

27W-am03S

ラット松果体において Ca^{2+} 活性化 Cl^- チャンネルとして機能する TMEM16A/B ヘテロ二量体

○萩原 由実子¹, 山村 寿男¹, 西村 歌織¹, 鈴木 良明¹, 今泉 祐治¹ (¹名市大院薬)

【目的】松果体は脳内にあるホルモン分泌器官であり、メラトニンの合成・分泌を介してサーカディアンリズムの調節を行っている。松果体機能の調節には、受容体やセカンドメッセンジャーに加えて、イオンチャンネル活性も重要な役割を担っている。本研究では、松果体細胞において報告のない Cl^- チャンネルの発現および機能解析を行い、その生理的意義の解明を目指した。

【方法】ラット松果体を摘出し、①ELISA 法でメラトニン分泌量を測定した。また、酵素処理により松果体細胞を単離し、初代培養した。②電気生理・薬理学的解析には、ホールセルパッチクランプ法を適用した。③発現解析には、定量的リアルタイム PCR 法、ウエスタンブロット法、免疫染色法を用いた。④遺伝子ノックダウン解析には、siRNA 法を用いた。⑤共発現解析には、共免疫沈降法を用いた。

【結果・考察】①ノルエピネフリンによって誘発されるメラトニン分泌は、 Cl^- チャンネル阻害薬によって濃度依存的に抑制された。②細胞内 Ca^{2+} 濃度を $1\ \mu\text{M}$ に固定して脱分極刺激を与えると、脱分極時には緩やかに活性化する外向き電流、再分極時には特徴的な内向き電流が認められた。これらの電流は、細胞内 Ca^{2+} 濃度に依存し、 Cl^- チャンネル阻害薬により抑制された。③ Ca^{2+} 活性化 Cl^- (Cl_{Ca}) チャンネルとして注目されている TMEM16A および TMEM16B が mRNA レベルで高発現し、また細胞膜上にタンパク質発現していることが明らかとなった。④両チャンネルをノックダウンすると、松果体 Cl_{Ca} 電流はほぼ完全に消失した。⑤松果体細胞では、TMEM16A や TMEM16B のホモ二量体に加えて、ヘテロ二量体が構成されていることが示唆された。これらの結果から、ラット松果体細胞において TMEM16A/B チャンネルが Cl_{Ca} チャンネルとして機能し、松果体の生理機能に寄与していることが推察される。