

2006年6月13日

独立行政法人 科学技術振興機構

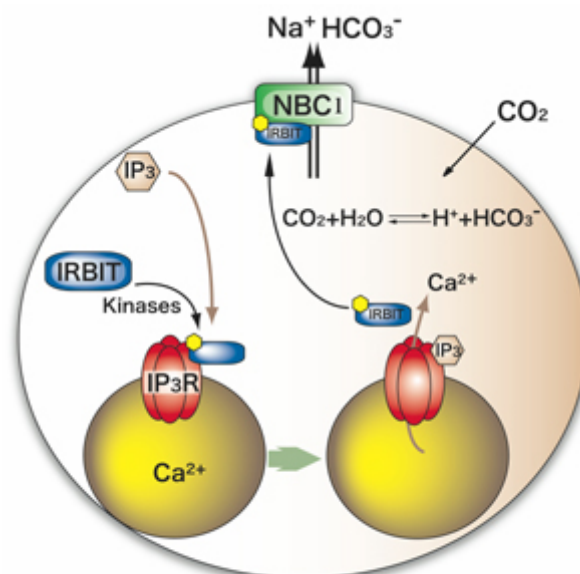
独立行政法人 理化学研究所

## 細胞内 pH バランスの新たな制御機構の解明

- pH の異常に起因する病気の治療につながる可能性 -

私たちの身体をつくる細胞。細胞の中の酸性度 (pH) は、生体内で産出される「二酸化炭素」が「重炭酸イオン」に変換され、細胞膜を輸送されることにより、ダイナミックに変化しています。細胞内の pH は、細胞の集まりである臓器の働きにも関係しています。例えば膵臓 (すいぞう) の細胞は、重炭酸イオンの分泌を行うことにより胃酸を中和する働きを担っています。また、腎臓では、血液内の pH を制御していますが、このバランスが崩れた場合、動脈内における血液の pH が低く (酸性) になり、pH 異常の影響を受けやすい臓器である眼球に、緑内障、白内障、角膜障害、盲目などの異常を引き起こします。

科学技術振興機構と理研脳科学総合研究センター発生神経生物研究チームらは、この細胞内の pH を制御する新規のタンパク質分子を明らかにしました。細胞内のカルシウム濃度を調整している「イノシトール三リン酸レセプター (IP<sub>3</sub>R)」に「イノシトール三リン酸 (IP<sub>3</sub>)」が結合することで IP<sub>3</sub>R から放出されるアービット (IRBIT) という分子が、細胞表面に存在する「ナトリウム・重炭酸イオン共輸送体 (NBC)」に結合し、そのイオン輸送活性を飛躍的に上昇させることを発見したのです。今回の発見からさらに研究が進めば、将来的には、pH のバランスが崩れることにより起こる病気の治療や、消化酵素などの分泌不全によるヒトの病態への医学的応用が期待されます。



(図) 今回明らかにした  
細胞内 pH 調節の新たな機構

2006年6月13日  
独立行政法人 科学技術振興機構  
独立行政法人 理化学研究所

## 細胞内 pH バランスの新たな制御機構の解明

### - pH の異常に起因する病気の治療につながる可能性 -

JST（理事長 沖村憲樹）と独立行政法人理化学研究所（理事長 野依良治）は共同で、細胞内のpHを制御する新規のタンパク質分子を明らかにしました。

細胞内のpH<sup>注1</sup>は、生体内で産出される二酸化炭素が重炭酸イオンに変換されて細胞膜を輸送されることにより、ダイナミックに変化しています。そして、細胞内のpHは、細胞の集まりである臓器の働きにも関係しています。例えば膵臓(すいぞう)の細胞は、重炭酸イオンの分泌を行うことにより胃酸を中和する働きを担っています。また、腎臓は血液内のpHを制御していますが、このバランスが崩れた場合、動脈内における血液のpHが低く（酸性）になり、pH異常の影響を受けやすい臓器である眼球に、緑内障、白内障、角膜障害、盲目などの異常を引き起こします。

今回、本研究グループは、細胞内のイノシトール三リン酸レセプター(IP<sub>3</sub>R)<sup>注2</sup>にイノシトール三リン酸(IP<sub>3</sub>)が結合するときに、IP<sub>3</sub>Rから放出されるタンパク質分子であるアービット(IRBIT)<sup>注3</sup>が、細胞表面に存在するナトリウム・重炭酸イオン共輸送体(NBC)<sup>注4</sup>に結合し、そのイオン輸送活性を飛躍的に上昇させることを発見しました。従来、NBCにはKタイプ(Kidney:腎臓タイプ)とPタイプ(Pancreas:膵臓タイプ)という2種類のサブタイプが報告されていましたが、その分子メカニズムの違いは不明でした。今回の活性の増加は、Pタイプのみ作用し、Kタイプには影響を及ぼしませんでした。これは、NBCのタイプ間での制御機構の違いを初めて明らかにしたもので、外分泌機能の新しいメカニズムを理解する上で重要な発見です。さらに、IP<sub>3</sub>Rを介した細胞内のpH調整機構は、従来の見つけていた制御機構とは異なる新しいものとして注目されます。

これらの発見は、将来的には、pHのバランスが崩れることにより起こる病気の治療や、消化酵素などの分泌不全によるヒトの病態への医学的応用が期待されます。

本研究成果は、JSTの発展研究「カルシウム振動プロジェクト」(研究代表者:御子柴克彦、東京大学医科学研究所 教授)と理研脳科学総合研究センターの共同研究であり、米国の学会誌『Proceedings of the National Academy of Sciences (米国アカデミー紀要)』オンライン版に近日中に公開され、誌面では6月20日号に掲載されます。

## 1. 研究の背景

細胞内の酸性-アルカリ性を示すpHは、生体内で産出される二酸化炭素により変化しています。細胞内のpH調整の一部は、二酸化炭素が重炭酸イオンに変換されて細胞膜を輸送されることによって行われており、例えば膵臓の腺房中心細胞は、重炭酸イオンを分泌し、胃酸を中和する働きを担っています。また、腎臓は血液内のpH濃度を制御していますが、このバランスが崩れた場合、動脈内における血液のpHが低く（酸性）なり、pH異常の影響を受けやすい臓器である眼球に、緑内障、

白内障、角膜障害、盲目などの異常を引き起こします。

今までに、膵臓の重炭酸イオンの分泌は、セクレチンなどのホルモンを介してサイクリックAMP<sup>5</sup>濃度が上昇し、細胞膜を貫通しているタンパク質であるナトリウム・重炭酸ナトリウム共輸送体(NBC) (図 1) の活性上昇を引き起こすことにより、行われることが分かっています。

また、NBCには、Pタイプ (膵臓-Pancreas-に多いためPタイプと命名)とKタイプ (腎臓-Kidney-に多いためKタイプと命名)という 2 種類のサブタイプが報告されました。Pタイプは膵臓などの外分泌細胞に多く存在しますが、脳や目など種々の組織にも発現しており、局所的に働いています。もう一方のKタイプは、腎臓に限定して存在しており、血液中のpHを制御することによりカラダ全体に働きます。しかし、この 2 つのタイプを区別する分子メカニズムの違いは、これまで不明でした。

一方、細胞内に普遍的に存在するIP<sub>3</sub>Rは、細胞内のカルシウム濃度を調節することにより、細胞分裂、細胞増殖、細胞死、受精、発生、記憶や学習といった多岐にわたる生命現象において重要な役割を果たしています。本研究グループは今までに、IP<sub>3</sub>RにIP<sub>3</sub>が結合することによりIP<sub>3</sub>Rから放出される新規分子IRBITの発見に成功していました。

## 2. 研究内容と成果

今回、本研究グループはIP<sub>3</sub>Rから放出されるIRBITの標的分子をマウスの小脳からスクリーニングすることによって、それがNBCであることを見いだしました。NBCにはPタイプとKタイプの 2 種類があり、PタイプのNBCにおける初めの 85 アミノ酸が、Kタイプでは配列の違う 41 アミノ酸に置き換わっているのですが、残りの 90%以上の部分は同じであり、これまで 2 つのタイプの活性化機構の違いは理解されていませんでした。ところが、IRBITとNBCの結合部位を検討した結果、IRBITはPタイプのNBCの最初の 62 アミノ酸は認識しますが、Kタイプは全く認識しない (結合しない) ことが明らかになりました。

次に、NBCのイオン輸送活性を評価するために、アフリカツメガエルの卵母細胞にRNAを打ち込んでタンパク質 (NBCやIRBIT) を発現させ、電気生理学的に評価しました (図 2)。PタイプのNBCはIRBITと共に発現させると、NBC単独に比べて活性が約 7 倍に上昇しました。一方、Kタイプは最初から高い活性を示しましたが、IRBITとの共発現による活性の大きな変化はありませんでした。さらに、リン酸化部位に変異を入れたPタイプのNBCにおいても、IRBITとの共発現による活性の変化は示されませんでした。これらのことにより、IP<sub>3</sub>Rから放たれたIRBITにより、PタイプのNBCが活性化されること、また、その活性化には、NBCのリン酸化部位が大変重要であることが明らかになりました (図 3)。

今回の発見での重要なポイントは、

- (1) 細胞内で種々の重要な役割を担うIP<sub>3</sub>Rから放出される新規分子IRBITが、別のタンパク質NBCに作用してその活性を上げています。
- (2) NBCの活性化は、今までサイクリックAMPを介する経路しか分かっていませんでしたが、今回全く新しい活性経路が見つかりました。
- (3) NBCは、2つのタイプがありますが、その制御機構に違いがあることが初めて

分かりました。

(4) NBCは細胞内のpH調整に関わっているので、IP<sub>3</sub>Rが細胞内のpH調整を行うという新しい機能をもっている可能性があります。

ということです。

さらに、この発見は、昨年、本研究グループが米国の科学誌「Science」に発表したIP<sub>3</sub>Rの2型・3型の働きを止めたダブルノックアウトマウスにおいて、唾液腺や膵臓など消化器系の機能不全が見いだされたことに非常に関連すると考えられ、IP<sub>3</sub>Rから放出されるIRBITによる新しい情報連絡機構の存在が明らかになりつつあります。

### 3. 今後の展開

NBCの自然発生的な変異によって引き起こされる多くの病態例が報告されています。その症状は、重篤な腎臓のアシドーシス<sup>注6</sup>患者とよく似た症状を示します。これは動脈内の血液のpHが低くなり、視覚の異常（緑内障、白内障、角膜障害、盲目など）を引き起こすものです。また、数例の患者からは、膵臓での消化液分泌不全や、精神の遅滞、低身長が報告されています。このことから、NBCはカラダ全体の酸・アルカリのバランス調整だけではなく、限られた組織でのホメオスタシス<sup>注7</sup>にも関与していることが推測できます。今後は、病態を引き起こす変異部位とIRBITの関連を明らかにすることにより、新たな治療方法の開発が期待されます。

(研究領域等)

戦略的創造研究推進事業 発展研究(SORST)

研究プロジェクト名:カルシウム振動プロジェクト

研究代表者:御子柴 克彦

研究実施期間:平成18年1月～平成20年12月

(問い合わせ先)

東京大学医科学研究所 教授

独立行政法人理化学研究所 脳科学総合研究センター

発生発達研究グループ グループディレクター

発生神経生物研究チーム チームリーダー

御子柴 克彦(みこしば かつひこ)

Tel : 03-5449-5316 / Fax : 03-5449-5420

Mail : mikosiba@ims.u-tokyo.ac.jp

独立行政法人 科学技術振興機構

戦略的創造事業本部 特別プロジェクト推進室

黒木 敏高(くろき としたか)

Tel : 048-226-5623 / Fax : 048-226-5703

Mail : t2kuroki@jst.go.jp

(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室 報道担当

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

Mail : koho@riken.jp

## <用語説明>

### 注 1 pH

溶液の酸性度を示す一般的な尺度です。動脈血液の pH の標準値は 7.4 であり正常域は 7.36 から 7.44 の範囲になります。7 が中性で、それより小さいと酸性、大きいとアルカリ性になります。

### 注 2 イノシトール三リン酸レセプター(IP<sub>3</sub>R)

細胞内のカルシウム貯蔵庫の一つである小胞体膜上に存在するカルシウム放出チャネル（カルシウムの流れを調節するコック（栓））です。IP<sub>3</sub>（イノシトール三リン酸）と結合することでチャネルが開き、小胞体内のカルシウムを細胞質に放出します。IP<sub>3</sub>Rのカルシウム放出活性は低濃度のカルシウムで活性化され、高濃度で抑制されます。

### 注 3 IRBIT

マウス小脳において、IP<sub>3</sub>Rの結合分子としてIP<sub>3</sub>が結合する時に放出される新規なタンパク質に対し、本研究グループが命名(**IP<sub>3</sub>Receptor Binding Protein released with Inositol 1,4,5-Trisphosphate**)しました。530 残基のアミノ酸からなる新規の可溶化タンパク質です。リン酸化された状態でIP<sub>3</sub>Rと結合しており、セカンドメッセンジャーのIP<sub>3</sub>がくると置き換わって遊離されます。

### 注 4 重炭酸ナトリウム共輸送体(NBC)

細胞膜に存在するイオン輸送タンパク質。腎臓では 1:3、膵臓では 1:2 の割合でナトリウムイオンと重炭酸イオン(炭酸水素イオン)を同方向に輸送します。人においては重炭酸イオンの輸送により尿のアルカリ化や全身の制酸を行っています。同遺伝子からスプライシングにより数種類のタンパク質がつくられます。

### 注 5 サイクリック AMP

ATP（アデノシン三リン酸）から合成される細胞内の情報伝達物質です。その濃度は、細胞の増殖、分化、栄養、適応状態に左右され敏感に変動します。また、各種のホルモンやプロスタグランジンなどの生理活性物質により濃度が増加することも分かっています。生体情報はサイクリック AMP を介したアデニル酸シクラーゼとプロテインキナーゼの 2 段階のカスケード反応により増幅され伝達されます。

### 注 6 アシドーシス

酸性血症とも言います。通常、人の血液の酸塩基バランスには常に一定の pH7.4

になるように保たれています。しかし、動脈血の pH が 7 以下になると、シナプス伝達が抑えられ中枢神経の活動が抑制され、錯乱から昏睡状態になり死に至ります。その症状のことを指します。

### 注 7 ホメオスタシス

外界の環境の変化に対して、生体を安定した恒常的状态に保とうとする仕組みのことです。生物が生物である必要条件の一つであり、健康を定義する重要な要素となっています。この作用を主に自律神経系や内分泌系、それに免疫系が行っています。

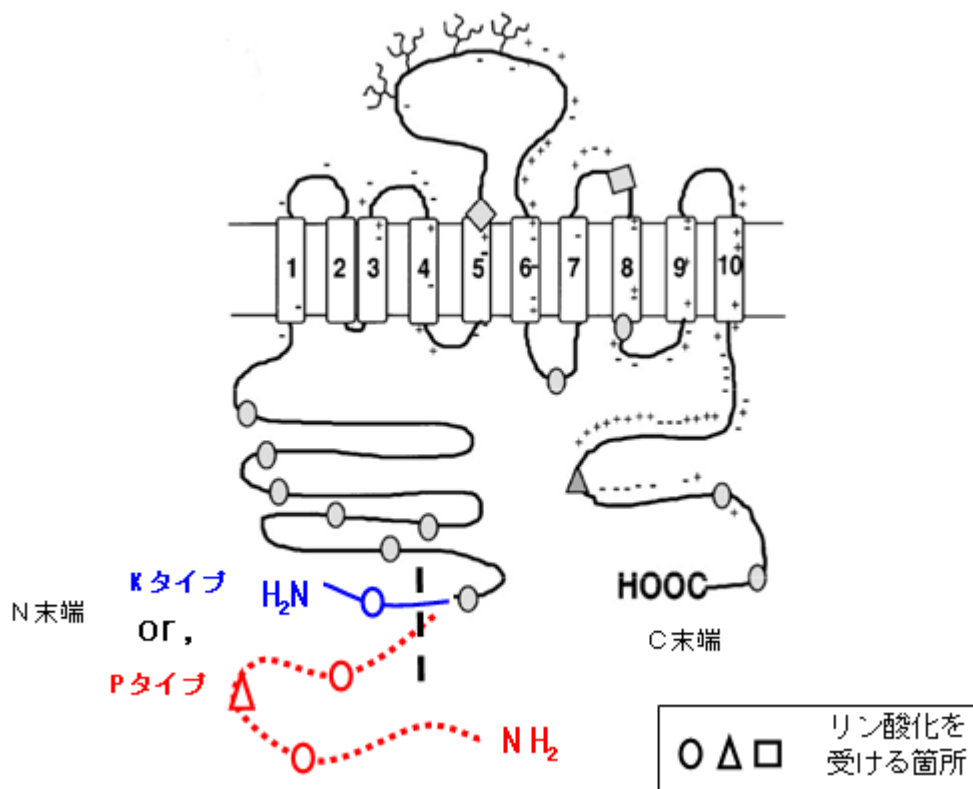


図1 NBCの全体構造図

10個の膜貫通ドメインを持ち、細胞内にN末端とC末端が存在しています。N末端のアミノ酸配列にKタイプとPタイプの違いがあります。

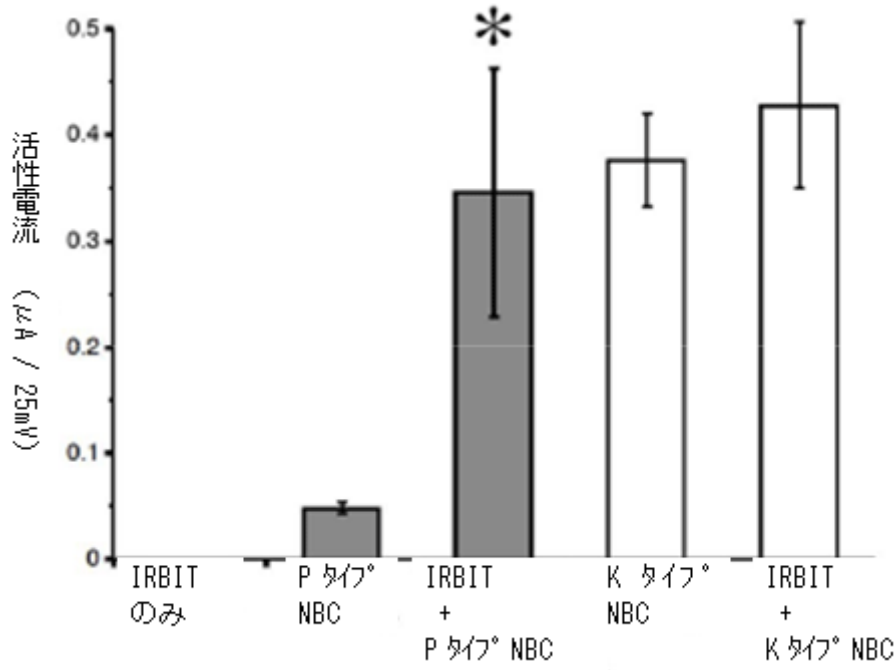


図2 アフリカツメガエルの卵母細胞に強制発現したNBCの電気生理学的な活性評価 PタイプNBCはIP3Rより放出される新規分子(IRBIT)と共発現することにより輸送活性が飛躍的に上昇しました。

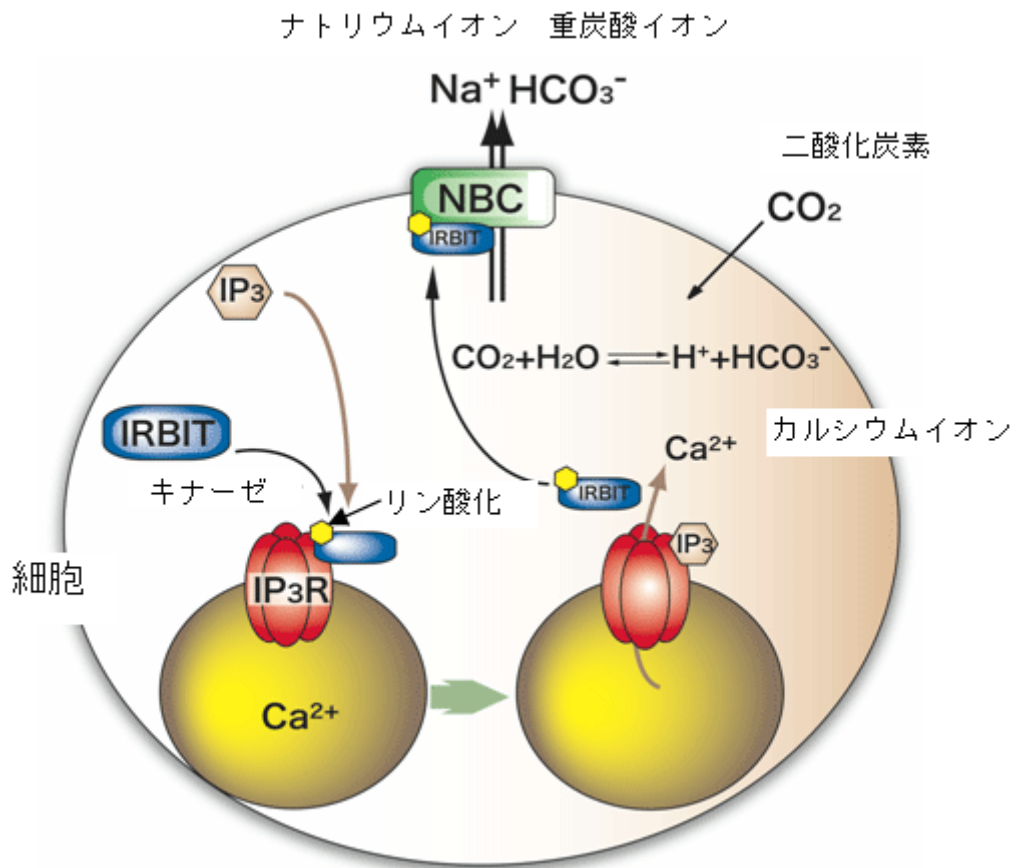


図3 NBC 活性化の仕組み

IP<sub>3</sub>Rから放出されたIRBITはリン酸化された状態でNBCを活性化します。PタイプのNBCは、膵臓・神経系などの器官に多く存在します。NBCは近位尿細管型アシドーシス（緑内障、白内障、低身長、精神遅滞などを引き起こす）の原因遺伝子です。

【論文名】

(英語)

"IRBIT, an inositol 1,4,5- trisphosphate receptor-binding protein, specifically binds to and activates pancreas-type Na<sup>+</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> cotransporter 1 (pNBC1)"

(日本語)

「IP<sub>3</sub>Rから放出されるアービット(IRBIT)は特異的に膵臓タイプのナトリウム/重炭酸イオン共輸送体に結合し輸送活性を飛躍的に上昇させる」