

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	五味 志文
論文審査担当者	主査 田淵 克彦 副査 塩沢 丹里 ・ 川眞田 樹人
論文題目	TRPM4 Channels Mediate Hypertonicity-induced, Ca^{2+} -impermeable, Non-selective Cation Currents in a Cervical Cancer Cell Line, HeLa Cells (TRPM4 チャンネルは、子宮頸がん細胞株 HeLa 細胞において高浸透圧誘発性 Ca^{2+} 非透過性非選択的カチオン電流を生じる)
(論文の内容の要旨)	<p>【背景と目的】</p> <p>細胞外の浸透圧が細胞内の浸透圧より高くなると、細胞は一旦縮むが、regulatory volume increase (RVI)機構によりもとの容積に戻る。RVIは生理的な状態下で常に作動しており、RVIを障害すると細胞周期が止り、アポトーシスが生じる。したがって、RVIの分子機構の解明は、腫瘍に対してアポトーシス誘発的に作用する新たな薬物の開発につながる可能性がある。そこで本研究では、子宮頸がん細胞株 HeLa 細胞を用いて、RVIが生じる分子機構を明らかにすることを目的とする。</p> <p>【方法】</p> <p>パッチクランプ法のホールセルモードで、高浸透圧の細胞外液で RVI を引き起こし、その時流れる非選択的陽イオンチャンネル(I_{HO})電流を測定した。さらに細胞外液に、種々のチャンネルブロッカー (フルフェナム酸(FFA)、エコナゾール、アミロライド、ルテニウムレッド)を投与し、I_{HO}の薬物感受性を評価した。また RT-PCR を使い、非選択的陽イオンチャンネルサブユニット TRP の遺伝子の発現の解析を行った。最後に、TRPM4 のドミナントネガティブ体を HeLa 細胞に発現し、I_{HO}を構成する分子の同定を行った。</p> <p>【結果】</p> <p>HeLa 細胞において高浸透圧刺激は、電流電圧関係がほぼ直線的で、逆転電位が$\sim 0\text{mV}$の I_{HO}を誘発した。I_{HO}は、脱分極電位で時間依存性の活性化を示した。I_{HO}は、Na^+透過性であり、Ca^{2+}非透過性であった。I_{HO}は、FFA とエコナゾールで抑制されたが、アミロライドやルテニウムレッドに非感受性だった。以上より、I_{HO}を構成するサブユニットは TRP である可能性が考えられた。RT-PCR による解析では、HeLa 細胞では TRPC1,C6,M3,M4,M7,M8,V1,V2 の発現が認められた。この中で上記生物物理学的特性および薬理学的特性を有するチャンネルは TRPM4 チャンネルであるので、HeLa 細胞に TRPM4 のドミナントネガティブ体を発現すると、I_{HO}は有意に減少した。最後に、HeLa 細胞内に投与する Ca^{2+}バッファーを増強すると、高浸透圧刺激は I_{HO}を誘発しなくなった。しかしホスホリパーゼ C の阻害薬 U73122 は、I_{HO}を抑制しなかった。</p> <p>【考察】</p> <p>HeLa 細胞において、高浸透圧刺激は何らかの機序で細胞内 Ca^{2+}濃度を上昇させ TRPM4 チャンネルを活性化し、I_{HO}を誘発し RVI を生じる。したがって、TRPM4 チャンネルを抑制する FFA の子宮頸管内や腔内への投与は、新しい子宮頸がんの治療法となる可能性がある。</p>