ミニレビュー

[Nippon Nōgeikagaku Kaishi Vol. 71, No. 8, pp. 789~792, 1997]

MDR 1 と細胞容積感受性クロライドチャネル†

岡田 泰 伸

(岡崎国立共同研究機構・生理学研究所)

Key words : MDR 1, Cl⁻ channel, cell volume regulation ; ABC transporter ; CFTR

1. はじめに

ポアを介して細胞内外両側から基質をアクセスさせながら導通させるチャネルと、基質を膜の片側からのみアクセスさせて極性をスイッチしながら輸送するトランスポータ（キャリアとポンプを総称）は、その輸送様式の点で画然と区別される⁽¹⁾ので、両者には構造的にも大きな違いがあるものと想定されてきた。それゆえ、上皮 Cl⁻ 分泌異常を主徴とする嚢胞性線維症 Cystic Fibrosis の原因遺伝子産物として同定された CFTR 蛋白が ABC スーパーファミリー (ABC 蛋白) に属する構造を持つことが明らかとなったとき、誰もがこれ自身を Cl⁻ チャネルと見なすことはできず、これを制御する（機能をあわせ持つトランスポータ）蛋白だろうと考えた。そのような事情によって、これは Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) と命名されることになった⁽¹⁾。ところが間もなく、CFTR 自身がサイクリック AMP 依存性 Cl⁻ チャネルとして振舞うことが証明され、トランスポータとチャネルの構造にはある程度の連続性があることが明らかとなった。浸透圧性細胞膨張の後に起こる容積調節 (Regulatory Volume Decrease : RVD と呼ばれる) に関与する容積感受性 Cl⁻ チャネル蛋白の同定をめぐって、*mdr1* 遺伝子産物 MDR 1 (P 糖蛋白) との関係が大きくクローズアップされたのはそのような背景によっている。

2. 細胞容積感受性 Cl⁻ チャネル

動物細胞には固有の容積値があり、長時間にわたる収縮や膨張は細胞を死へと到らせる。それゆえ、たと

え異常浸透圧環境下に置かれつづけても多種の細胞は短時間の内に元の容積へと戻る容積調節能力を持っている^(2~4)。その1つである RVD は、細胞内から細胞外への KCl 流出と、それによって駆動される水流出によって達成される。細胞膨張時の KCl 流出は、赤血球では K⁺-Cl⁻ シンポータ又は K⁺-H⁺ アンチポータと Cl⁻-HCO₃⁻ アンチポータの同時的活性化によって、それ以外の多くの細胞では K⁺ チャネルと Cl⁻ チャネルの同時的活性化 (図 1) によって実現される^(2,3)。細胞膨張時に活性化される Cl⁻ チャネルで、最も広く見られるのが容積感受性外向き整流性 Cl⁻ チャネル (Volume-Sensitive Outwardly Rectifying Cl⁻ Channel : VSensOR Cl⁻ チャネル) である^(5,6)。

3. MDR 1 の「チャネルトランスポータ間スイッチ仮説」

VSensOR Cl⁻ チャネルの分子同定は未だ成功されていない。Valverde と Higgins ら⁽⁷⁾ は、①哺乳動物細胞に外来的に MDR1 を強制発現させると VSensOR Cl⁻ チャネル活性が出現すること、②MDR 1 遺伝子に対するアンチセンスオリゴヌクレオチド投与によって VSensOR Cl⁻ チャネル活性が抑制されること、そして③MDR 1 薬物排出ポンプの阻害剤が VSensOR Cl⁻ チャネル活性をも抑制すること、などの観察にもとづいて、MDR 1こそが VSensOR Cl⁻ チャネル蛋白そのものであると結論づけ、世界をあっと言わせた。更に彼らは、④薬物排出ポンプの基質を細胞内に負荷して MDR1 にポンプ機能を発揮させると細胞膨張時の Cl⁻ チャネル活性は出現せず、⑤浸透圧性膨張によって Cl⁻ チャネル活性を出現させると逆にポンプ活性が消失するという観察結果を根拠にして、MDR 1 は細胞膨張時には薬物排出ポンプから VSensOR Cl⁻ チャネルに機能スイッチするという考え (図 2 A) を提出した⁽⁸⁾。しかしその後、数多くの研究室で①③④⑤は多くの細胞系で観察されないことが報告され、②についても非特異的細胞障害が

† MDR 1 and Volume-Sensitive Chloride Channel
Yasunobu OKADA (National Institute for Physiological Sciences)

図 1 浸透圧性膨張の後に達成される細胞容積調節 (RVD) における K^+ チャネル及び Cl^- チャネルの役割。

図 2 MDR 1 と容積感受性 Cl^- チャネルの関係についての Valverde と Higgins らの 2 つの仮説。

疑われはじめた。これまでこの説の提出や検討はすべて外来性 MDR 1 強制発現系を用いて行われてきたが、私達は内在性に MDR 1 を発現する Intestine 407 細胞を用いてこの説の再検討をアンチセンス法を用いて行

った。アンチセンスオリゴヌクレオチド投与によって内在性 MDR 1 の発現を消失させても、VSensOR Cl^- チャネル最大活性の大きさには何らの影響も見られず、MDR 1 ポンプ基質負荷によって本 Cl^- チャネル活性化

図 3 KB 細胞における容積感受性 Cl^- チャンネルの容積感受性の MDR 1 発現による亢進⁽¹¹⁾。

は阻止されず、MDR 1 ポンプ阻害剤のいくつかは Cl^- チャンネル活性に大きな影響を与えないことを示し、この説は正しくないことを証明した⁽⁹⁾。

4. MDR 1 の「チャンネル・レギュレータ仮説」

Valverde と Higgins ら⁽¹⁰⁾ は、新たに、MDR 1 は C キナーゼ (PKC) を介して VSensOR Cl^- チャンネルのレギュレータとして働くという仮説 (図 2 B) を、次の観察を根拠にして提出した。MDR 1 を強制発現させた NIH 3 T 3 及び HeLa 細胞においては、TPA による PKC の活性化によって VSensOR Cl^- チャンネル活性は抑制されるが、MDR 1 の発現していない細胞ではそのような TPA 効果は見られないというのである。しかし私達は、内在的に MDR 1 を発現している Intestine 407 細胞においても、外来性に MDR 1 を強制発現させた KB 細胞においても、TPA や OAG によって PKC を活性化させても VSensOR Cl^- チャンネル活性の最大値には何らの変化ももたらされないことを観察し^(9,11)、この説は必ずしもすべての細胞で成立するものでないことを明確にした。

それでは Valverde と Higgins らによる MDR 1 発現細胞とそうでない細胞の間での VSensOR Cl^- チャンネル活性差の観察はいかにして説明されるのか？私達はこれについても最近回答を与えることができた⁽¹¹⁾。KB 細胞において VSensOR Cl^- チャンネル電流密度は細胞容積増に伴う形態的な細胞外表面積増との間に、一定閾値

以上で最大活性値への飽和以前の領域では比例関係を示す (図 3 白丸)。このスロープは VSensOR Cl^- チャンネルの容積感受性の指標となるものであるが、それが MDR 1 の発現によって著しく高められていることが明らかとなったのである (図 3 黒丸)。従って、最大活性値は MDR 1 に影響をうけないが、細胞膨張が軽度な領域では Cl^- チャンネル活性は MDR 1 発現によって著しく増強されるように観察されることになる。この MDR 1 の効果は、ATP 分解能が著しく乏しいためにポンプ活性を殆ど示さない K 433 M 変異体によっても同様に認められた。従って、MDR 1 発現はそのポンプ活性とは無関係に VSensOR Cl^- チャンネルの容積センサーの感受性を高めるものと結論される。MDR 1 がチャンネル蛋白 (又はその容積センサー) に直接に作用しているのか、又は (細胞骨格系などを介して) 間接的に作用しているのかについては未だ明らかではないが、いずれにせよ MDR 1 はチャンネルのレギュレータとしても働くことが強く示唆される。

5. 終わりに：ABC 蛋白の多機能性

構造上は ABC 蛋白である CFTR はサイクリック AMP 依存性 Cl^- チャンネルの本体として働くと共に、他のチャンネルのレギュレータとしても働くことが最近示された⁽¹⁾。また、同じく ABC 蛋白のメンバーであるスルフォニル尿素剤レセプター SUR は、内向き整流性 K^+ チャンネル蛋白と構造的にカップルして、これに ATP 感

受性やSU 剤感受性を付与することも最近明らかにされた⁽¹⁾。MDR 1 と同様に多剤耐性に関与する MRP もまた、ある条件下ではいくつかのイオンチャネルの活性に影響を与えることが報告されている⁽¹⁾。このように ABC 蛋白は、それぞれの機能が多岐にわたっていると共に、各蛋白が同時に他の機能をも果すという点においても多機能性蛋白であることが明らかとなり、現在大きな注目を集めている。

-
- (1) 岡田泰伸, 清野 進(編):「分子医科学で病気を識るシリーズ第5巻“チャネルとトランスポータ: その働きと病気”」メディカルビュー社, 東京 (1997).
- (2) E. K. Hoffman & L. O. Simonsen: *Physiol. Rev* **69**, 315-382 (1989).
- (3) Y. Okada & A. Hazama: *News Physiol. Sci*, **4**, 238-242 (1989).
- (4) 岡田泰伸: 医学のあゆみ, **166**, 166 (1993).
- (5) K. Strange *et al.*: *Am. J. Physiol.*, **270**, C 711-C 730 (1996).
- (6) Y. Okada: *Am. J. Physiol.*, in press (1997).
- (7) M. A. Valverde *et al.*: *Nature*, **355**, 830-833 (1992).
- (8) D. R. Gill *et al.*: *Cell* **71**, 23-32 (1992).
- (9) M. Tominaga *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **270**, 27887-27893 (1995).
- (10) S. P. Hardy *et al.*: *EMBO J.* **14**, 68-75 (1995).
- (11) A. Miwa *et al.*: *J. Membrane Biol.*, **157**, 63-69 (1997).
-