

【目的】腎系球体でろ過されたマグネシウムは大部分がヘンレ上行脚で再吸収され、生体内のマグネシウム濃度が厳密にコントロールされている。上皮細胞のタイトジャンクション (TJ) に存在するパラセリン-1 がマグネシウムの輸送体として示唆されているが、その機能解析は行われていない。本研究では、パラセリン-1 を培養細胞に発現させ、細胞内分布と二価カチオン輸送機能を解析し、プロテインキナーゼ A (PKA) の阻害を介した脱リン酸化の影響を検討した。

【方法】イヌ腎臓由来の MDCK 細胞に、FLAG タグを融合したラットパラセリン-1 を安定発現させた。パラセリン-1 の発現は、ウエスタンブロットと蛍光免疫染色により確認した。バリアー機能は上皮膜間電気抵抗値 (TER) の測定により評価した。管腔側から血管側への $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 輸送量、またはマグネシウムキレート剤 XB-1 を用いた Mg^{2+} の輸送量の測定により二価カチオン輸送機能を求めた。

【結果および考察】FLAG タグを融合したパラセリン-1 を MDCK 細胞に発現させると、推定サイズの 23 kDa 付近にバンドが見られた。内在性 TJ 構成タンパク質のオクルディンや ZO-1 の発現量は変化せず、パラセリン-1 は TJ に分布することが確認された。パラセリン-1 の発現により TER は増加したが、FITC ラベルした高分子デキストランの輸送に変化はなかった。一方、パラセリン-1 の発現により、 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ と Mg^{2+} の輸送が増加したことから、パラセリン-1 は二価カチオンに対して選択的なポアを形成することが示唆された。PKA 阻害剤の H-89 処理により、パラセリン-1 による TER と二価カチオン輸送量の増加が阻害された。以上のことから、パラセリン-1 は PKA を介したリン酸化反応により、マグネシウム輸送機能が調節されていると示唆される。