

TRIC チャネル欠損高血圧における食塩感受性

竹島 浩

京都大学大学院薬学研究科

概要 細胞内ストアから放出される Ca^{2+} は、筋収縮、伝達物質放出、遺伝子発現、細胞増殖や細胞死などの多彩な細胞機能を調節する。小胞体上の Ca^{2+} 放出チャネルとしてはリアノジン受容体とイノシトール三リン酸(IP_3)受容体が知られており、しばしば時空間的特性の異なる Ca^{2+} シグナルを形成する。平滑筋細胞において、リアノジン受容体の自発的開口は局所的な Ca^{2+} 上昇である Ca^{2+} スパークを発生させるのに対して、アゴニスト刺激による IP_3 受容体の開口は広範囲な Ca^{2+} トランジェントを発生させて、それぞれ細胞膜過分極と細胞収縮を誘導する。一方、小胞体 Ca^{2+} 放出に伴い内腔側に蓄積する陰荷電は効率的な Ca^{2+} 放出を抑制すると想像されるため、カウンターイオン流入等による荷電中和機構の存在が推定されている。我々が発見した TRIC チャネルサブタイプ (TRIC-A と TRIC-B) は3回膜貫通のタンパク質がホモ三量体を形成し、小胞体上で一価陽イオンチャネルとして機能する。心筋細胞や肺胞上皮細胞などから得られた研究成果からは、TRIC チャネルは小胞体 Ca^{2+} 放出と連動して機能するカウンターイオンチャネルであることが示唆される。

本研究において、我々は TRIC-A 欠損マウスで昼期間に観察された高血圧に注目した。多彩な降圧薬の中で、この高血圧は血管平滑筋を標的とする Ca^{2+} チャネル阻害薬に対して高い感受性を示した。また、変異マウスより調製された抵抗血管の筋原性収縮は顕著に亢進しており、高血圧の原因は自発的な血管緊張の亢進であると考えられた。変異マウスの血管平滑筋細胞では、リアノジン受容体による Ca^{2+} スパークの発生頻度が低下し、細胞膜上の Ca^{2+} 依存性 K^+ チャネルの開口が抑制されて膜電位が上昇し、電位依存性 Ca^{2+} チャネルが活性化していた。その結果、静止状態における平滑筋細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇し、TRIC-A 欠損マウスでは血管収縮が亢進するために高血圧が誘発されるものと考察された。一方、マウス実験系での成果を踏まえて立案された高血圧患者と健常者群の遺伝子解析においては、ヒト TRIC-A 遺伝子上に分布する連鎖不均衡の一塩基多型 (SNPs) が本態性高血圧症のリスク要因となることが判明した。また、見出された高血圧リスクとなる TRIC-A 遺伝子 SNPs は降圧薬の薬理効果を規定することも判明した。従って本研究により、TRIC-A チャネルは血管収縮シグナル系にて重要な機能を有することが明らかになり、その遺伝子 SNPs は高血圧症のリスク診断やパーソナル薬物処方などに利用可能であることが示された。

はじめに

細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇は生理反応のスイッチとなっており、その制御は神経伝達物質やホルモンの放出、筋細胞の収縮、遺伝子の転写、代謝経路の活性化、細胞増殖や細胞死など多彩な細胞機能に及んでいる。興奮性細胞における生理反応では、電気シグナルは例外なく細胞内 Ca^{2+} シグナルへ変換され、その際には、表層膜上の電位依存性 Ca^{2+} チャネルと細胞内ストア膜上の Ca^{2+} 放出チャネル (リアノジン受容体) の機能共役によるシグナル変換

が普遍的に観察される。骨格筋においては、興奮収縮連関に対応するために筋小胞体の Ca^{2+} ストアとしての機能が極めて特化しており、大量調製可能な筋小胞体の構成タンパク質群の解析が進んでいる。しかしながら、その筋小胞体分画のタンパク質群においても、今なお機能不明な分子が山積している。一方、小胞体の浸透圧や膜電位を調節すると考えられる K^+ 、 Cl^- や H^+ の膜透過性を担うチャネルの分子実体は不明であり、それらの分子同定や生理的機能の詳細な理解が基礎学術的に強く求められ

ている。さらに、それらの機能異常に基づく、病態の解明も医学・薬学領域で注目される。

我々のグループは、神経・筋細胞における電気シグナル-Ca²⁺シグナルの変換機構や小胞体 Ca²⁺ハンドリングの関連機構の理解に向けた研究貢献を目指している (Figure 1)。代表的な成果としては、リアノジン受容体サブタイプの分子同定と生理機能の解析^(1,2)、骨格筋特殊膜構造の形成に寄与して Ca²⁺シグナリングを規定するミツグミン 29 の発見と機能解明^(3,4)、細胞膜と小胞体を架橋するタンパク質であるジャンクトフィリンの発見と生理機能の解明^(5,6)、筋細胞膜修復に寄与するミツグミン 53 の発見と機能解析^(7,8)がある。近年では、小胞体 Ca²⁺放出と同調して発生すると想定されるカウンターイオンの膜透過を担う TRIC チャンネルを発見し⁽⁹⁾、二種のサブタイプ (TRIC-A と TRIC-B) の電気生理学的相違を解析し⁽¹⁰⁾、心筋、骨格筋および肺胞上皮細胞における機能を解明している^(11,12)。最近、我々のグループは TRIC-A 欠損マウスが高血圧を示すことを見出した。この観察データに基づき、本研究が立案された。

研究計画と実験方法

TRIC-A 欠損高血圧の食塩感受性

腎臓 Na⁺再吸収に関わるレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系による血圧調節の重要性は広く認識されており、食塩過剰負荷による高血圧の増悪は多くの高血圧モデル動物で報告されている。また、加齢による血圧上昇も一般的に良く知られている。食塩感受性を検討することで、TRIC-A 欠損マウスの高血圧におけるレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系の破綻や加齢の寄与について検討し、高血圧の発症メカニズムの解明を目指す。

TRIC-A 欠損マウスの昇圧メカニズム

TRIC-A 欠損マウスで観察される高血圧は血管または心臓の機能異常によるものなのか、さらには、心筋細胞、血管平滑筋細胞や内皮細胞における機能異常を反映したものなのかについて検討する。これまでの研究成果から、TRIC チャンネルの欠損は小胞体 Ca²⁺放出の異常が予想されるが、上記の細胞系における Ca²⁺ハンドリング異常を検索することにより、TRIC-A 欠損マウスの高血圧の発症メカニズムの解明を目指す。

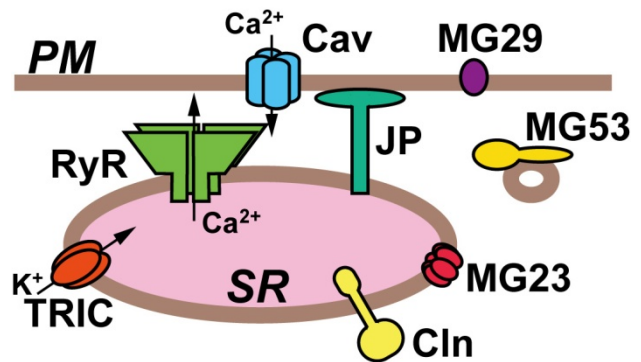


Figure 1. Muscle Ca²⁺ signaling related proteins in our research. Cav, voltage-gated Ca²⁺ channel; MG29, mistugumin 29; RyR, ryanodine receptor; JP, junctophilin; MG53, mitsugumin 53; TRIC, trimeric intracellular cation channel; Cln, calumin; MG23, mitsugumin 23.

ヒト高血圧と TRIC-A 遺伝子多型の関連

現在、多数の高血圧患者と健常者のゲノムワイドでの塩基配列の比較検討により、高血圧リスク SNPs が検索されている。上記の欠損マウスの高血圧からは、TRIC-A 遺伝子発現の強弱が血圧値と相関することが想定される。ヒト TRIC-A 遺伝子 SNPs の同定を進め、それらの連鎖動態を明らかにするとともに、高血圧リスクや降圧薬感受性との関連を検討する。

結果

TRIC-A 欠損高血圧の性質検討

TRIC-A 欠損マウスにおける高血圧の発症機序を解明するため、まずテレメリー計測法による概日リズムの影響を検討した (Figure 2A)。マウスは夜行性であり、交感神経系優位な夜間に血圧が上昇する。TRIC-A 欠損マウスは昼期間に血圧低下が観察されず高血圧症状を示すが、夜間においては正常マウスと同等の血圧値を示した。一方、昼期間にテールカフ法により、各種の降圧薬 (ほぼ最大効果の投薬量) に対する効果を正常マウスと TRIC-A 欠損マウスで比較検討した (Figure 2B)。収縮期血圧の降圧値で両群を比較すると、多くの薬物で同様の効果が観察されたものの、TRIC-A 欠損マウスでは Ca²⁺チャンネル阻害薬でのみで顕著な降圧効果が観察された。これらの結果からは、Ca²⁺チャンネル阻害薬の標的となる血管における非交感神経性の収縮亢進が TRIC-A 欠損マウスにて推

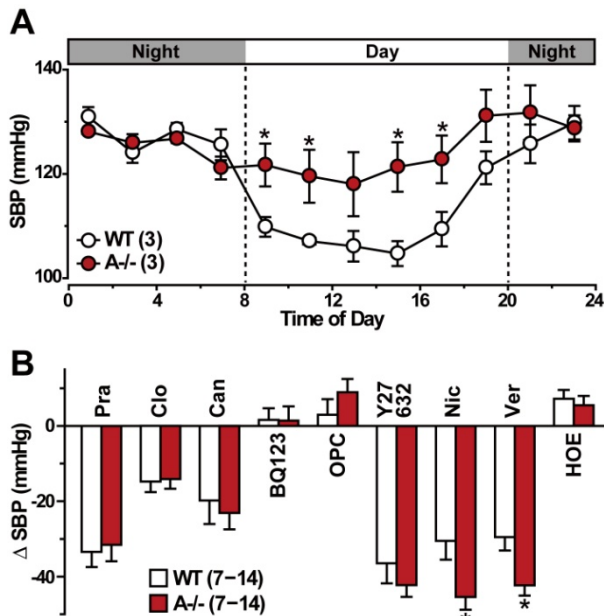


Figure 2. Daytime hypertension in *Tric-a*-knockout mice. (A) Circadian fluctuations in systolic blood pressure (SBP) were telemetrically monitored, and the data were averaged over each 2-hr interval during a 24 hr period. (B) SBP-lowering effects of depressors at submaximal doses. Drugs injected intraperitoneally were Pra (α 1-antagonist prazosin), Clo (α 2-agonist clonidine), Can (angiotensin II receptor blocker candesartan), BQ123 (endothelin A-receptor blocker), OPC (vasopressin receptor blocker OPC-21268), Y27632 (Rho kinase inhibitor), Nic (dihydropyridine Ca^{2+} antagonist nifedipine), Ver (phenylalkylamine Ca^{2+} antagonist verapamil), HOE (bradykinin antagonist HOE140), and hAM (adrenomedullin antagonist hAM22-52). The data represent the mean \pm SEM., and the numbers of mice examined are shown in parentheses. Statistical differences between the genotypes are indicated by asterisks (* p <0.05 in *t*-test).

定される。

TRIC-A 欠損高血圧の食塩感受性を検討するため、通常飼育 16 週間の後に、TRIC-A 欠損マウスを 0.3% 食塩溶液または 8.0% 食塩溶液負荷の 2 群に分けて飼育し、その後の血圧変動をテールカフ法により昼期間に測定し、食塩溶液の負荷に伴う収縮期血圧 (SBP) の変化を検討した。正常マウスと比較して、TRIC-A 欠損マウスでは顕著

に高い SBP 値が観察されるものの、8.0% 食塩溶液による高血圧の増悪は観察されなかった。従って、TRIC-A 欠損による腎臓機能異常の可能性は低いものと判断される。また、TRIC-A 欠損マウスでは若年時に既に高血圧を示し、その病状は加齢の影響下で生じるものではないことも結論された。

TRIC-A 欠損抵抗血管の収縮異常

血圧は抵抗血管と呼ばれる末梢小動脈の収縮により主に規定されており、単離抵抗血管の収縮性は血管径を直接観察することにより得られる筋原性収縮 (myogenic tonus) により評価される。代表的な抵抗血管である腸間膜動脈を TRIC-A 欠損マウスより調製、血管内灌流し、ビデオ観察システムを備えた顕微鏡下で血管内圧力を任意に変化させて筋原性収縮の変化を測定した。通常の溶液中では自発的な筋原性収縮により緊張性を示す血管も、 Ca^{2+} 非含有の灌流溶液に置換すると血管平滑筋が弛緩して筋原性収縮を失う。 Ca^{2+} 非含有の灌流溶液中では両群ともに同様の血管径が観察されるものの、通常の灌流溶液中において TRIC-A 欠損マウスの血管は顕著な筋原性収縮の亢進を示した。この観察結果からは、TRIC-A 欠損により血管平滑筋の収縮性が亢進したことが示された。

TRIC-A 欠損血管平滑筋の Ca^{2+} ハンドリング異常

腸間膜動脈より内皮細胞を取り除いた試料に、 Ca^{2+} 蛍光指示薬である Fura-PE3 を負荷することで、各種刺激下における血管平滑筋の細胞内 Ca^{2+} 濃度変化を検討した。その結果、以下の3点の異常が TRIC-A 欠損平滑筋で観察された。

TRIC-A 欠損血管平滑筋で観察された第1の異常は、定常状態における細胞内 Ca^{2+} 濃度の顕著な上昇である (Figure 3)。 Ca^{2+} 非含有の細胞外溶液の灌流または Ca^{2+} チャネル阻害薬の添加により Ca^{2+} 濃度上昇が抑制されることから、TRIC-A 欠損平滑筋において電位依存性 Ca^{2+} チャネルが仲介する Ca^{2+} 流入が亢進していることが示唆される。第2の異常は、細胞内ストアにおける Ca^{2+} 過剰負荷である。小胞体 Ca^{2+} ポンプを CPA (cyclopiazonic acid) 添加により阻害すると、細胞内ストアから Ca^{2+} が流出することにより細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇する。従って、CPA による蛍光強度の上昇は細胞内ストア Ca^{2+} 含量を反映する。TRIC-A 欠損平滑筋での CPA 応答が顕著に亢進していることから、ストア Ca^{2+} の過剰負荷が確認された。一方、リア

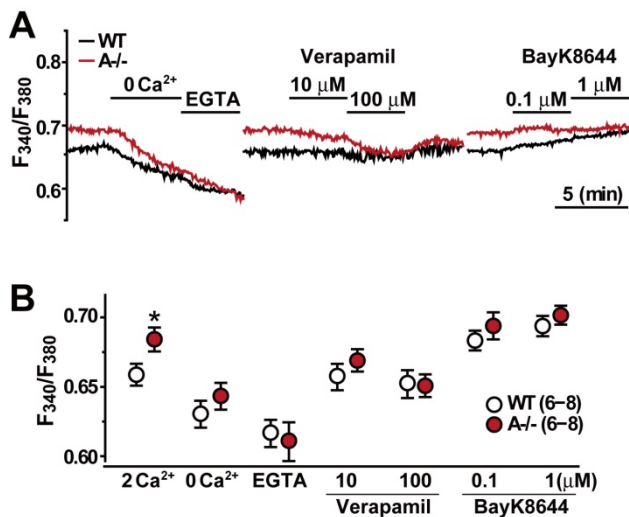


Figure 3. Elevated resting cytosolic Ca^{2+} in *Tric-a*-knockout vascular smooth muscle. (A) Responses of cellular Fura-PE3 fluorescence to Ca^{2+} removal, Ca^{2+} channel antagonist verapamil and channel agonist BayK8644 were monitored in vascular muscle segments from *Tric-a*-knockout (red) and control mice (black). (B) Summarized fluorescence ratiometric data. The data represent the mean \pm SEM., and the numbers of mice examined are shown in parentheses. Statistical differences between the genotypes are indicated by asterisks (* $p < 0.05$ in *t*-test).

ノジン受容体の開口薬カフェインの添加により、TRIC-A 欠損平滑筋は正常平滑筋と同様の Ca^{2+} 濃度上昇を示すことから、リアノジン受容体含有の細胞内ストアではほぼ正常な Ca^{2+} 含量であることが示唆された。第3の異常は、アゴニスト誘導性 Ca^{2+} 応答の顕著な亢進である。血管平滑筋では、アドレナリン受容体活性化薬フェニレフリンを添加するとイノシトール三リン酸 (IP_3) の産生により、 IP_3 受容体を経由した小胞体 Ca^{2+} 放出が誘導される。このフェニレフリンによる Ca^{2+} 応答が TRIC-A 欠損平滑筋において顕著に亢進しており、 IP_3 受容体含有の細胞内ストアで Ca^{2+} 過剰負荷が発生しているものと考察された。

TRIC-A 欠損平滑筋の過分極情報伝達の異常

平滑筋細胞では、リアノジン受容体の自発的開口により限局された細胞内部位で暫時的に Ca^{2+} 濃度が上昇する Ca^{2+} スパークが発生する。全反射蛍光顕微測定により、TRIC-A 欠損血管平滑筋細胞の Ca^{2+} スパークを観察した

ところ、通常の細胞外溶液中では異常は見出せないものの、高 K^+ 溶液中においては TRIC-A 欠損平滑筋細胞において Ca^{2+} スパーク発生頻度が顕著に低下していた。しかしながら、 Ca^{2+} スパークの振幅や細胞内発生箇所については正常であった。

平滑筋細胞の Ca^{2+} スパーク発生に伴い小胞体より放出される Ca^{2+} は、細胞膜上の大コンダクタンス Ca^{2+} 依存性 K^+ チャンネル (BK チャンネル) を開口させることにより、STOCs (spontaneous transient outward currents) を発生させる。そこで、単離血管平滑筋細胞におけるパッチクランプ法による STOC 測定を行った。TRIC-A 欠損平滑筋においては、特に膜電位上昇により STOC 発生頻度が低下していることが示された。一方、STOC 電流振幅および細胞膜上の BK チャンネル発現量には異常は観察されなかった。従って、TRIC-A 欠損により血管平滑筋における過分極情報伝達 (Ca^{2+} スパーク \sim STOC) の発生頻度が低下しているものと考えられた。

平滑筋における STOCs は、定常状態の静止膜電位の維持や脱分極から静止状態へ戻る再分極に寄与すると考えられている。そこで、膜電位感受性蛍光色素 oxanol VI による蛍光イメージングを行ったところ、TRIC-A 欠損平滑筋では静止状態における膜電位が顕著に上昇していることが判明した。ペプチド毒 IBTX の添加により BK チャンネルを阻害すると、正常平滑筋細胞と TRIC-A 欠損平滑筋はほぼ同様の膜電位となることが確認された。以上の結果を総合的に考察すると、TRIC-A 欠損平滑筋ではリアノジン受容体の開口が阻害され、STOC 電流が低下して、静止膜電位の上昇を含む興奮性が亢進するものと考えられる。

以前の我々の研究成果から、TRIC チャンネルが規定する小胞体膜内腔と細胞質の K^+ 動態は Ca^{2+} 放出の効率化に重要であると考察される。両 TRIC サブタイプを発現する血管平滑筋では、TRIC-A 欠損によりリアノジン受容体の Ca^{2+} スパークが抑制され、BK チャンネルによる過分極情報伝達が減弱している (Figure 4)。そのため、静止膜電位が上昇し、電位依存性 Ca^{2+} チャンネルによる Ca^{2+} 流入が増大することで、細胞内 Ca^{2+} 濃度が恒常的に上昇する。従って、TRIC-A 欠損平滑筋は収縮傾向を示すことになり、TRIC-A 欠損抵抗血管は必然的に筋原性収縮が上昇することになる。TRIC-A 欠損による電位依存性 Ca^{2+}

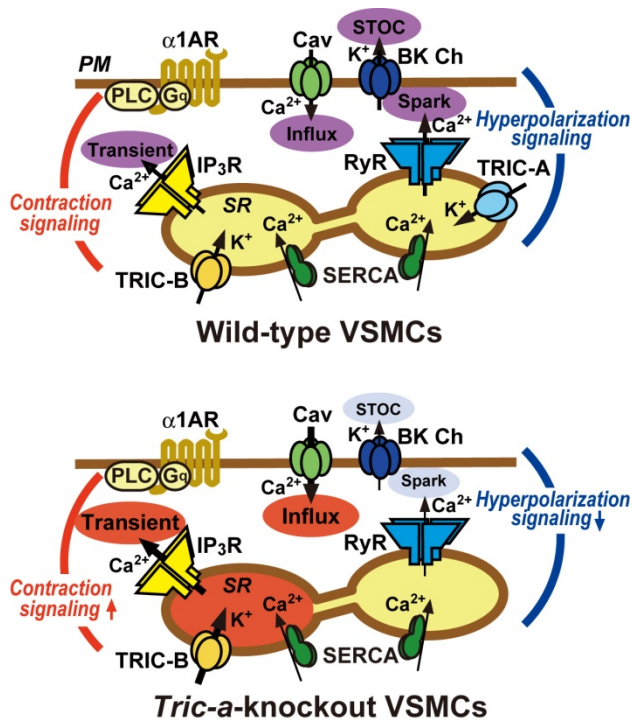


Figure 4. Abnormal Ca^{2+} handling proposed in *Tric-a*-knockout vascular smooth muscle

チャネルの活性亢進により血管緊張度の亢進は、TRIC-A 欠損高血圧に対して Ca^{2+} チャネル阻害薬が顕著な降圧効果を発揮するという観察とよく一致する。一方、TRIC-A 欠損平滑筋では IP_3 受容体による Ca^{2+} 放出の障害は観察されず、 IP_3 感受性の細胞内ストアは過剰 Ca^{2+} 負荷が観察される。分子的なメカニズムは不明であるものの、平滑筋細胞においては、TRIC-A とリアノジン受容体、TRIC-B と IP_3 受容体という機能的共役が特異的に成立することも推察される。また、リアノジン受容体の開口不良により残留した小胞体内 Ca^{2+} が IP_3 感受性ストアに過剰負荷となるまで移送する未知の機構も想像される。

ヒト TRIC-A 遺伝子多型と高血圧

愛媛大学医学部のグループが構築した日本人集団の高血圧ケース-コントロール試験システムにおいて(各グループ約 1100 名)、上記の TRIC-A 遺伝子 SNPs を PCR 法により検討した。代表例としては、TRIC-A 遺伝子の推定プロモーター領域に存在する rs17796739 の部位において、日本人ゲノム集団では C が 70% で、T が 30% の頻度で存在している。この部位で低頻度 T のホモ接合体では、統計上有意 ($p=0.018$) に高血圧を発症するとともに、約

18% の発症リスクが上昇するものと推定された。SNP genotyping データをまとめると、見出された高血圧リスク SNPs は連鎖不均衡の関係にあることも判明し、TRIC-A 遺伝子を中心とする約 100 kb に分布していることが示された。従って、TRIC-A 遺伝子 SNPs は遺伝診断により、高血圧予防などに応用されることが期待される。

ヒト TRIC-A 遺伝子多型と降圧薬の薬理効果

高血圧治療では作用機序の異なる多彩な降圧薬が現在利用されており、高血圧症の遺伝素因や生活習慣に対応して降圧効果も異なるものと考えられる。国立循環器病センターが中核となり、汎用される降圧薬であるサイアザイド利尿薬 (TZD)、アンジオテンシン II 受容体拮抗薬 (ARB) と Ca^{2+} チャネル阻害薬 (CCB) を高血圧患者約 100 名に処方して、それぞれの降圧効果を検討するとともに、血液試料から遺伝子を抽出する臨床試験 (GEANE 試験) が既に行われている。そこで我々は、この GEANE 試験において上述の TRIC-A 遺伝子における高血圧リスク SNPs に注目した。

TRIC-A 遺伝子 SNP である rs901792 において、リスク多型 C のホモ接合体において 3 つの降圧薬に対する抵抗性が示された。降圧効果は薬物治療前の血圧値に依存することから、より正確な薬理効果の検討では前値補正とともに、収縮期、平均および拡張期血圧に分割された評価が求められる。前値補正を含めた検討においても、TRIC-A リスク多型のホモ接合体では降圧薬抵抗性が確認された。例えば、ARB 治療において、リスク多型は拡張期血圧における薬剤抵抗性を規定しており、収縮期血圧への薬理効果に関与していないことが示された。従って、TRIC-A 遺伝子多型は降圧薬の投薬量決定などの個別化治療に貢献することが期待される。

謝辞

本成果を記述した論文は現在印刷中であり⁽¹³⁾、今後も Ca^{2+} ハンドリング機構の詳細検討を進めて、病態解明、創薬標的の設定、診断・治療法の確立へ貢献したい。本研究をサポートしていただいたソルト・サイエンス研究財団に感謝申し上げます。

文献

1. Takeshima, H., Nishimura, S., Matsumoto, T., Ishida, H.,

- Kangawa, K., Minamino, N., Matsuo, H., Ueda, M., Hanaoka, M., Hirose, T. & Numa, S. Primary structure and expression from complementary DNA of skeletal muscle ryanodine receptor. *Nature* 339, 439-445, 1989.
2. Takeshima, H., Iino, M., Takekura, H., Nishi, M., Kuno, J., Minowa, O., Takano, H. & Noda, T. Excitation-contraction uncoupling and muscular degeneration in mice lacking functional skeletal muscle ryanodine-receptor gene. *Nature* 369, 556-559, 1994.
 3. Nishi, M., Komazaki, S., Kurebayashi, N., Ogawa, Y., Noda, T., Iino, M. & Takeshima, H. Abnormal features in skeletal muscle from mice lacking mitsugumin29. *J. Cell Biol.* 147, 1473-1480, 1999.
 4. Pan, Z., Yang, D., Nagaraj, R. J., Nosek, T. A., Nishi, M., Takeshima, H., Cheng, H. & Ma, J. Dysfunction of store-operated Ca^{2+} channel in muscle cells lacking mg29 gene. *Nature Cell Biol.* 4, 379-383, 2002.
 5. Takeshima, H., Komazaki, S., Nishi, M., Iino, M. & Kangawa, K. Junctophilins: a novel family of junctional membrane complex proteins. *Mol. Cell* 6, 11-22, 2000.
 6. Moriguchi, S., Nishi, M., Komazaki, S., Sakagami, H., Miyazaki, T., Masumiya, H., Saito, S., Watanabe, M., Kondo, H., Yawo, H., Fukunaga, K. & Takeshima, H. Functional uncoupling between Ca^{2+} release and afterhyperpolarization in mutant hippocampal neurons lacking junctophilins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 103, 10811-10816, 2006.
 7. Cai, C., Masumiya, H., Weisleder, N., Matsuda, N., Nishi, M., Hwang, M., Ko, J-K., Lin, P., Thornton, A., Zhao, X., Pan, Z., Komazaki, S., Brotto, M., Takeshima, H. & Ma, J. MG53 nucleates assembly of cell membrane repair machinery. *Nature Cell Biol.* 11, 56-64, 2009.
 8. Masumiya, H., Asami, Y., Nishi, M., Minamisawa, S., Adachi-Akahane, S., Yoshida, M., Kangawa, K., Ito, K., Kagaya, Y., Yanagisawa, T., Yamazaki, T., Ma, J. & Takeshima, H. Mitsugumin 53-mediated maintenance of K^+ currents in cardiac myocytes. *Channels* 3, 6-11, 2009.
 9. Yazawa, M., Ferrante, C., Feng, J., Mio, K., Ogura, T., Zhang, M., Lin, P-H., Pan, Z., Komazaki, S., Kato, K., Nishi, M., Zhao, X., Weisleder, N., Sato, C., Ma, J. & Takeshima, H. TRIC channels are essential for Ca^{2+} handling in intracellular stores. *Nature* 448, 78-82, 2007.
 10. Pitt, S. J., Park, K-H., Nishi, M., Urashima, T., Aoki, S., Yamazaki, D., Ma, J., Takeshima, H. & Sitsapesan, R. Charade of the SR K^+ -channel: two ion-channels, TRIC-A and TRIC-B, masquerade as a single K^+ -channel. *Biophys. J.* 99, 417-426, 2010.
 11. Yamazaki, D., Komazaki, S., Nakanishi, H., Mishima, A., Nishi, M., Yazawa, M., Yamazaki, T., Taguchi, R. & Takeshima, H. Essential role of TRIC-B channel in Ca^{2+} -handling of alveolar epithelium and perinatal lung maturation. *Development* 136, 2355-2361, 2009.
 12. Zhao, X., Yamazaki, D., Park, K-H., Komazaki, S., Tjondrokoesoemo, A., Nishi, M., Lin, P., Hirata, Y., Brotto, M., Takeshima, H. & Ma, J. Ca^{2+} overload and sarcoplasmic reticulum instability in *tric-a* null skeletal muscle. *J. Biol. Chem.* 285, 37370-37376, 2010.
 13. Yamazaki, D., Tabara, Y., Kita, S., Hanada, H., Komazaki, S., Naitou, D., Mishima, A., Nishi, M., Yamamura, H., Yamamoto, S., Kakizawa, S., Miyachi, H., Yamamoto, S., Miyata, T., Kawano, Y., Kamide, K., Ogihara, T., Hata, A., Umemura, S., Soma, M., Takahashi, N., Imaizumi, Y., Tetsuro Miki, T., Iwamoto, T. & Takeshima, H. TRIC-A channels in vascular smooth muscle contribute to blood pressure maintenance. *Cell Metab.* in press.

TRIC Channel and Hypertension

Hiroshi Takeshima

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University

Summary

Ca²⁺ release from the endo/sarcoplasmic reticulum (ER/SR) regulates important cellular functions. Ryanodine receptors (RyRs) expressed in excitable cells and inositol 1,4,5-trisphosphate receptors (IP₃Rs) distributed in almost all types of cells comprise a unique family of Ca²⁺ release channels that are structurally and functionally distinct from other known ion channels. To regulate separate cellular functions, RyRs and IP₃Rs are activated by different mechanisms and often generate distinct spatiotemporal profiles of Ca²⁺ signals. For example, in vascular smooth muscle cells (VSMCs), agonist-induced IP₃R activation evokes global Ca²⁺ transients, which frequently accompany Ca²⁺ waves and oscillations, inducing contraction, while spontaneous RyR opening generates local Ca²⁺ sparks and activates cell-surface Ca²⁺-dependent K⁺ channels leading to hyperpolarization. When Ca²⁺ is released from intracellular stores, a negative potential probably arises in the lumen that would disturb subsequent Ca²⁺ release. Therefore, physiological Ca²⁺ release may require counter-ion movements to balance ER/SR membrane potential. We have identified TRIC (trimeric intracellular cation) channel subtypes, which form bullet-shaped homo-trimers to function as monovalent cation channels. Recent studies in embryonic cardiomyocytes, alveolar epithelial cells and skeletal muscle from knockout mice indicate that TRIC channels act as counter-ion channels facilitating physiological Ca²⁺ release from the ER/SR.

Tric-a-knockout mice grew normally, but developed hypertension during daytime. Resistance arteries from the knockout mice exhibited enhanced myogenic tone. TRIC-A channel deficiency inhibited RyR-mediated hyperpolarization signaling to stimulate voltage-dependent Ca²⁺ influx, and adversely enhanced IP₃R-mediated Ca²⁺ transients by producing Ca²⁺-overloaded stores in VSMCs. Moreover, association analysis identified single nucleotide polymorphisms around the human *TRIC-A* gene, that increase hypertension risk and restrict the efficiency of antihypertensive drugs. Therefore, the TRIC-A channel contributes to maintaining vascular tonus, while its genetic polymorphisms could provide useful markers for constitutional diagnosis and personalized medical treatment of essential hypertension.