

S II - 3

中枢神経細胞のクロライドイオンポンプ

稲垣 千代子、三上 斗支子、曾 訓庭、原 満良（関西医大・薬理）

イオンポンプ群は代表的な膜貫通蛋白であり、これまでに数種のカチオンポンプが知られている。一方、中枢神経細胞の細胞内 Cl^- 濃度は受動的分布の濃度よりも低く保たれており、アニオンであるクロライドイオンに対してもその能動的輸送系として Cl^- ポンプの存在する可能性がある。我々は、この Cl^- ポンプの候補としてATP依存性に Cl^- を能動輸送する Cl^- -ATPaseを脳に見出した。 Cl^- -ATPase活性は一価カチオンによる影響を受けず、一価アニオンのうち Cl^- の存在下で最も高い活性を示し、エタクリン酸により阻害される。本ATPaseはポリアクリルアミド電気泳動上520 kDaの蛋白バンドに含まれ、少なくとも4種のサブユニットから構成される。520 kDa蛋白に対するポリクローナル抗体は60 kDaサブユニットと結合し、 Cl^- -ATPase活性を抑制する。これらの性質を利用して Cl^- -ATPaseの活性染色および免疫組織化学が可能になった。また、 Cl^- -ATPaseの細胞レベルでの機能的局在は細胞内に Cl^- 感受性蛍光色素を負荷することにより観察可能である。これらの方法によりラットの中枢神経において以下のことが明らかになった。1) Cl^- -ATPase活性は、脊髄前角運動神経細胞、海馬錐体細胞および小脳プルキンエ細胞など Cl^- 平衡電位の低い神経細胞の細胞膜に認められる。2) Cl^- ポンプ蛋白は、神経細胞の樹状突起部よりも細胞体部に高密度に分布する。3)生下時の Cl^- ポンプ活性は低く、その分布は3週目頃まで神経細胞体から樹状突起へと拡大する。4)神経細胞体部の細胞内 Cl^- 濃度は樹状突起部より低く、 Cl^- ポンプ阻害剤の存在下では上昇する。

これらの結果は、初めて Cl^- ポンプの中枢神経組織内および細胞内局在を示し、最近明らかにされた GABA_A - Cl^- チャネル刺激時の刺激部位や個体年齢による多様な応答を良く説明する。