

3月26日(水) D会場 パシフィコ横浜会議センター 3F 304
一般シンポジウムS03 10:00~12:00

創薬ターゲットとしての水チャネル

Water Channel (Aquaporin) as a Target for Drug Development

石橋 賢一¹, 磯濱 洋一郎²(¹明治薬科大学病態生理学, ²熊本大学大学院医学薬学研究部)

水チャネル(アクアポリン aquaporin AQP)はヒトでは13個(AQP0~AQP12)存在しているが先天的欠損はAQP0/1/2/3/7において知られており、またすべてのAQPについてノックアウトマウスが作成されている。またAQPが水以外にも尿素、グリセリン、砒素、ホウ素、アンモニア、過酸化水素、二酸化炭素、一酸化窒素などを輸送することも明らかになってきており、AQPをターゲットにした創薬によって新たな治療法の開発が期待できる。今回全身にわたる研究者に病態生理を中心に最新の知見を発表していただき、創薬によるあらたな研究の展開の見通しについても討議いただく。なお今回カバーされていない脂肪代謝、癌増殖、中毒学についても研究がすすんでいる。

S03-1

腎臓疾患でのアクアポリンの役割

The role of aquaporins in kidney disorders

○石橋 賢一¹(¹明治薬科大学病態生理)

腎臓で1日150Lの水が再吸収され、水チャネルの役割は重要である。腎臓にはAQP1/2/3/4/6/7/8/11が現れている。AQP1は近位尿細管での水再吸収が10分の1に減少して尿濃縮障害がみられる。AQP2は集合管での水の再吸収に重要でバソプレシンV2受容体阻害薬がすでに臨床応用されている。AQP3/4/6も集合管にあるが重要性は不明である。AQP7は腎臓でのグリセリンの再吸収に重要であり、尿中グリセリンの出現は障害を受けやすい近位尿細管S3セグメントの特異的な障害マーカーとなりうる。AQP8/11も近位尿細管にあるが、AQP8はミトコンドリアにあってアポトーシスへの関与が考えられているが役割は不明である。これに対してAQP11は細胞内にあってその欠損で多発性のう胞腎でマウスは生後1ヶ月で死ぬ。興味深いことに、のう胞ができる前に巨大な細胞内空胞が出現するのがこれまでののう胞腎と違っている。空胞に特異的な蓄積物は検出されず、電子顕微鏡では小胞体の拡張なので小胞体ストレスのような細胞障害がAQP11の欠損でおきて、アポトーシスから細胞再生異常によるのう胞形成の経路が考えらる。AQP11はリポゾームで水輸送を促進するので、細胞内の水輸送に関与している可能性がある。AQP11の役割解明によってこれまでよくわかっていない細胞内水の動態についても研究の端緒が得られる可能性がある。なおAQP11は精巣、肝臓、胸腺、腸、脳、心臓、白血球など全身に分布しているが異常は腎臓に限られており、腎臓以外の臓器での役割は不明である。

ドライマウスの病態生理と治療薬

○石川 康子¹(¹徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・分子薬理学分野)

唾液腺細胞の M₃ ムスカリン受容体や $\alpha 1$ アドレナリン受容体が刺激を受容すると唾液腺から大量に水成分が分泌される。一方、唾液腺細胞の管腔膜側には AQP5 が存在している。私共は、AQP5 は脂質・ラフトとともに管腔膜側細胞質に net 様構造を示して局在し、M₃ ムスカリン受容体や $\alpha 1$ アドレナリン受容体が刺激を受容するとその net 様構造は潰れ、ラフトとともに AQP5 の一部は核へ移動した後、多くの AQP5 がラフトとともに管腔膜へ移動することを見出した。この移動はアセチルコリンやエピネフリンでは極めて速く、近年、唾液分泌促進薬として注目されているセビメリン(ムスカリン受容体アゴニスト)ではゆっくりとした持続性の移動であった。管腔膜へ移動した AQP5 は管腔膜上でラフトからノンラフトへ解離後、その一部は唾液へ遊離されるが、大部分の AQP5 は細胞膜小胞を形成しながら内在化した。

唾液腺の M₃ ムスカリン受容体が刺激を受容すると加齢に伴いラフトと共に基底膜へ移動する AQP5 量が増加し、管腔膜へ移動する AQP5 量が低下した。一方、糖尿病ラットの唾液腺では、AQP5 の mRNA が増加するにもかかわらず AQP5 蛋白質量は増加しない。また、唾液腺の刺激受容に伴う AQP5 の細胞内移動がラフトの移動低下とともに低下した。セビメリンの投与により老齢ラットの唾液腺の管腔膜で成熟ラットのそれより少ないが AQP5 の増量が認められた。また、糖尿病ラットの唾液腺の管腔膜では、糖尿病の治療薬との併用により AQP5 の管腔膜での増量が認められた。

呼吸器疾患でのアクアポリンの役割

Inflammatory stimulation down-regulates AQP3 expression and AQP5 function in airway epithelial cells.

○磯濱 洋一郎¹(¹熊本大学大学院医学薬学研究部)

気道液の分泌異常や肺水腫など、呼吸器系の水分代謝異常は炎症を基礎とする種々の呼吸器疾患の病態生理と密接な関係にある。本研究では、気道上皮における主たる AQP である AQP3 および AQP5 の発現およびその水透過性亢進作用に対する種々の炎症性刺激の影響を調べた。まず、ヒト気道上皮細胞 A549 を用いて調べた AQP3 mRNA 発現は、炎症性サイトカインである IL-1 β の処理によって著明に減少した。この発現低下は AQP3 プロモーターを用いたレポーター遺伝子アッセイの結果とよく相関し、IL-1 β が AQP3 の発現を転写レベルで抑制すると考えられた。一方、マウス肺胞上皮細胞 MLE-12 を用いて調べた AQP5 の mRNA 発現は、今回用いたサイトカイン類の影響を余り受けなかった。しかし、同じく炎症時に著明に産生されるメディエーターである一酸化窒素 (NO) のドナー処理により、AQP5 は S-ニトロシル化され、同時に、AQP5 を介した水透過性は低下した。また、NOドナーは MLE-12 細胞の AQP5 を細胞膜上から細胞内へと局在変化させることも分かった。本研究により、気道内腔への水の分泌および肺胞内水のクリアランスに重要な役割を果たすこれらの AQPs は、炎症時にサイトカインおよび NO によって転写および翻訳後の制御を介して著明に抑制されると推定された。本シンポジウムでは、これらの成績を紹介するとともに、NO による AQP5 機能の低下に対する去痰薬の作用についても併せて考えたい。

S03-4

皮膚におけるアクアポリン3の役割

Roles of AQP3 in the skin

○竹馬 真理子¹(¹京都大学医学部皮膚科)

皮膚は、体温調節、水分保持、有害物質(細菌、化学物質、紫外線など)の侵入防御、外部環境からの保護などの機能を持ち、生命の維持に必須な重要な器官である。最外層の表皮では、水だけでなく、グリセロールを透過するアクアポリン3(AQP3)が表皮細胞膜に発現し、種々の役割を担っていることが報告されている。

AQP3 遺伝子欠損マウス(AQP3 null)の皮膚では、野生型マウスと比較して角層水分量と皮膚弾力性が顕著に低下していた。皮膚の構造は正常であったが、表皮のグリセロール量が減少していることが見出され、AQP3 を介したグリセロール透過が、皮膚物性や生理機能に影響していることが示唆された。

一方、DMBA (initiator) および TPA (promoter) 塗布により誘発される化学発癌モデルでは、野生型マウスでは高頻度に腫瘍を認めたが、AQP3 null では全く腫瘍が誘発されなかった。AQP3 null 表皮細胞では、TPA により誘発される細胞の過増殖が顕著に抑制されていた。AQP3 が、水分あるいはグリセロール透過作用により、表皮細胞内におけるエネルギー産生および細胞増殖の調節を介し、腫瘍形成に関与していると考えられた。

すでに、AQP3 産生増強作用を有するスキンケア化粧品が開発されているほか、さらに AQP3 の機能を解明することにより、AQP3 発現制御による種々の皮膚疾患への応用が期待される。

S03-5

脳疾患の病態生理とアクアポリン

Pathophysiological roles of aquaporins in brain disorders.

○祖父江 和哉¹(¹名古屋市立大学大学院医学研究科麻酔・危機管理医学)

近年、中枢神経におけるアクアポリン(aquaporin: AQP)は、様々な原因によりに生じる脳浮腫や視神経脊髄型多発性硬化症の病態生理に関与していることが明らかとなってきた。脳浮腫は、脳の容積増加を伴う水の異常集積であり、血液脳関門破綻とアストロサイト膨張を特徴とする。外傷、脳卒中、代謝異常などにともない発生するが、様々な治療によっても制御できないことはまれではなく、その発生機序を解明することは新しい脳浮腫治療薬の開発につながる可能性がある。脳細胞のひとつであるアストロサイトには、AQP4 が豊富に発現している。脳損傷モデルや AQP4 ノックアウトマウスを用いた検討により、損傷後急速に増強する AQP4 発現が、脳浮腫の発生あるいは進行に関与している可能性が示唆されている。我々の研究室では、AQP4 発現制御機構を詳細に解析することにより、AQP4 を標的とした新しい脳浮腫治療法の開発を目指している。現在、複数の AQP4 発現量制御機構と AQP4 の細胞膜への移動制御機構が明らかとなっており、AQP4 機能制御による脳浮腫治療法の開発が期待される。また、アストロサイトの脳損傷部位への migration には AQP4 が重要であることが報告されており、AQP4 機能制御により脳損傷治癒期のアストロサイトによる繊維化(神経細胞のネットワーク再形成を阻害)を予防できる可能性もある。今後、脳浮腫における AQP の果たす機能をさらに調査し、APQ を標的とした新規脳浮腫治療法を検討していきたい。