

生体内でクロールイオンはどんな働きをしているのか？

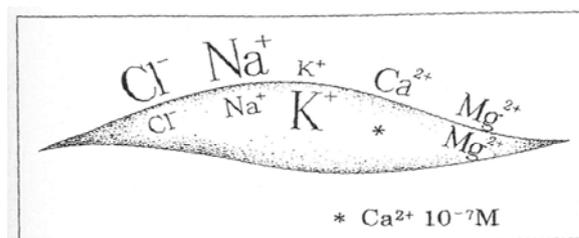
岡田 泰伸

自然科学研究機構・生理学研究所・所長

1. 体液中でのクロライドイオン

体液中における主たる電解質は NaCl であり、強電解質であるそれは体重の 60~66% を占める水 (図1左) に溶解、大部分はナトリウムイオン (Na⁺) とクロライドイオン (クロールイオン、塩素イオン、Cl⁻) とに解離して存在している。血漿中および間質液中の Cl⁻ は、総陰イオン (アニオン) 濃度の約 65% および 70% を占めている (図1右)。これらの細胞外液と海水の電解質組成を比較すると、海水の方が濃度は約 3.5 倍濃いが、組成比率は相似している。この事実から、生物は原始海水において生まれ、現在の海水は原始海水からかなり濃縮されたことが推定される。

外で Na⁺ とカリウムイオン (K⁺) の濃度比が逆転しており、カルシウムイオン (Ca²⁺) は細胞内にはごく僅かしか存在しない。更には、細胞内の Cl⁻ は細胞外に比べて大変少ない。このような内外濃度差が保たれた袋が原始海水に出現したことが、生命の誕生のはじまりであったものと思われる。



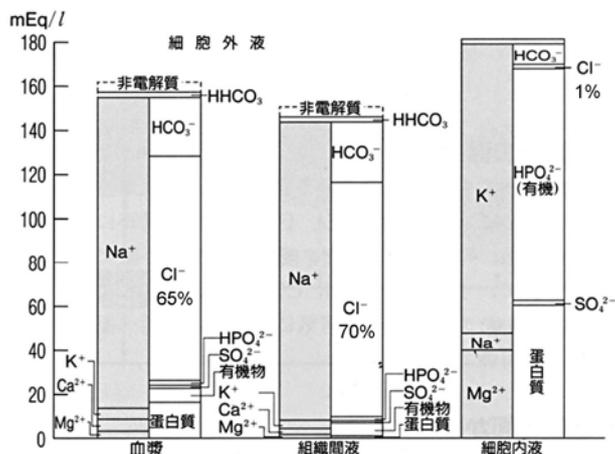
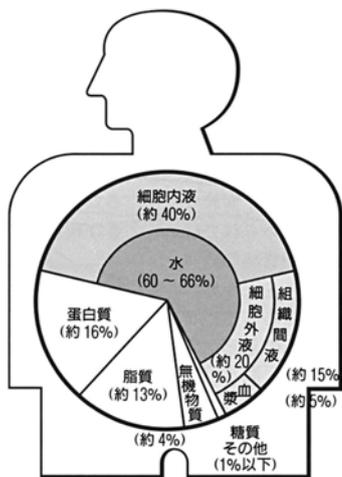
細胞内外の無機イオン分布を示す模型図

(江橋節郎先生のトレードマーク)

2. 細胞内液中でのクロライドイオン

細胞内液の電解質組成は、細胞外液のそれとは大きく異にしている (図1右)。故江橋節郎先生が講演時にいつも使われたスライド図 (図2) のように、細胞内と細胞

図2 細胞内外液のイオン分布



[from 図解生理学(中野昭一) 2000]

図1 体液の分布・組成とクロライドイオン

これらのイオン濃度差が、細胞の基本活性を支える静止時の負の膜電位(細胞内電位)の発生や、神経や筋肉における興奮性(正電位に向かう活動電位発生)の原因となっている(図3)。細胞内の Cl^- 濃度を決めているのは、主として $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-2Cl}^-$ コートランスポータ(NKCC)または $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$ コートランスポータ(NCC)と呼ばれる細胞内への Cl^- の取り込みをするタンパク質の働きと、 $\text{K}^+\text{-Cl}^-$ コートランスポータ(KCC)という細胞外への Cl^- の排出をもたらすタンパク質の働きのバランスである(図4)。神経や筋肉のような興奮性細胞では KCC の働きが優位であって、細胞内の Cl^- 濃度は低く保たれており、非興奮性細胞、とくに Cl^- 分泌細胞では NKCC/NCC の働きの方が優位であって細胞内 Cl^- は比較的高い濃度に保たれている。

3. クロライドイオンの細胞内流入は神経・筋肉の興奮性を抑制する

クロライドイオンの生体内での働きを端的に知るには、既にクローニングされたクロライドチャンネル遺伝子の異常によるチャンネル病(表1)が、いかなる症状を生み出すかを見るのが近道である。中枢神経に発現しているグリシンレセプター・アニオンチャンネル(GLRA1)遺伝子異常は過剰驚愕反応を主症状とするビックリ病を、GABAレセプター・アニオンチャンネル(GABA_AR)や電位依存性アニオンチャンネル(CIC2)の遺伝子変異はてんかんをもたらし、骨格筋に発現している CIC1 の変異は筋強直を主症状とする先天性ミオトニーをもたらす(表1)。従って細胞内 Cl^- 濃度が低く保たれている神経細胞や筋肉細胞では、これらのアニオンチャンネルの開口によってクロラ

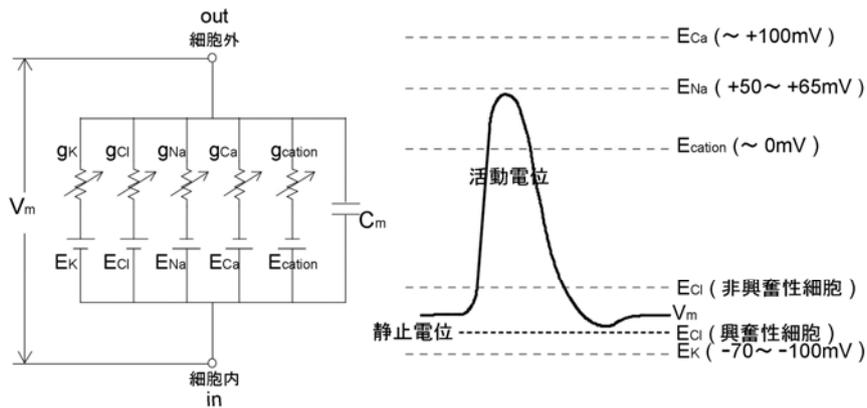


図3 細胞膜の等価回路と膜電位の成因

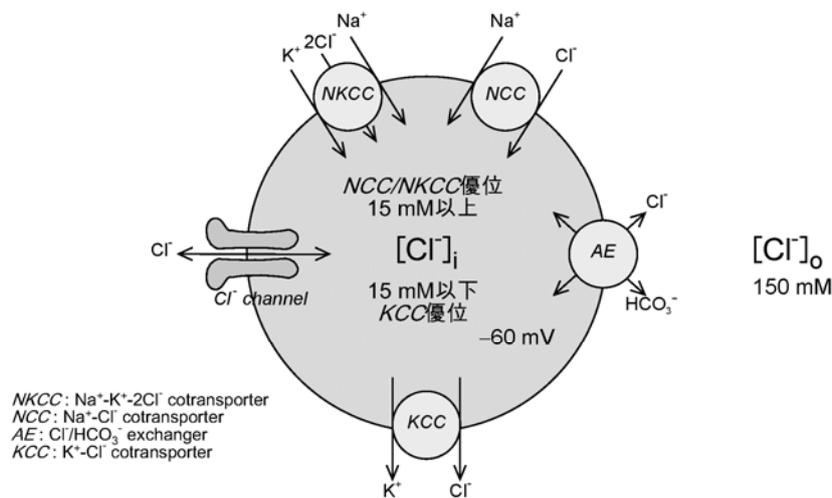


図4 細胞内クロライド・ホメオスタシス

表 1 アニオンチャンネル病の代表例

アニオンチャンネル名	部位	遺伝子病名	主症状
1) レセプター作動性			
グリシンレセプター $\alpha 1$	中枢神経	家族性ビックリ病	過剰驚愕反応
GABA _A レセプター $\beta 3$	中枢神経	アンジェルマン症候群 ブラダー・ウィリー症候群	重度精神遅滞、てんかん、歩行失調、笑い発作 筋緊張低下、知的障害、肥満、性腺発育不全
GABA _A レセプター $\gamma 2$	中枢神経	常染色体優性特発性てんかん	全般性てんかん、熱性てんかん
2) 電位依存性			
CIC1	骨格筋	常染色体劣性ミオトニー(ベッカー病)	筋強直
		常染色体優性ミオトニー(トムゼン病)	筋強直
CIC2	中枢神経	特発性全般性てんかん	全般性てんかん
CIC5	腎尿細管小胞膜	デント病	低分子量タンパク尿、腎結石
CIC7	破骨細胞波状膜	大理石骨病	骨硬化、易骨折性、造血障害
CICK2 α/β (barttin)	太いヘンレ上行脚	バーター病(III/IV型)	低クロール血症
3) サイクリックAMP依存性			
CFTR	多種腺上皮	嚢胞性線維症	閉塞性肺不全、腺外分泌不全、高塩性発汗、 胎便性イレウス
4) カルシウム依存性			
Bestrophin-1 (Best1)	網膜黄斑	ベスト病	視力低下、変視症

イオンは細胞内へと流入し、細胞内電位をよりマイナスとすることになり(図3参照)、興奮性を抑制する役割を果たすことがわかる。

4. クロライドイオンはプロトンポンプと協働して小胞輸送や骨吸収を支えている

電位依存性クロライドチャンネルとして分類されているCIC3~5(これは最近、H⁺との交換輸送をするトランスポーターであるとの再評価を受けている)は、主として細胞内小胞膜に存在して、液胞型プロトンポンプによるH⁺の小胞内蓄積を(電気的中性則によって)助けるためのCl⁻輸送を担っている。例えば、CIC3のノックアウトによって、神経伝達物質の放出(エキソサイトーシス)に障害がもたらされることが知られている(図5A)。腎尿細管上皮細胞の小胞膜に発現するCIC5の遺伝子変異は、低分子量タンパク質のエンドサイトーシスに障害をもたらして(図5A)、デント病というアニオンチャンネル病を引き起こす(表1)。

破骨細胞の波状縁に存在するCIC7は、液胞型プロトンポンプによる骨吸収窩における酸性化を助け、骨吸収を促進する役割を果たしている(図5B)。従って、

CIC7遺伝子変異は、骨吸収の障害を原因とする症状を示す大理石骨病を発症することになる(表1)。

5. クロライドイオンの経上皮細胞輸送が腎尿細管再吸収や腺分泌に寄与している

上皮膜におけるクロライドの吸収・分泌は経細胞輸送であり、2枚の細胞膜を横切る必要がある。上皮細胞内のCl⁻濃度は比較的高いので(図3参照)、細胞外から細胞内に流入する時に能動的なメカニズムを必要とする(図6)。例えば、遠位尿細管の管腔側膜にはNa⁺流入に駆動されてCl⁻を二次的能動輸送するNa⁺-Cl⁻コードトランスポーター(NCC)がこれを担う(図6A)。太いヘンレ上行脚では、NCCのかわりにNa⁺-K⁺-2Cl⁻コードトランスポーター(NKCC)がこれを担う(図6A)。Cl⁻分泌を担当する多くの腺上皮細胞では、血液側膜にこのNKCCが発現しており、この働きがCl⁻の細胞内流入をもたらす(図6B)。いずれも流入したCl⁻が出口側の細胞膜から流出する際には、受動的な経路で充分であり、Cl⁻チャンネルがその通路を与える。太いヘンレ上行脚においてその通路を与えるCICK2の遺伝子変異はIII型バーター病をもたらし、CICK2の β サブユニットであるbarttinの

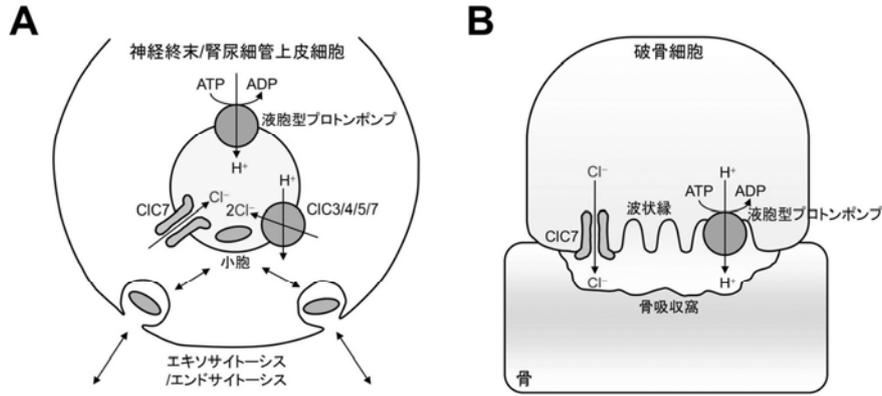


図5 小胞輸送と骨吸収におけるクロライドの役割

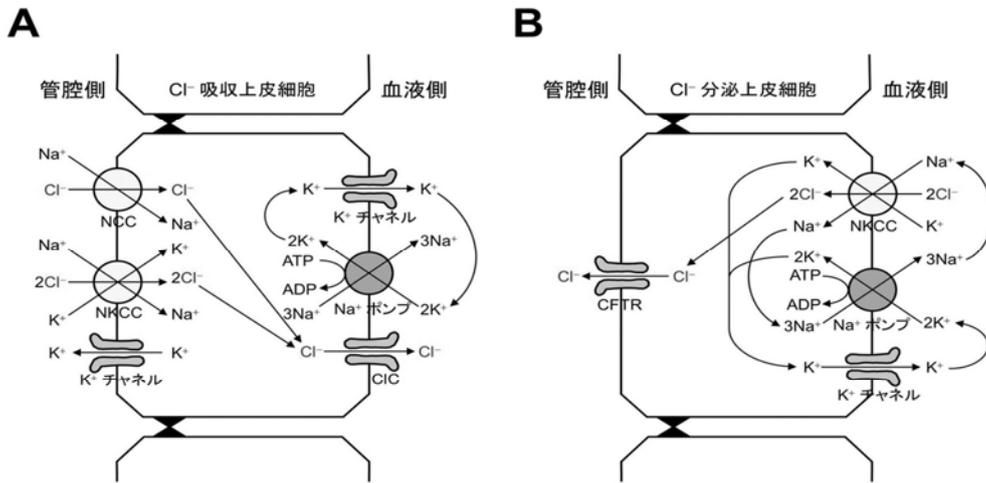


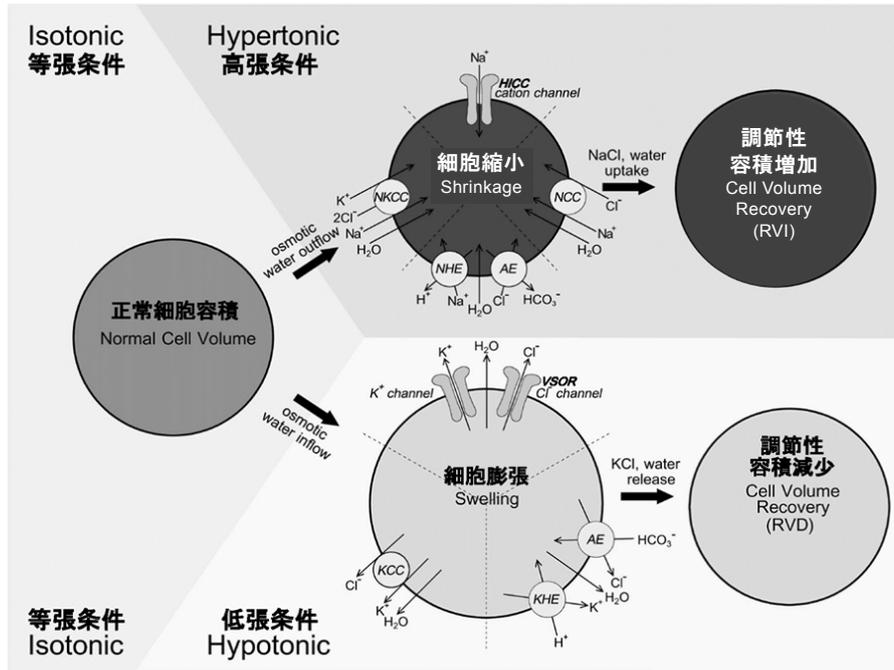
図6 上皮膜におけるクロライド吸収・分泌メカニズム

変異はIV型バーター病をもたらして、低クロール血症を発症させる(表1)。肺気管支や腭外分泌腺や汗腺や腸管などの Cl^- 分泌腺上皮細胞の管腔側膜において、 Cl^- の出口通路を与えるのはサイクリック AMP 依存性 Cl^- チャネルの CFTR である(図6B)。CFTR の遺伝子変異は、気道粘膜の過度粘稠化による閉塞性肺不全や腭外分泌不全、高塩性発汗、胎便性イレウスなどを主症状とする嚢胞性線維症(CF)をもたらすことになる(表1)。

6. クロライドイオン輸送は細胞容積調節や細胞移動に不可欠の役割を果たしている

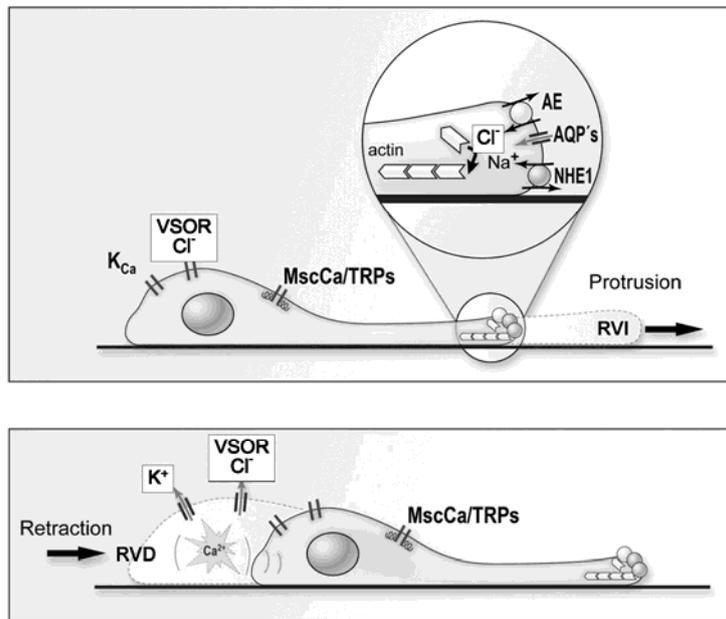
動物細胞の殆どは、細胞内外の浸透圧環境の乱れ(これは種々の生理的細胞活動や病理的要因でもたら

される)がたとえ持続しても、一時的な浸透圧性膨張や縮小の後に正常容積近くへと回復させる容積調節能を持っている。細胞縮小後の調節性容積増加(regulatory volume increase: RVI)は主として細胞外からの NaCl の流入とそれに駆動された水の流入によって、細胞膨張後の調節性容積減少(regulatory volume decrease: RVD)は主として細胞内からの KCl の流出とそれに駆動された水の流出によって実現される(図7)。それらの容積調節性 Cl^- 輸送には NKCC、NCC、KCC やアニオン($\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$)交換トランスポータ(AE)などのクロライドトランスポータと、 Cl^- チャネルが関与する。特に、RVD 時に主役を果たすのは VSOR (volume-sensitive outwardly rectifying) Cl^- チャネルであるが、その遺伝子クローニングは未だ成功されておらず、分子同定は残された課題で



[from Okada 2004 Cell Biochem Biophys 41, 233-258]

図7 浸透圧負荷下における細胞容積調節のメカニズム



[from Hoffmann, Lambert & Pedersen 2009 Physiol Rev 89, 193-277]

図8 細胞移動メカニズムにおけるクロライド輸送の役割

ある。

細胞移動時における走行方向先端部の伸張には RVI と同じメカニズムが、逆方向の細胞縮小・後退には

RVD と同じ分子メカニズムが動員されており、いずれにおいても Cl^- 輸送が重要な役割を果たしている(図8)。

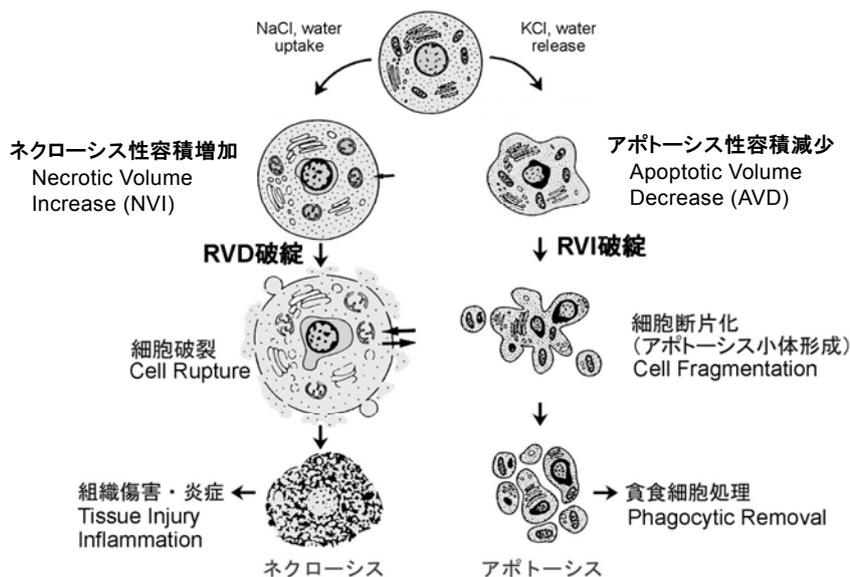
7. クロライドイオン輸送は細胞死誘導過程にも重要な役割を果たしている

アポトーシス死には持続的な細胞縮小化が伴われるのに対し、ネクローシス死には持続的な細胞膨張が伴われる(図9)。アポトーシスの実行酵素であるカスパーゼの活性化に先んじて、アポトーシス性容積減少(apoptotic volume decrease: AVD)がもたらされ、その後には容積調節を示すことなく(RVI 破綻のまま)細胞縮小は持続し、ついには細胞とクロマチンの断片化がもたらされる(図9右)。一方、ネクローシスの際にはネクローシス性容積増加(necrotic volume increase: NVI)がもたらされ、その後には容積調節を示すことなく(RVI 破綻のまま)細胞膨張は持続し、ついには細胞は破裂する(図9左)。

アポトーシス時の AVD 誘導は、容積調節性の K^+ チャネルおよび VSOR Cl^- チャネルの異常活性化による細胞外への KCl 流出(とそれに駆動される水流出)の持続に起因する(図10上)。脳ニューロンや心筋細胞などの虚血・再灌流性のアポトーシス死も同様の機序による。癌細胞の抗癌剤シスプラチンによるアポトーシス死からの耐性獲得には、VSOR 活性や容積調節性 K^+ チャネル活性の消失が原因することを私達は明らかにしている。なお、アポトーシス時の RVI 破綻には、RVI をもたらず Na^+ 流入の通路を与える HICC カチオンチャネルの抑

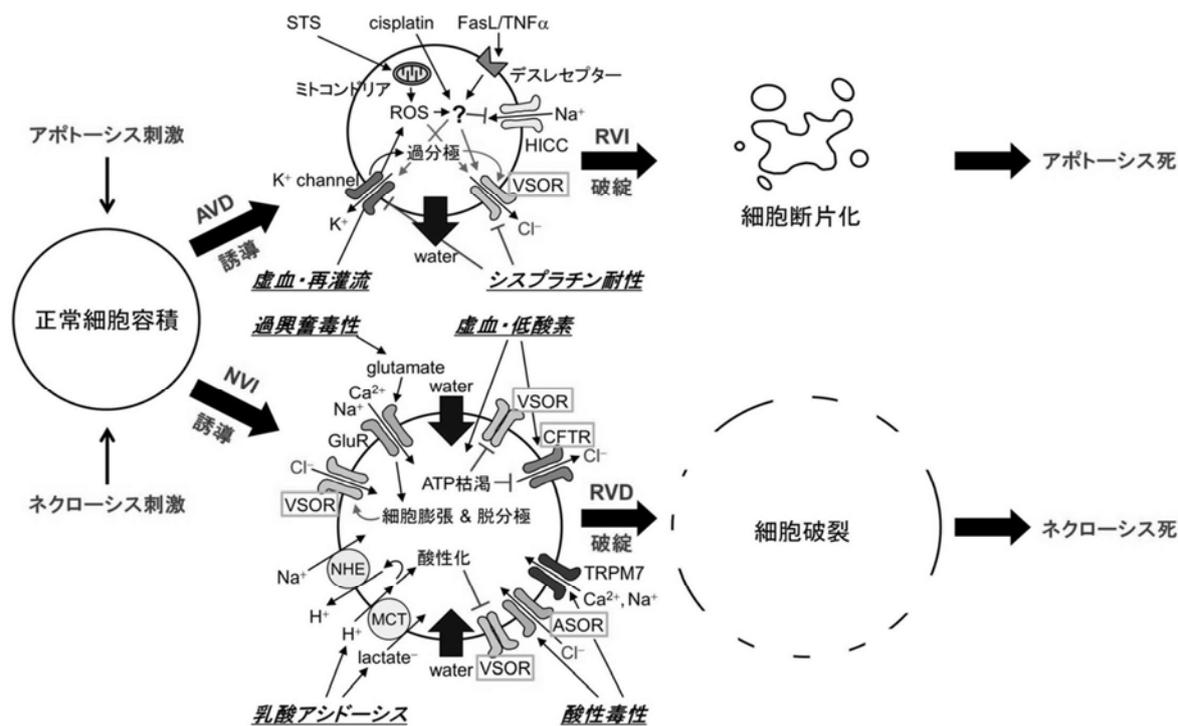
制が関与することも明らかにしている。

ネクローシス時の NVI の誘導には、種々の経路からの $NaCl$ 流入(と水流入)が関与する(図10下)。ニューロンの過興奮毒性(グルタミン酸毒性)によるネクローシス死は、グルタミン酸レセプター・チャネルを介する Na^+ と Ca^{2+} の流入と、それによってもたらされる脱分極と細胞腫脹が VSOR の活性化とそれを介する Cl^- の流入をもたらすことに起因する。グリア細胞やニューロンの乳酸アシドーシスによるネクローシス死には、プロトン-乳酸コトランスポータ(MCT)の活性化と、それによって誘導される Na^+ - H^+ 交換トランスポータ(NHE)の活性化による Na^+ と $lactate^-$ の流入が関与する。強酸性毒性による多くの細胞種におけるネクローシス死には、TRPM7 カチオンチャネルの活性化による Na^+ と Ca^{2+} の流入と、ASOR(acid-sensitive outwardly rectifying) Cl^- チャネルの活性化による Cl^- 流入がもたらす NVI 発生と、細胞内酸性化の結果としてもたらされる VSOR 抑制によって RVD が破綻することが関与することを私達は明らかにしている。また、虚血・低酸素時における ATP の枯渇は、高分子の分解化などによる細胞内浸透圧増をもたらし細胞を腫脹させる一方で、多くの細胞で RVD に主役を果たす VSOR や心筋細胞で RVD に関与する心筋型 CFTR を(いずれも ATP 依存性であることから)抑制して、ネクローシス死をもたらすことになる。



[from Okada, Maeno & Mori 2004 Adv Exp Med Biol 559, 205-209]

図9 細胞死誘導過程における容積調節異常



[from Okada, Sato & Numata 2009 J Physiol (London) 587, 2141-2149]

図10 細胞死誘導におけるクロライドチャネルの役割

8. まとめ

ふりかえって考えると、近代生理学は図2で示された細胞内外イオン分布差をめぐって展開されてきたように見える。神経活動電位の発生(脱分極オーバershoot)とそれからの回復(再分極化)が、 Na^+ (流入)電流と K^+ (流出)電流によるというホジキンとハックスレーの学説にはじまり、沼正作ら多くの人々による電位作動性 Na^+ チャネルと K^+ チャネルの遺伝子クローニングにいたる大きな研究の波がその第一である。そして、江橋節郎らによる細胞内 Ca^{2+} の役割の解明と、それにつづく Ca^{2+} ポンプと電位作動性 Ca^{2+} チャネルの遺伝子クローニング、そして Ca^{2+} に関する数々の細胞内シグナリングの解明にいたる大きな波がそれに続いた。現在は、興奮性細胞のみならず非興奮性細胞にも発現していて、多くの環境因子に対するセンサーとしても働くことで注目されている非電位作動性 Ca^{2+} 流入路としてのTRPカチオンチャネルの研究を中心とした波の高みにある。本稿で述べてきたように、体液中の主たるアニオンである Cl^- もまた、興奮性細胞のみならず非興奮性細胞の細胞機能において重要な役割を果たしている。更には、細

胞容積調節やそれを内包する細胞移動や細胞分裂において、そして細胞死誘導においてもクロライドイオンは極めて重要な働きをしている。このような細胞生死を決定するクロライドを輸送するアニオンチャネルであるVSORやASORは、残念ながら未だ分子同定されていない。これらの分子同定によって、近い内に新しい大きな研究の波がもたらされるものと信じている。

講演者略歴

自然科学研究機構・理事、副機構長、生理学研究所・所長、総合研究大学院大学・教授、生理科学専攻・専攻長。医学博士。

1943年生まれ。1970年京都大学医学部卒業。1981年医学部生理学教室・講師。1992年岡崎国立共同研究機構(現在の自然科学研究機構)生理学研究所・教授および総合研究大学院大学・教授。生理学研究所・主幹、副所長を経て、2007年より生理学研究所・所長、自然科学研究機構・副機構長、総合研究大学院大学生命科学研究科生理科学専攻・専攻長。2010年より自然科学研究機構・理事。日本生理学会・会長、代表理

事。アジア-オセアニア生理科学連合・会長。

著 書

1. Y. Okada (ed.) (2011) “*Patch Clamp Techniques - From Beginning to Advanced Protocols*” Springer-Verlag, Tokyo (in press)
2. 岡田泰伸(編)(2011)“最新パッチクランプ実験技術法”吉岡書店、京都
3. 岡田泰伸(監訳者)(2011)“ギャノング 生理学”(原書 23 版)丸善、東京
4. Y. Suketa, E. Carafoli, M. Lazdunski, K. Mikoshiba, Y. Okada & E. M. Wright (eds). (2000) “*Control and Disease of Sodium Dependent Transportation Proteins and Ion Channels*” Elsevier, Amsterdam
5. Y. Okada (ed.) (1998) “*Cell Volume Regulation: The Molecular Mechanism and Volume Sensing Machinery*” Elsevier, Amsterdam
6. Y. Okada, S. Oiki, S. Yamagishi & K. Hama (eds.) (1994) “*Cl⁻ Channel: Molecular and Cellular Physiology*” Center for Academic Publications Japan, Tokyo