

魚が淡水中のわずかな栄養素を取り込む機構を解明

ーナトリウムイオンとアンモニウムイオンの交換輸送体を特定ー

【要点】

- 淡水魚はえらを介して淡水中のわずかなナトリウムイオンを栄養素として取り込む
- ナトリウムイオン 吸収はアンモニウムイオン排出と交換で行われ、今回、その交換輸送を担うタンパク質(交換輸送体)を特定
- 魚類の淡水適応機構の解明、ヒト腎臓のアンモニア排出機序理解の手がかりになる

【概要】

東京工業大学とメイヨー医科大学(米・ミネソタ州)の研究グループは、淡水魚のえらで働く $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ 交換輸送体を初めて特定し、その活性を明らかにしました。淡水魚のえらは淡水中のわずかなイオンを栄養素として吸収することができます。淡水からの Na^+ 吸収は NH_4^+ 排出と交換で行われるという説が 70 年前に提唱されましたが、その分子実体は特定されておらず、長い間専門家の中で議論されてきました。今回、ゼブラフィッシュのえらに発現する Na^+/H^+ 交換輸送体(NHE3)をアフリカツメガエル卵母細胞に発現させて活性を解析し、NHE3 は $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ 交換輸送体としても機能すること明らかにしました。この結果は、排泄物の排出(NH_4^+)と交換に栄養素(Na^+)を吸収する優れた省エネシステムとして NHE3 が機能することを意味し、魚類の淡水適応機構や進化のさらなる解明も期待されます。

●背景・研究の経緯

ナトリウムイオン は体液(血液など細胞外液)の主要な陽イオンであり、ヒトや硬骨魚類の血漿には 140~170 mM(ミリモラー、海水の1/3程度)存在している。淡水魚はナトリウムイオン濃度が 1 mM に満たない淡水(用語1)で棲息するため、常に体液イオン濃度の低下の危機にさらされている。ところが淡水魚はえらを介して淡水中の塩分を吸収し、イオンバランスを維持することができる。

デンマークの生理学者アウグスト・クローグ(August Krogh)は約 70 年前にこれらの現象を見出し、淡水中のナトリウムイオンは体内のアンモニウムイオンとの交換輸送で吸収されるという仮説を提唱した。その後、ナトリウムイオン/アンモニウムイオン交換輸送を担う分子実体は特定されていなかった。

えらの表面には「塩類細胞(ionocyte、用語2)」と呼ばれる細胞が散在している(図1)。塩類細胞は腎

臓で塩分を調節する細胞(尿細管細胞)と似た性質を有し、淡水ではイオン吸収を、海水ではイオン排出を担う。えらが未発達な稚魚では、塩類細胞は体表(皮膚上)に散在している。

2003年に東工大、東京大学、国立循環器病センター、米国ケース・ウェスタン・リザーブ大学(Case Western Reserve University)のグループは酸性湖である青森県・恐山湖(宇曾利湖)に棲息するウグイの解析から、塩類細胞の頂端膜(apical膜、細胞膜で環境水と接している部分)にナトリウムイオン/水素イオン交換輸送体(NHE3)(用語3)というタンパク質が局在することを初めて見出した。

その後、様々なグループによりゼブラフィッシュ、ティラピア、メダカ、ニジマスなどの淡水産硬骨魚および淡水産軟骨魚(Atlantic stingray)(用語4)の塩類細胞にもNHE3が局在することが報告され、NHE3は淡水に含まれるナトリウムイオンを体内に取り込む経路と考えられるようになった。しかしNHE3がナトリウムイオン濃度の低い淡水からナトリウムイオン濃度の高い細胞内に濃度勾配に逆らってナトリウムイオンを輸送することは難しくむしろナトリウムイオンを漏洩してしまうのではないかという疑問もあり、NHE3が本当に淡水中のナトリウムイオンを吸収できるのか、どの様な駆動力によりナトリウムイオンが取り込まれているのか、専門家の間で議論されていた。

●研究成果

同研究グループは、ゼブラフィッシュNHE3を発現させたアフリカツメガエル卵母細胞の細胞内水素イオン、ナトリウムイオン、アンモニウムイオン濃度をイオン選択性電極法(用語5)により解析した。アフリカツメガエル卵母細胞は細胞膜のイオン・アンモニア透過活性が低いため、外来遺伝子の効果を検出しやすい利点がある。

通常の卵母細胞は培地のナトリウムイオン濃度を変化させても、細胞内のナトリウムイオンや水素イオンはごくわずかしか変化しない。ところがNHE3を発現させた卵母細胞では培地のナトリウムイオン濃度の変化に伴い、細胞内ナトリウムイオン、水素イオン濃度が大きく変化した。

このことから、NHE3はナトリウムイオンと水素イオンの交換輸送体として機能することが確認された。ナトリウムイオンをわずか(0.5 mM)しか含まない培地の中で細胞内を酸性化させるガス(CO₂)や試薬(酪酸)を働かせると、NHE3を発現させた卵母細胞では細胞内pHの低下に伴いナトリウムイオンの流入が観察された。またアンモニウムイオン添加培地を用いた実験により、NHE3がナトリウムイオンとアンモニウムイオンの交換輸送体として機能することが明らかとなった。

●今後の展開

以上の結果はNHE3がナトリウムイオンと水素イオンの交換輸送体であると同時にナトリウムイオンとアンモニウムイオンの交換輸送体としても機能することを示した初めての報告となる。さらに淡水魚が排泄物排出(NH₄⁺、CO₂)と交換に栄養素(Na⁺)を吸収する経路が明らかになった。今後は魚類の淡水適応機構のさらなる解明も期待される。ヒトでは何らかの原因で体液が酸性化した時(アシドーシス)、体液pHを上げるために腎臓の細胞がアンモニウムイオンを産生・排出することが知られている。このときのアンモニウムイオン排出にはNHE3が関わると考えられて来たが、ヒトNHE3のアンモニウムイオン輸送活性は測定されていない。今後、ヒト腎臓のアンモニウムイオン排出機構のさらなる解明も期待される。

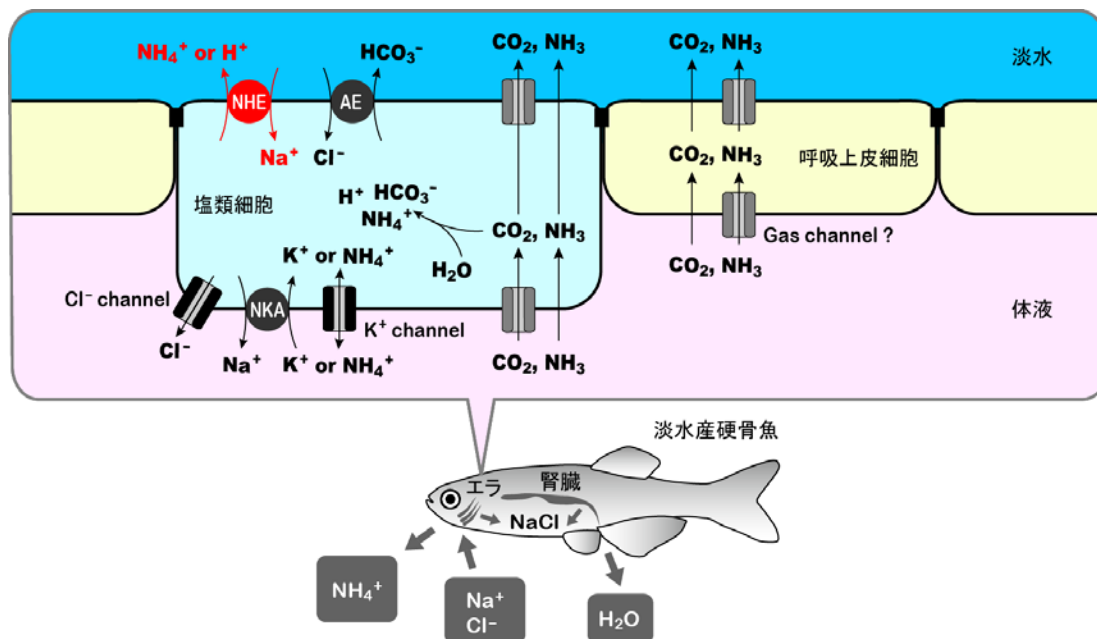


図1 NH_4^+ 、 CO_2 排出が淡水産硬骨魚の Na^+ 、 Cl^- 吸収に変換される仕組み。赤字は本研究で活性が明らかになった経路で、それ以外は他の報告による。排泄物として体内で生じた CO_2 や NH_3 はえらにおいて脂質膜やガスチャネルを介して排出されると考えられるが、 Na^+ 、 Cl^- 取り込みの駆動力にもなる。 NH_4^+ は体液側細胞膜(basolateral 膜)の K^+ channel や Na^+/K^+ -ATPase からも取り込まれる。NHE, Na^+/H^+ exchanger 3; AE, anion exchanger; NKA, Na^+/K^+ -ATPase。

【用語説明】

- (1) 淡水：湖沼や河川の水、塩素を除去した水道水などを指す。
- (2) 塩類細胞：えらは呼吸(ガス交換)の他、イオン代謝でも重要な役割を演じている。ガスは主にえら表面の大部分を覆う呼吸上皮細胞を介して、イオンは主にえら表面に散在する塩類細胞を介して輸送される。
- (3) ナトリウムイオン／水素イオン交換輸送体(NHE3)：細胞膜に存在する輸送体タンパク質の1つ。1分子のナトリウムイオンを細胞内に取り込むと同時に1分子の水素イオンを細胞外に排出する交換輸送活性を有する。細胞内外のイオン濃度によってはその逆の輸送も行う。
- (4) 淡水産硬骨魚・軟骨魚：淡水産硬骨魚はリン酸カルシウムからなる硬い骨を有する魚類の中で淡水に棲息するものを指し、大部分の淡水魚(コイやナマズなど)が含まれる。淡水産軟骨魚とは全身の骨格が軟骨で構成されている魚類(サメやエイなど)の中で淡水に棲息するものを指す。
- (5) イオン選択性電極法：特定のイオンに応答する微小電極を卵母細胞に刺入し、細胞内イオン濃度(イオン活性)を測定する方法。

【掲載雑誌名、論文名】

掲載雑誌: American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology
表題: Na^+/H^+ and $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ -exchange activities of zebrafish NHE3b expressed in *Xenopus* oocytes

DOI 番号: 10.1152/ajpregu.00363.2013

要旨: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24401990>

【発表者】

伊藤 雄介(東京工業大学大学院生命理工学研究科生体システム専攻・博士課程(当時))

加藤 明(東京工業大学大学院生命理工学研究科生体システム専攻・助教)

平田 拓(Mayo Clinic College of Medicine・Assistant Professor)

広瀬 茂久(東京工業大学大学院生命理工学研究科生体システム専攻・教授(当時、現特命教授))

Michael F. Romero(Mayo Clinic College of Medicine・Professor)

【関連サイト】

Mayo Clinic によるニュースリリース

<http://newsnetwork.mayoclinic.org/discussion/zebrafish-discovery-may-shed-light-on-human-kidney-function>

【問い合わせ先】

東京工業大学大学院生命理工学研究科 生体システム専攻 助教 加藤 明

TEL 045-924-5726

E-mail akirkato@bio.titech.ac.jp

FAX 045-924-5824