸化部位、イオンの結合部位のほか、消化性潰瘍や逆流性食道炎の治療剤として用いられているプロトンポンプ阻害剤の結合部位を含む。 α 鎖の一次構造は Na^+ , K^+ -ATPaseの α 鎖や、骨格筋などに存在するSERCAなどと高い相同性を持つ。一方、 β 鎖はタンパク質部分の分子量が33 kDaで、N末端の約32アミノ酸残基を細胞質内にもつ膜1回貫通型のタンパク質であり、細胞外には3つのジスルフィド結合と、6～7本の糖鎖を含む。 β 鎖は H^+ , K^+ -ATPaseと Na^+ , K^+ -ATPaseのファミリーのみに特徴的に見られるサブユニットで、 α 鎖の細胞表面への輸送や、膜中での安定化に働くことが知られている。プロトンポンプは膜中で複数の α 鎖、 β 鎖からなるヘテロオリゴマー構造をとって機能を発揮する^{1,2)}。

2.2 胃酸分泌プロトンポンプの反応機構

胃酸分泌プロトンポンプはATPを加水分解してプロトンと K^+ とを能動輸送する過程でいくつかの異なるコンホメーションをとり、Fig. 2に示すような反応スキームとして表わされる。その概要は以下の通りである。（1）酵素（プロトンポンプ）（図中でEとして表現する）が細胞内のATP、プロトンと反応して E1-ATP-H^+ を形成する。（2）ATPのリン酸基を受容してリン酸化中間体 E1P-H^+ に変化する。（3）プロトンを細胞質側から管腔側に輸送して、 E1P-H^+ から E2P-H^+ に変化する。（4） E2P-H^+ が管腔側にプロトンを遊離して、 E2P-H^+ へとコンホメーション変化する。（5） E2P が管腔内の K^+ と反応して、脱リン酸化を受けて E2K^+ へと変化する。（6） E2K^+ が K^+ を管腔側から細胞質に輸送して、もとの E1 へとコンホメーション変化する（図中では、 E2K^+ がATPと反応して E1-ATP が形成される）。ここでの E1 コンホメーションとは、イオンの結合部位を細胞質側に向けて開き、プロトンに対して高い親和性を示す構造を、 E_2

Fig. 2 Reaction cycle of gastric proton pump, H^+ , K^+ -ATPase.

In this reaction cycle, EPs represent phosphorylated intermediates of H^+ , K^+ -ATPase. E1 and E2 represent enzymes with the ion-binding site facing to the cytoplasmic or luminal side, respectively. It is noteworthy that the reaction(s) from $E1P-H^+$ to $E2P$ of the gastric H^+ , K^+ -ATPase are almost irreversible.

コンホメーションとは、イオンの結合部位を管腔側に向けて開き、 K^+ に対して高い親和性を示す構造をいう。これらの各過程の反応は基本的に可逆的な反応であるが、プロトンポンプは $E1P-H^+$ と $E2P$ との平衡が著しく $E2P$ に偏るといふ他に見られない特性をもち、逆反応による $E1P-H^+$ の形成はほとんど起こらない。このことが管腔側から細胞質側へのプロトンの逆流を阻止するものと思われたが、こうしたことを可能にしている反応機構については知られていなかった。

2.3 胃酸分泌プロトンポンプの立体構造

胃酸分泌プロトンポンプの α 鎖は、前述のようにSERCAや Na^+ , K^+ -ATPaseの α 鎖と高い相同性を持ち、ATP結合部位やアシルリン酸化部位を形成するアミノ酸はよく保存され、膜貫通ドメインに存在するイオン結合部位を構成するアミノ酸も保存されたものが多い。そうしたことから、プロトンポンプの構造と機能との関連は、プロトンポンプでの部位特異的な変異導入法による実験結果を、東京大学の豊島教授のグループなどが発表したSERCAの結晶構造^{3~7)}（あるいは、最近になって発表された Na^+ , K^+ -ATPaseの結晶構造^{8, 9)}）を基にしたホモロジーモデリングによる仮想の構造上で検証する形で研究されてきた。その結果、プロトンポンプの α 鎖の細胞質構造が、N (Nucleotide-binding) ドメイン、P (Phosphorylation) ドメイン、A (Actuator) ドメインという三つのドメインからなり、反応過程でこれら

のドメインの位置関係が大きく変化すること。4, 5, 6, 8番目の膜貫通領域に存在するおもに酸性のアミノ酸 (Asp, Glu) の側鎖や、極性アミノ酸側鎖、4番目の膜貫通領域に存在する酸性アミノ酸残基 (Glu) 近傍のアミノ酸の主鎖が K^+ を結合することなどが明らかになった^{1, 10, 11)}。しかしながら、ホモロジーモデリングでは、胃酸分泌プロトンポンプについての固有な反応特性、例えば100万倍近いプロトンの濃度勾配を作りながらプロトンの逆流を阻止できる機構や、プロトンがどのような形で輸送されるのか (H^+ としてか、あるいは H_3O^+ としてか) などについては不明のままであった。

最近になって京都大学の阿部博士らはブタの胃粘膜から精製したプロトンポンプの二次元結晶の電子顕微鏡解析によって、6.5 Åの分解能で $E2P$ コンホメーションを、7 Åの分解能でプロトンポンプの阻害剤であるSCH 28080結合型の $E2P^*$ コンホメーション (阻害剤が存在しない条件下で見られる $E2P$ コンホメーションとは異なるため、 $E2P^*$ コンホメーションと命名した) の立体構造を明らかにした^{12, 13)}。プロトンポンプの立体構造は、ホモロジーモデリングによって予想されたとおり、細胞質側に α 鎖のNドメイン、Pドメイン、Aドメインを含み、膜貫通ヘリックスとして α 鎖の10本、 β 鎖の1本のヘリックスが確認された。 $E2P$ コンホメーションでは、触媒機能を担う α 鎖の立体構造に加えて、新たに非触媒サブユニットである β 鎖が α 鎖と相互作用して酵素活性を制御することが示された。即ち細胞質中に存在する β 鎖のN末端領域が α 鎖のPドメインと反応して、酵素を $E2P$ コンホメーションとして係留することによって、 $E2P$ コンホメーションから $E1P$ コンホメーションへの逆反応を妨げるものと見られた。実際に β 鎖のN末端から8残基以上欠損させた変異体を発現させると、Pドメインの自由度が上昇し $E2P$ コンホメーションから $E1P$ コンホメーションへの逆反応が進行することが示された。こうした実験事実をもとに阿部博士らは、この現象をプロトンポンプの「ラチェット機構」と呼び、プロトンポンプが100万倍ものプロトン濃度勾配を効率よく形成し、逆反応によるプロトンの逆流を起こさない為に備わった機構であるとしている¹²⁾。

また、SCH 28080結合型の $E2P^*$ コンホメーションでは、これまでに部位特異的な変異導入実験等でSCH 28080との反応に関わると報告されていた α 鎖の4, 5, 6番目の膜貫通領域のアミノ酸残基 (F332, A335, Y799, L809, C813) に囲まれた構造がSCH 28080結合部位として確認された (C813はオメガラザールなどプロトンポンプ阻害剤の結合部位として

も知られている)。SCH 28080 結合型の E_2P^* コンホメーションでは、SCH 28080 が結合した結果、1~4 番目の膜貫通領域がシフトし、細胞質側の立体構造までも変化させる。その結果、 E_2P^* コンホメーションは E_2P コンホメーションと比較して、より管腔側に開いたコンホメーションをとることが確認された¹³⁾。

また、富山大学の森井教授（現 鈴鹿医療科学大学）らはブタの胃粘膜由来の細管小胞を用いて、130 mM K^+ と K^+ イオノフォアであるバリノマイシンの存在下で、小胞内への安定放射性同位体標識した水 ($[^{18}O]H_2O$) の輸送の測定を行った¹⁴⁾。 $[^{18}O]H_2O$ の小胞内への輸送は MgATP 添加によって活性化され、またプロトンポンプ阻害剤 SCH 28080 によって特異的に阻害された。さらに、加水分解される ATP と輸送される水分子の化学量論比は 1 : 1.8 となり、プロトン輸送に見られる ATP とプロトンとの化学量論比 1 : 2 とよく一致した。以上の結果から、プロトンポンプによって輸送されるプロトンの実体はオキシニウムイオン (H_3O^+) であることが考えられた。この実験結果は、プロトンポンプが ATP の加水分解と共役してプロトンとともに水を輸送することを意味する。生理的には胃酸分泌時に塩酸とともに多量の水が管腔内に分泌されるが、胃壁細胞の管腔膜にはアキアポリン (AQP) が見出されないこと（基底側膜には AQP4 が発現することが確認されている）、また、傍細胞輸送（タイトジャンクションを通した細胞間輸送）による大量の水輸送は考えにくいことから、これまでは水輸送を行う実体は明らかではなかった。プロトンポンプ自体が管腔内に水輸送を行うとすれば、この問題は説明できるのかも知れない。

3. 胃酸分泌プロトンポンプと膜輸送タンパク質との機能連関

3.1 K^+ のリサイクリングを行う輸送体

胃酸分泌プロトンポンプはプロトンと K^+ とを対抗輸送することから、プロトンポンプによるプロトン輸送、即ち酸分泌が持続的に行われるためには、管腔内への K^+ の供給が必要であり、 K^+ の供給の割合によって胃酸分泌活性は制御されることになる (Fig. 3)。管腔内への K^+ の供給（細胞内から管腔内への外向きの K^+ の動き：プロトンポンプが輸送した K^+ のリサイクリング）を補償する K^+ チャネルとして KCNQ1 と、内向き整流性の K^+ チャネル Kir4.1 (KCNJ10) などが考えられてきた。最近になってハノーバー大学の Song らは KCNQ1, Kir4.1 それぞれのノックアウトマウスを用いて、両者の生理的な機能を比較する興味深い

Fig. 3 Functional interaction between gastric proton pump and K^+ channel (or transporter) on apical membrane.

Gastric proton pump actively exchanges intracellular proton with K^+ in gastric lumen. In this process, the activity of proton pump is regulated by the K^+ channel. When the K^+ channel is absent on the apical membrane, or inhibited by its inhibitor, chromanol 293, luminal K^+ is not replenished resulting in decrease in the proton pump activity (resting condition shown on the left side). When the K^+ channel is present and active on the apical membrane, luminal K^+ is replenished resulting in increase in the proton pump activity (stimulated condition shown on the right side).

研究成果を報告した^{15, 16)}。KCNQ1 は元々、心室性の不整脈を引き起こす家族性の QT 延長症候群の原因遺伝子として見出された膜 6 回貫通型の電位依存性の K^+ チャネルである。KCNQ1 は、会合する膜 1 回貫通型の補助サブユニット KCNE の種類によってチャネル特性を変えるが、胃壁細胞では KCNE2 と会合した形で管腔側膜に存在しており、KCNQ1/ KCNE2 が K^+ を細胞外へとリサイクルすることによって、プロトンポンプの機能を活性化するものと考えられた。実際に、KCNQ1 に対する特異的な阻害剤である chromanol 293 で処理すると胃酸の分泌は完全に阻害される¹⁷⁾。KCNQ1 に対するノックアウトマウスでは、胃壁細胞数やプロトンポンプの発現には変化が見られないが、胃酸分泌刺激を加えない基礎的な酸分泌も、アデニル酸シクラーゼの活性化剤であるフォルスコリン刺激による酸分泌亢進も傷害された。

一方、管腔側に saline (154 mM Na^+) に替えて 154 mM K^+ を補充すると酸分泌の回復が観察された¹⁵⁾。以上の結果から、KCNQ1 はプロトンポンプの活性に必要な K^+ を管腔側に補充、リサイクルする K^+ チャネルであると考えられた。このことは、KCNQ1 の補助サブユニットである KCNE2 に対するノックアウトマウスでも胃酸分泌傷害がおこることによって裏付けられる¹⁸⁾。

胃壁細胞において K^+ のリサイクリングを行う K^+ チ

チャネルの候補としては、KCNQ1とは別にKir4.1がある。Kir4.1は休止状態の細管小胞、胃酸分泌刺激状態の管腔側膜において胃酸分泌プロトンポンプと共局在すること、胃酸分泌プロトンポンプと免疫共沈殿されることから、プロトンポンプの機能を調節するチャネルであることが予想された¹⁹⁾。Kir4.1に対するノックアウトマウスは胎生致死になることなく誕生するが、ホモマウスは神経系に異常を生じ、生後2週間以内に完全に死滅することから、成熟したマウスを用いてフェノタイプを解析することはできなかった。Songらは7～8日齢のマウスの胃粘膜を用いて実験を行った。Kir4.1のノックアウトマウスの胃酸分泌におけるフェノタイプは予想に反してKCNQ1のノックアウトマウスのものと大きく異なり、胃酸分泌の障害ではなく、むしろ亢進が観察された。基礎的な酸分泌は野生型と同等であったが、フォルスコリン刺激下では野生型と比較して酸分泌速度の上昇、分泌量の増加が観察された。一方、管腔側にsalineに替えて154 mM K⁺を用いても酸分泌の活性化は観察されなかった。胃粘膜における胃壁細胞の数には変化が見られないものの、mRNA、タンパク質レベルでプロトンポンプの発現上昇が観察された。更に興味深いことに胃壁細胞を電子顕微鏡で観察すると、酸分泌刺激を加えない条件下においてすでに細管小胞が著明に減少し、管腔膜に微絨毛の発達が認められ、酸分泌刺激状態に近い形態が観察された。こうした事実からKir4.1は、胃壁細胞が刺激状態から休止状態へと戻る際に、エンドサイトーシスによって管腔膜から細管小胞が再形成される段階に働くことが考えられた。また、Kir4.1は、K⁺のリサイクリングに働きプロトンポンプを活性化させる方向に働くのではなく、KCNQ1/KCNE2チャネルによる管腔へのK⁺のリサイクリングと、プロトンポンプによる管腔からのK⁺の吸収との間で調節的に作用を行い、細胞からのK⁺の過剰な喪失を抑えてプロトンポンプに対して負の抑制をかけるチャネルであることが明らかになった¹⁶⁾。

富山大学の藤井博士らはK⁺チャネルとは別にK⁺-Cl⁻共輸送体KCCのメンバーであるKCC4が胃酸分泌に関わることを報告した²⁰⁾。KCC4は胃壁細胞に発現するが、細管小胞には存在せず、管腔側膜で胃酸分泌プロトンポンプと会合する形で発現する。管腔側膜由来の小胞 (stimulation-associated vesicles) を用いた実験では、プロトンポンプ阻害剤SCH 28080によってKCC4によるCl⁻輸送が阻害される。同様にKCC4阻害剤DIOAによってプロトンポンプ活性が阻害される。また、HEK293細胞では、プロトンポンプにKCC4を共発現させると、細胞のプロトン

輸送活性が亢進する。こうした事実から、KCC4は管腔側膜で胃酸分泌プロトンポンプと物理的に会合、機能連関して管腔内へのK⁺のリサイクリング、Cl⁻の分泌に働くものと考えられる。KCC4のノックアウトマウスについては聴覚障害や腎臓でのアシドーシスが報告されているが、残念ながら胃酸分泌に関わるフェノタイプについては報告がない²¹⁾。

3.2 Cl⁻の分泌を行う輸送体

プロトンポンプと協調的に働いて塩酸分泌を行う外向きのCl⁻の動きも必要となる。Cl⁻の分泌を行うCl⁻チャネルの候補としてSLC26A9, parchorin (CLIC-6), CFTRなどが胃壁細胞に見出されている。SLC26ファミリーのタンパク質はCl⁻/HCO₃⁻交換輸送体として、またはCl⁻チャネル (またはアニオンチャネル) として働く。SLC26A9はアフリカツメガエルの卵母細胞に発現させるとCl⁻チャネル活性を、培養細胞に発現させるとCl⁻/HCO₃⁻交換輸送活性を示す。SLC26A9は表面上皮細胞の管腔側膜に発現するほか、胃壁細胞の細管小胞にも発現する。SLC26A9のノックアウトマウスでは、胃酸分泌はほぼ完全に消失する。胃腺中の壁細胞と主細胞の数が減少するほか、壁細胞内の細管小胞が消失する。こうした事実から、SLC26A9は胃壁細胞で細管小胞や分泌膜系を安定化させること、あるいはCl⁻分泌に関わると思われる²²⁾。

Parchorinは胃壁細胞で酸分泌刺激にともなってリン酸化を受ける分子量120 kDaのタンパク質として見出されたもので (胃壁細胞 parietal cells, 脈絡叢 choroid plexusに見られたことからParchorinと命名された²³⁾、細胞内Cl⁻チャネル (CLIC) ファミリータンパク質に相同性を示すことからCLIC-6と命名された。CLIC-6はLLC-PK1培養細胞などに発現させるとCl⁻透過性が発現することから、Cl⁻チャネルとみられるが、休止状態の胃壁細胞では細胞質ゾルに存在し、酸分泌刺激にともなって管腔側膜に移動するという他のチャネルでは見られない興味深い特性をもつ^{24, 25)}。胃酸分泌に関わってCl⁻分泌や水輸送に関わるものと考えられているが、その実態は明らかではない。

胃酸分泌時のpH 0.8に対応する塩酸の濃度は160 mMとなる。Cl⁻輸送はチャネルを介した受動輸送によって行えるのであろうか。藤井博士らはKCC4によるK⁺輸送に駆動される形でのCl⁻分泌の可能性を提唱している²⁰⁾。このように胃酸分泌に直接に関わるCl⁻輸送体の実体は、K⁺のリサイクリングを行う輸送体としてのKCNQ1/KCNE2ほどには明らかになっていない。

4. 胃酸分泌におけるアクチン結合タンパク質の働き

胃壁細胞は、分泌刺激によって大きな構造変化を見せる。即ち、休止状態では分泌管腔の表面積は小さく、細胞内に多数の細管小胞が認められる。胃酸分泌プロトンポンプの大部分は胃壁細胞内の閉じた細管小胞上に存在して活動を休止している。これに対して、胃壁細胞を酸分泌刺激剤であるヒスタミンで処理すると、細管小胞が管腔側膜と融合して、分泌管腔に微絨毛が発達して表面積を増大させる。この過程でプロトンポンプは管腔側膜表面に移動し、 K^+ のリサイクリングに働く K^+ チャネルなどと機能連関してプロトンポンプとしての活動を行う^{26, 27)}。最近、胃壁細胞における膜融合の分子機構が明らかにされつつある。本稿では、アクチン結合タンパク質であるHip1rタンパク質とエズリンの遺伝子改変マウスのフェノタイプを紹介し、これらのタンパク質の胃酸分泌や胃粘膜構築に対する機能について考察する。

Hip1rは細胞内での小胞輸送にかかわるタンパク質で、F-アクチン、クラスリンと結合することによって両者をクロスリンクする働きをもつ。また、Hip1rタンパク質は胃に高発現し、とりわけ胃壁細胞の管腔側膜に発現してF-アクチンと共局在する。Hip1rノックアウトマウスでは管腔側膜が発達する一方で、細管小胞が見られなくなる。細胞レベルでは胃酸分泌が亢進された状況と近くなる。他方、組織レベルではアポトーシスが亢進し胃壁細胞数が減少して胃内酸性度の低下が観察される。また、ガストリン濃度が上昇し粘膜表層細胞の過形成が観察される²⁸⁾。

他方、エズリンはN-末端側で細胞膜に存在するタンパク質や足場タンパク質と、C-末端側でF-アクチンと結合することによって両者をクロスリンクする働きをもつ。ウサギから単離した胃底腺をヒスタミンで処理すると、プロトンポンプが細管小胞から管腔側膜へと移行するのと同時に、管腔側膜を含む画分で、アクチン結合タンパク質であるエズリンのリン酸化が著明に亢進する²⁹⁾。エズリンノックダウンマウス（エズリン遺伝子のイントロン部分に変異カセットを導入してエズリンの発現は野生型の5%程度にまで低下させたマウス）では、ヒスタミン処理しても、細管小胞と管腔側膜との融合は認められず、細胞内に多数の細管小胞が存在し、胃酸の分泌が傷害される³⁰⁾。組織レベルでは胃壁細胞、主細胞数が減少して固有胃腺が萎縮するほか副細胞の過剰増殖が観察される。また、ガストリン濃度が上昇し、粘

Fig. 4 Schematic representation of the pathways of gastric epithelial lineage differentiation.

Gastric gland is divided into four domains; pit, isthmus, neck, and base domains (from upper to bottom of gland). There are three principal lineages (pit, parietal, and zymogenic) in the glandular epithelium. All three lineages originate from a single multipotent stem cell located in the isthmus region. The pit cell lineage differentiates during an upward migration whereas the zymogenic cell lineage differentiates to neck and chief cells during a downward migration. The parietal cell lineage differentiates within the isthmus, and migrates up to the pit or down to the base.

膜表層細胞の過形成が見られる³¹⁾。

このようにアクチン結合タンパク質であるHip1r、エズリンは胃酸分泌プロトンポンプに対しては直接に作用することなく、細管小胞と管腔側膜との膜融合やエンドサイトーシスに関わることによってプロトンポンプのトラフィッキングや機能制御に関与する。Hip1r、エズリンを欠損させたマウスの胃酸分泌におけるフェノタイプでは丁度反対の性質を示すことも興味深い。

5. 胃粘膜構築における胃壁細胞の働き

胃壁細胞は胃酸の分泌を行うほか、胃粘膜細胞が正常に分化して組織を構築する上でも重要な役割を果たす。胃粘膜を構成する細胞は、胃腺の isthmus 部分に存在する幹細胞から分化する (Fig. 4)。幹細胞が isthmus 部分から表層に向けて移動すると pre-pit cells、粘液分泌を行う pit cells へと分化する。他方、幹細胞が isthmus 部分から胃腺底部に向けて移動すると pre-neck cells、粘液分泌を行う neck cells (副細胞) へと分化する。neck cells はさらにペプシノゲン分泌を行う chief cells (主細胞) に分化する。また、幹細胞は isthmus 部分で pre-parietal cells, parietal cells

(胃壁細胞)に分化し、胃腺の表層、底部の両方向に移動する³²⁾。副細胞から主細胞への分化過程で壁細胞の存在が重要となる。実際に胃壁細胞が減少すると、それに対応して主細胞数が減少し、多数の副細胞が増殖する例が認められる³³⁾。おそらくは胃壁細胞が傍細胞的に分泌する栄養因子が副細胞から主細胞への分化を促すものと思われる。胃壁細胞からはTGF- α のほか、EGFリガンドであるAmphiregulin (AR)やヘパリン結合性EGF-like growth factor (HB-EGF)が分泌される。ARやHB-EGFの発現はガストリンによって活性化を受ける³⁴⁾。このうち、ARをノックアウトすると、胃腺の萎縮や胃壁細胞数の著しい減少が見られ、粘液中へのspasmolytic polypeptideの発現を特徴とする化生 (SPEM) や腸上皮化生 (IM) が起こる³⁵⁾。特にIMはヒトにおいて前がん状態として位置づけられている。このように、胃壁細胞は胃酸分泌のみならず、胃粘膜上皮細胞の分化や組織構築のキーププレーヤーとして機能する。

謝 辞

本総説執筆の機会を与えてくださいました京都府立医科大学・丸中良典教授に心より感謝申し上げます。

文 献

- Asano S, Morii M, Takeguchi N : *Biol. Pharm. Bull.*, **27**, 1-12 (2004)
- 浅野真司, 森井孫俊 : *Membrane*, **31**, 127-134 (2006)
- Toyoshima C, Nakasato M, Nomura H, Ogawa H : *Nature*, **405**, 647-655 (2000)
- Toyoshima C, Nomura H : *Nature*, **418**, 605-611 (2002)
- Toyoshima C, Mizutani T : *Nature*, **430**, 529-535 (2004)
- Toyoshima C, Nomura H, Tsuda T : *Nature*, **432**, 361-368 (2004)
- Sørensen TL, Møller JV, Nissen P : *Science*, **304**, 1672-1675 (2004)
- Morth JP, Pedersen BP, Toustrup-Jensen MS, Sørensen TL, Petersen J, Andersen JP, Vilsen B, Nissen P : *Nature*, **450**, 1043-1049 (2007)
- Shinoda T, Ogawa H, Cornelius F, Toyoshima C : *Nature*, **459**, 446-450 (2009)
- Asano S, Yoshida A, Yashiro H, Kobayashi Y, Morisato A, Ogawa H, Takeguchi N, Morii M : *J. Biol. Chem.*, **279**, 13968-13975 (2004)
- Munson K, Garcia R, Sachs G : *Biochemistry*, **44**, 5267-5284 (2005)
- Abe K, Tani K, Nishizawa T, Fujiyoshi Y : *EMBO J.*, **28**, 1637-1643 (2009)
- Abe K, Tani K, Fujiyoshi Y : *Nat. Commun.* Doi : 10.1038/ncomms1154 (2011)
- Morii M, Yamauchi M, Ichikawa T, Fujii T, Takahashi Y, Asano S, Takeguchi N, Sakai H : Involvement of the H₃O⁺-Lys-164-Gln-161-Glu-345 charge transfer pathway in proton transport of gastric H⁺, K⁺-ATPase., *J. Biol. Chem.*, **283**, 16876-16884 (2008)
- Song P, Groos S, Riederer B, Feng Z, Krabbenhöft A, Smolka A, Seidler U : *J. Physiol.*, **587**, 3955-3965 (2009)
- Song P, Groos S, Riederer B, Feng Z, Krabbenhöft A, Manns MP, Smolka A, Hagen SJ, Neusch C, Seidler U : *J. Biol. Chem.*, **286**, 14120-14128 (2011)
- Heitzmann D, Grahmmer F, von Hahn T, Schmitt-Gräff A, Romeo E, Nitschke R, Gerlach U, Lang HJ, Verrey F, Barhanin J, Warth R : *J. Physiol.*, **561**, 547-557 (2004)
- Roepke TK, Anantharam A, Kirchhoff P, Busque SM, Young JB, Geibel JP, Lerner DJ, Abbott GW : *J. Biol. Chem.*, **281**, 23740-23747 (2006)
- Fujita A, Horio Y, Higashi K, Mouri T, Hata F, Takeguchi N, Kurachi Y : *J. Physiol.*, **540**, 85-92 (2002)
- Fujii T, Takahashi Y, Ikari A, Morii M, Tabuchi Y, Tsukada K, Takeguchi N, Sakai H : *J. Biol. Chem.*, **284**, 619-629 (2009)
- Boettger T, Hübner CA, Maler H, Rust MB, Beck FX, Jentsch TJ : *Nature*, **416**, 874-878 (2002)
- Xu J, Song P, Miler ML, Borgese F, Barone S, Riederer B, Wang Z, Alper SL, Forte JG, Shull GE, Ehrenfeld J, Seidler U, Soleimani M : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 17955-17960 (2008)
- Urushidani T, Chow D, Forte JG : *J. Membr. Biol.*, **168**, 209-220 (1999)
- Mizukawa Y, Nishizawa T, Nagao T, Kitamura K, Urushidani T : *Am. J. Physiol.*, **282**, C786-C795 (2002)
- Sachs G, Shin JM, Vagin O, Lambrecht N, Yakubov L, Munson K : *Clin. Gastroenterol.*, **41**, S226-S242 (2007)
- Forte JG, Black JA, Forte TM, Machen TE, Wolosin JM : *Am. J. Physiol.*, **242**, G349-G358 (1981)
- Wolosin JM, Forte JG : *J. Biol. Chem.*, **256**, 3149-3152 (1981)
- Jain RN, Al-Menhali AA, Keeley TM, Ren J, El-Zaatari M, Chen X, Merchant JL, Ross TS, Chew CS, Samuelson LC : *J. Clin. Invest.*, **118**, 2459-2470 (2008)
- Hanzel DK, Urushidani T, Usinger WR, Smolka A, Forte JG : *Am. J. Physiol.*, **256**, G1082-G1089 (1989)
- Tamura A, Kikuchi S, Hata M, Katsuno T, Matsui T, Hayashi H, Suzuki Y, Noda T, Tsukita S, Tsukita S : *J. Cell Biol.*, **169**, 21-28 (2005)
- 浅野真司 : *Membrane*, **35**, 278-284 (2010)
- Mills JC, Andersson N, Stappenbeck TS, Chen CCM, Gordon JI : *J. Biol. Chem.*, **278**, 46138-46146 (2003)
- Goldenring JR, Nomura S : *Am. J. Physiol.*, **291**, G999-G1004 (2006)
- Tsutsui S, Shinomura Y, Higashiyama S, Higashimoto Y, Miyazaki Y, Kanayama S, Hiraoka S, Minami T, Kitamura S, Murayama Y, Miyagawa J, Taniguchi N, Matsuzawa Y :

Biochem. Biophys. Res. Commun., **235**, 520-523 (1997)

- 35) Nam KT, Lee H-J, Mok H, Romero-Gallo J, Crowe Jr JE, Peek RM, Goldenring JR : *Gastroenterology*, **136**, 1288-1296 (2009)

(Received 19 August 2011 ;

Accepted 14 September 2011)

著者略歴

浅野 真司 (あさの しんじ)

1984年3月 京都大学大学院薬学研究科修士課程(生化学)修了
 1984年4月 富山医科薬科大学薬学部 教務職員
 1988年1月 富山医科薬科大学薬学部 助手
 1990年3月 京都大学大学院薬学博士号取得
 1992年1月～93年10月 ハーバード大学医学部博士研究員
 1996年3月 富山医科薬科大学遺伝子実験施設 助教授
 2002年4月 富山医科薬科大学生命科学実験センター助教授
 2004年4月 立命館大学情報理工学部生命情報学科教授
 2008年4月 立命館大学薬学部教授
 現在に至る