

## 28Q-pm11

胃プロトンポンプ及びナトリウムポンプに対するCLC-5の機能

○高橋 佑司<sup>1</sup>, 降矢 裕史<sup>1</sup>, 大平 裕太<sup>1</sup>, 田淵 圭章<sup>2</sup>, 五十里 彰<sup>3</sup>, 坂本 尚登<sup>4</sup>,  
内藤 一郎<sup>5</sup>, 真鍋 康二<sup>5</sup>, 内田 信一<sup>6</sup>, 佐々木 成<sup>6</sup>, 浅野 真司<sup>7</sup>, 森井 孫俊<sup>1</sup>,  
竹口 紀晃<sup>1</sup>, 酒井 秀紀<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>富山大院薬, <sup>2</sup>富山大生命研セ, <sup>3</sup>静岡県大薬, <sup>4</sup>北里大医,  
<sup>5</sup>重井医学研, <sup>6</sup>東京医歯大院, <sup>7</sup>立命館大情報理工)

【目的】胃酸 (HCl) の  $H^+$  は  $H,K$ -ATPase によって分泌されるが、 $Cl^-$  分泌を担う分子実体はわかっておらず、胃酸分泌機構の詳細は未解明である。我々は、最近、CLC-5 が胃酸分泌細胞に発現していることを見出した。本研究では、CLC-5 が  $H,K$ -ATPase 及び  $Na,K$ -ATPase に及ぼす効果を検討した。

【方法】CLC-5 Tet-on system を構築し、CLC-5 発現を誘導した細胞 (Tet-on) と誘導しない細胞 (Tet-off) における細胞膜画分を調製した。 $H,K$ -ATPase 活性及び  $Na,K$ -ATPase 活性は、特異的阻害剤である SCH 28080 及び ouabain で阻害される成分として算出した。可溶化した細胞膜画分を用いて免疫沈降し、各タンパク質をウェスタンブロット法で検出した。

【結果および考察】CLC-5 Tet-on system において、 $H,K$ -ATPase 及び  $Na,K$ -ATPase の膜画分における発現量は CLC-5 の発現によって変化しなかった。CLC-5 発現 (Tet-on) によって、 $H,K$ -ATPase 活性は有意に上昇したが ( $30.9 \pm 2.5\%$ ,  $p < 0.01$  ( $n = 6$ )),  $Na,K$ -ATPase 活性は変化しなかった ( $n = 6$ )。免疫沈降実験の結果、CLC-5 は  $H,K$ -ATPase と免疫共沈降することがわかったが、 $Na,K$ -ATPase とは免疫共沈降しなかった。さらに、CLC-5 発現により、 $H,K$ -ATPase の  $^{86}Rb^+$  取り込み活性が上昇し ( $28.2 \pm 5.9\%$ ,  $p < 0.01$  ( $n = 5$ ))、 $H,K$ -ATPase の EP 量も上昇した ( $48 \pm 18\%$ ,  $p < 0.05$  ( $n = 4$ ))。以上の結果より、CLC-5 は胃酸分泌細胞の分泌側膜において、 $H,K$ -ATPase と分子会合し、活性調節因子として機能しているものと考えられる。