

アクアポリンと水の生物学

—免疫システムを改善するミネラル水の可能性

Biology of Aquaporin and Water

The possibility of mineral water to improve the immune system

合同会社 北川科学総合研究所 代表社員

秋田県立大学名誉教授

北川 良親

Yoshichika Kitagawa*

(LLC) Kitagawa Scientific General Research Institute,

808-12, Oozahidaka, Hita 877-0039, Japan

はじめに

アクアポリンは 20 年前に発見され、水チャンネルの名称で論文に登場する¹⁾。・発見者のピーター・アグリ教授は 2003 年にノーベル化学賞を受賞した。

水を通す孔が開いたたんぱく質が細胞膜にあり、水の出入りを制御している事実は驚くべき発見であったと同時に、生物の生命活動に決定的役割を担っていると期待された。

ヒトの 12 種類のアクアポリンのノックアウトマウスが作られ、生理的異常との関係が盛んに研究されたが、意外にアクアポリンがなくてもマウスは生きていた。

アクアポリンは微生物・植物から動物に至るまで幅広く存在する。しかし、微生物の中には、ゲノム中にアクアポリン遺伝子が存在しないものも数多くある。

アクアポリンは、生物が環境に適応する進化の過程で獲得した遺伝子と考えられる。植物で 30 種類以上のアクアポリンアイソフォームが存在するのは環境適応に水の制御がいかに重要であるかを物語っている。

ノックアウトマウスが生きていることから、アクアポリンは生命の根幹構成因子ではなく、より良く生きていくための構成因子であることを示している。

今、我々が研究している水の科学の対象は、生命の根幹構成要因としての水ではなく、より良く生きていくための水の性質と考えられる。アクアポリンはまさにこのような科学の対象として興味深いものである。アクアポリンを通る水はみんな同じなのだろうか？

* email: kitagawayy@kitagawa-inst.com TEL 0973-28-5504, Fax 0973-28-5535

HP: <http://kitagawa-inst.com>

アクアポリンの遺伝子やたんぱく質に作用するものはどのような効果を生物にもたらすのだろうか？

本講演では、アクアポリンの一般的な解説を行った上で、アクアポリンとヒトの病気との関連、アクアポリン遺伝子を用いた植物育種の現状を説明する。そして、生命がより良く生きるための水の性質について、アクアポリンからのアプローチを試みた研究の内容を報告する。

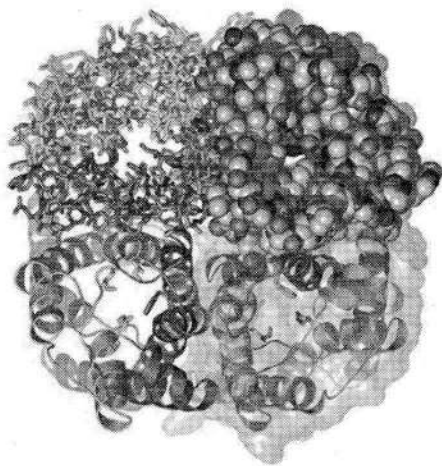
1. アクアポリンの構造

アクアポリンは細胞膜や細胞内オルガネラの膜に存在する膜たんぱく質である。6回膜貫通型のチャンネルたんぱく質で、発見当初は水チャンネルと呼ばれた。

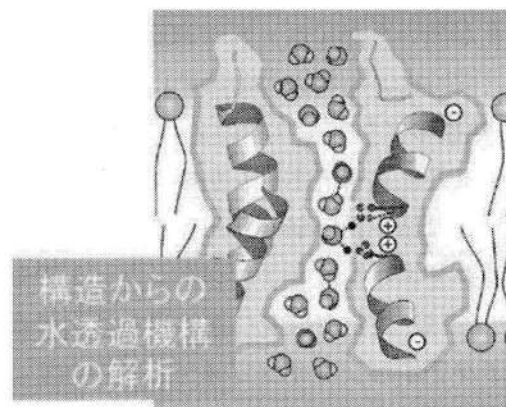
結晶構造解析から、アクアポリンの中心には3□の水分子がようやく通れる孔があいていることがわかった²⁾。アクアポリンの孔の近辺の水分子を描いてみたところ、水分子間が3.8□あり、お互いに水素結合ができない距離離れていた。

つまり、水分子はこの孔を通る時、水素結合していない単分子に一度はなることを示している。

アクアポリンを通過した水は単分子になり、細胞内に入って、再び水素結合することになる。また、水分子の水素結合が切れることで、外部の溶液のプロトンがもろに細胞内に入ってこないようになっている。私がピーター・アグリ教授と共同で解明したメタン菌のアクアポリンの構造³⁾を紹介しながら、アクアポリンの構造を解説する。



メタン菌アクアポリンの構造



アクアポリンの孔を通過する水分子(京大、藤吉先生の文献から)

2. ヒトの病気とアクアポリン

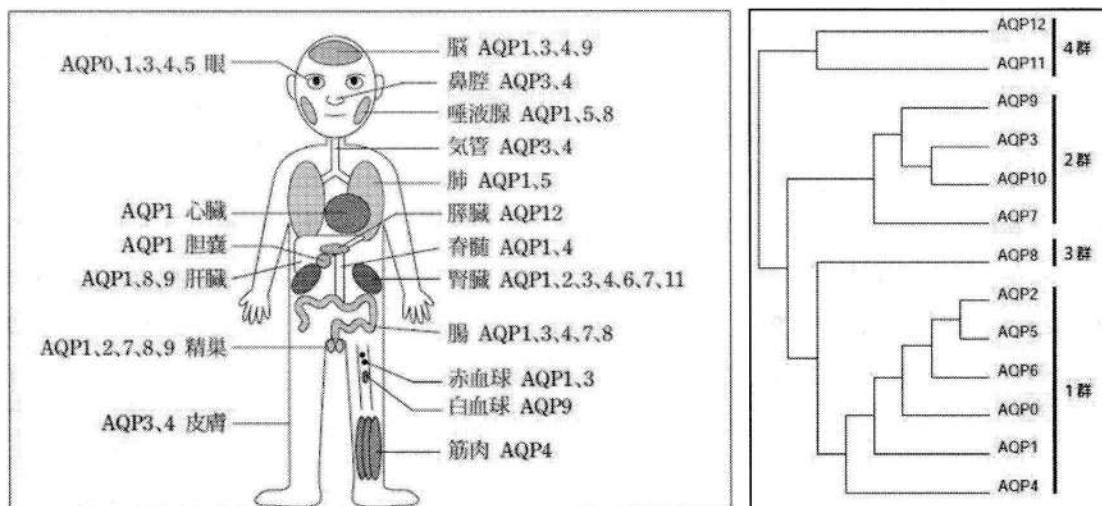
ヒトには13種類のアクアポリン（AQP）が知られている。13種の内、AQP3、AQP7、AQP9などのアクアポリンは水以外にグリセロールも透過する。

最近、AQP1が炭酸ガスを透過することが報告され注目されている。AQP1はピーター・アグリ教授が赤血球から分離したアクアポリンで、腎臓や眼などいろいろな臓器に見られる。赤血球での機能はよくわっていない。腎臓では、AQP2とAQP3がネフロンの集合管壁細胞の管腔側と基底膜側にそれぞれあり、尿の濃縮に関係している。AQP2は、一部が細胞内の小胞膜上に存在するので、脳からの指令で分泌されるバゾプレシンホルモンの刺激を受けて細胞膜に移動する⁴⁾。脱水状態になるとこのような仕組みが働き、尿が濃縮される。

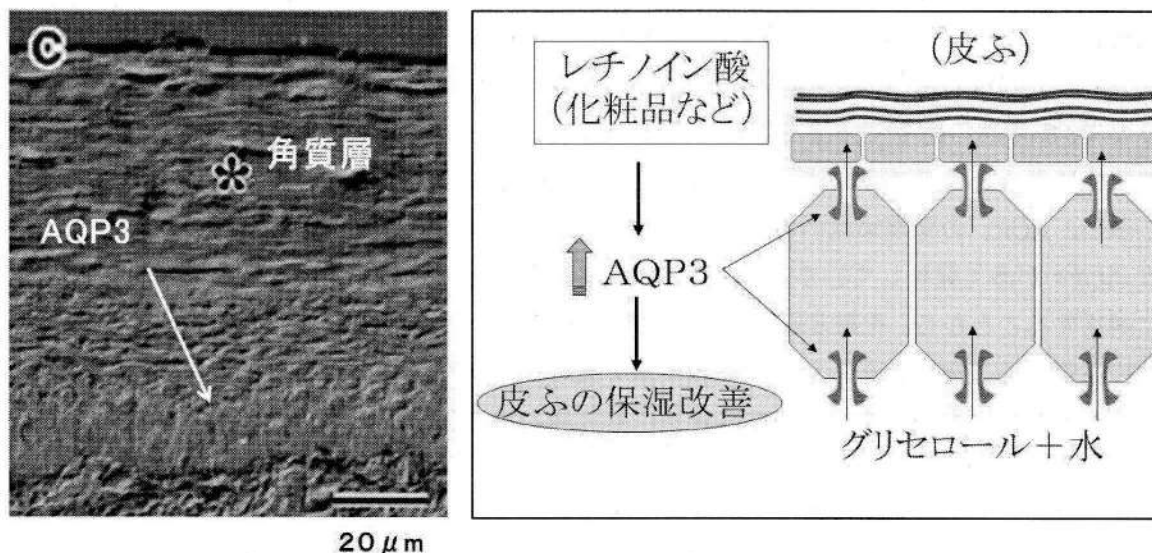
しかし、AQP2の発現が低いと尿の濃縮ができず、尿崩症と言う病気になる。皮膚の表皮細胞にはAQP3が多く発現している。AQP3は水以外にグリセロールも透過するので、肌の保湿や潤いに関係することから、化粧品関係の商品開発の研究ターゲットとして注目されている⁵⁾。AQP4は脳の血管近く突起のあるグリア細胞に多く発現しており、過剰に発現すると脳浮腫の原因となる。そのため、AQP4の水透過性阻害薬は脳浮腫の治療薬になる可能性があり、精力的に研究されている。

我々が研究しているミネラルウォーターや機能水がAQP4にどのように作用するか興味を持たれるところである。AQP7は脂肪細胞に多く発現しており、細胞から外にグリセロールを輸送する。

マウスの実験では、この遺伝子の発現が悪いと脂肪細胞が肥大し、内臓肥満になる。AQP1、AQP3、AQP7を遺伝的に欠損した人が発見されているが、さしたる異常はみられない。したがって、アクアポリンの臨床的応用は限られたものが対象となっている。たとえば、AQP2抑制薬による水利尿の促進、AQP3促進薬による皮膚の保湿改善、AQP4阻害薬による脳浮腫の治療、AQP5促進薬によるドライアイの治療などがある。より良く生きていくための環境適応としてアクアポリンを捉えると、皮膚のシワや乾燥肌の改善など、美容の分野で応用、鼻腔や肺の湿潤保持による感染症予防や血液細胞の活性化による免疫力の向上など、予防医学の分野での応用に新しい展開があるだろう。



ヒトのアクアポリンの分布（東京医科歯科大、佐々木成先生の文献から）



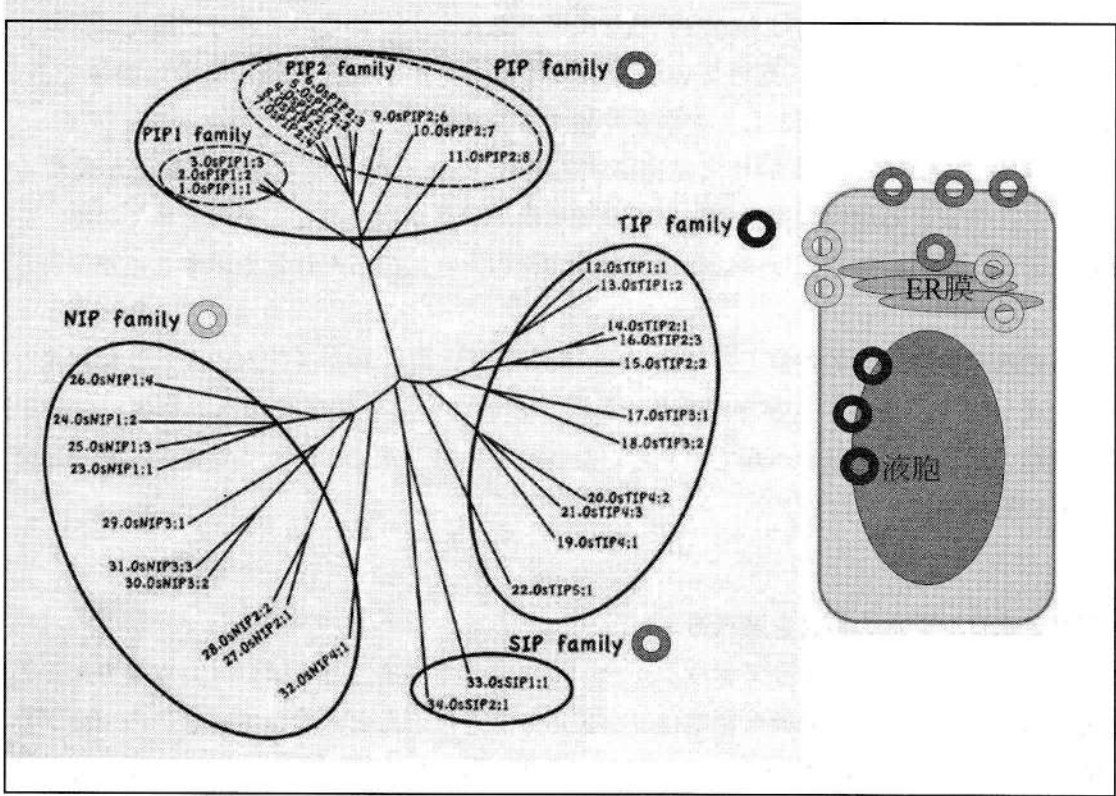
皮膚の AQP3 の分布と（日本医科大、松崎利行先生の文献から）

3. 微生物や植物のアクアポリン

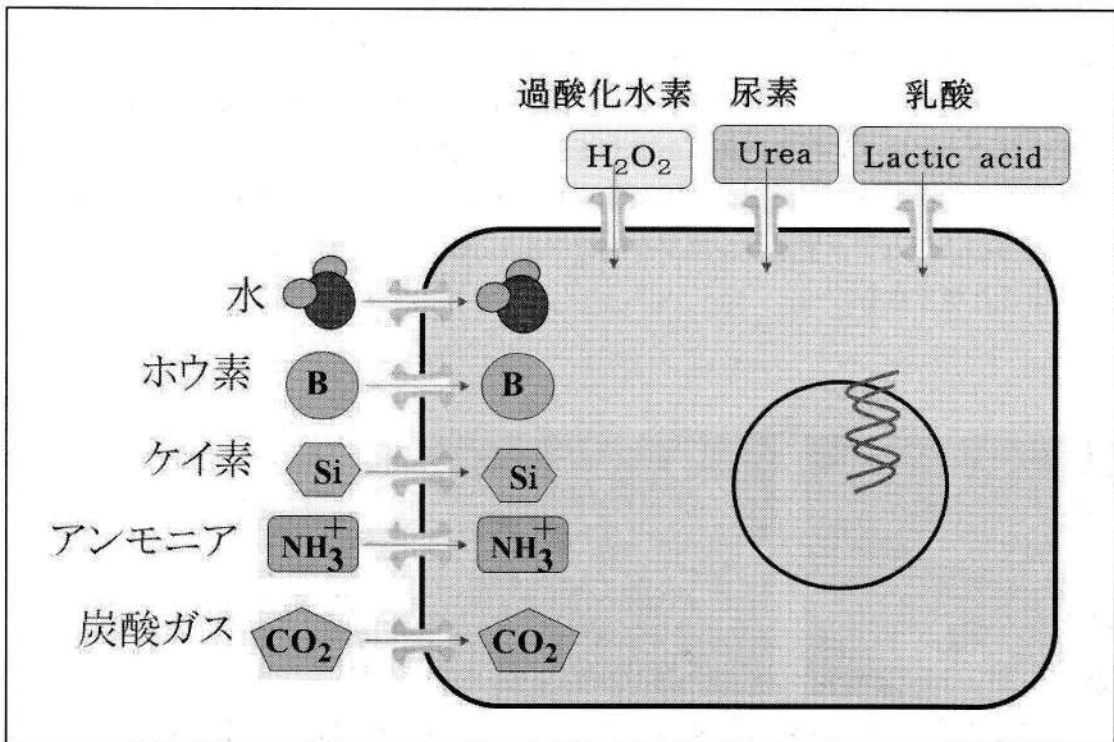
大腸菌にはアクアポリンが一つとグリセロールを透過するグリセロポリンが一つある。アクアポリンがどんな場合に機能するのかよくわかっていない。

酵母では、凍結する時にアクアポリンが発現すれば生存率が上がるということが分かっている⁶⁾。植物には沢山のアクアポリンが存在する。イネで 33 種類あり、細胞膜局在型や液胞膜局在型などに分類される⁷⁾。それらのアクアポリンは植物の生存にとって不可欠なものもあるだろうが、どちらかと言うと、環境ストレスや特殊成分の透過性についての研究が多い。

我々も、イネのあるアクアポリンが耐冷性と関係があることを解明し、そのアクアポリン遺伝子を過剰に発現させると、イネが耐冷性を獲得することを実証した⁸⁾。植物のアクアポリンの中にはホウ素を透過するものが発見され、その後、ケイ素、アンモニア、尿素、乳酸、過酸化水素、炭酸ガスなどを透過するアクアポリンも発見された。しかしながら、植物のアクアポリンの大部分は水のみを透過するもので、植物にとっては重要な遺伝子と考えられ現在盛んに研究されている。



植物アクアポリンの種類と分布



いろいろな物質を通す植物アクアポリン

4. 水の性質

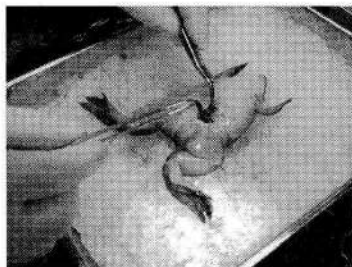
アクアポリンを通過する水にもいろいろな種類がある。水に含まれる成分が違えば溶液としての水の性質は変わってくる。溶けている物質の性質が分かれば、評価するのは簡単であるが、不明かつ微量であれば、溶液としての水の評価するのは難しい。

溶けている成分が水の電気的性質に関係する場合、pH や酸化還元電位に変化が現れる場合もある。水に含まれる成分の変化がない場合でも水の性質が変わることが知られている。高電位の静電気磁場、鉱石、セラミックに曝された水が元の水とは違った性質を示すことが報告されている。

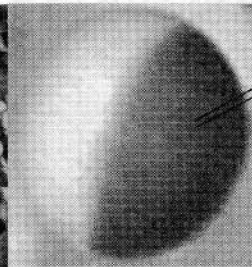
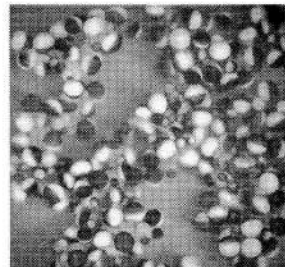
これらの水の物理化学的性質として、pH、酸化還元電位、界面活性力、赤外線放射量などが測定されている⁹⁾。また、生物学的性質として、植物の生育や鮮度保持への影響、抗酸化活性や免疫細胞の活性など細胞レベルでの測定がなされている。水にこのような変化が起こる原因はまだ十分に解明されていない。

5. アクアポリンで水の性質を調べる

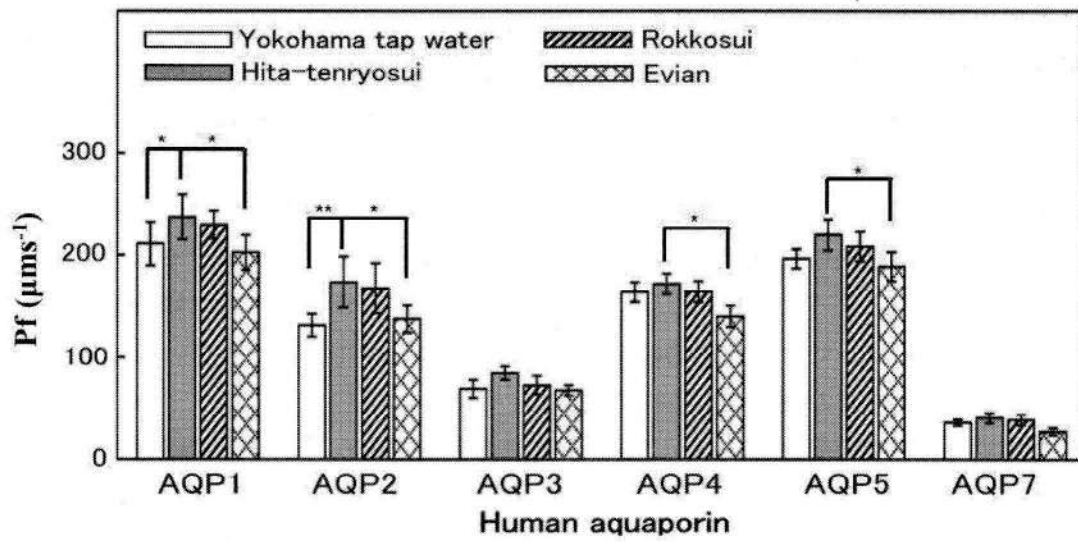
ピーター・アグリ教授はアクアポリンが水チャンネルであることをアフリカツメカエルの卵母細胞を用いて証明した。この卵母細胞はアクアポリンをほとんど発現していないので、アクアポリン遺伝子転写 RNA(cRNA)を注入すると、アクアポリンを発現した卵母細胞を作ることができる。この細胞をいろいろな水や阻害剤あるいは促進剤の入った溶液に入れると卵の膨らみ方に差がでてくる。卵の膨らみが早く大きいと、その水はアクアポリン透過性が高いと言える。このような方法でいろいろな水を測定すると透過性に差がでる。たとえば、いろいろ効能が伝えられている日田市の天然ミネラルウォーターの水透過性を測ると水道水に比べて有意に高い結果が得られる¹⁰⁾。アクアポリンの種類を変えてもこの傾向は変わらない。また、ある種のセラミックで処理した水は元の水に比べて有意に高い水透過性を示す。各種の植物や動物のエキスを溶かした溶液の水透過性も調べると非常に高い促進効果や阻害効果を示すものを発見できる。また、AQP3, AQP7, AQP9のようなアクアポリンはグリセロールも透過するので、同時にグリセロール透過性も測定することができる。



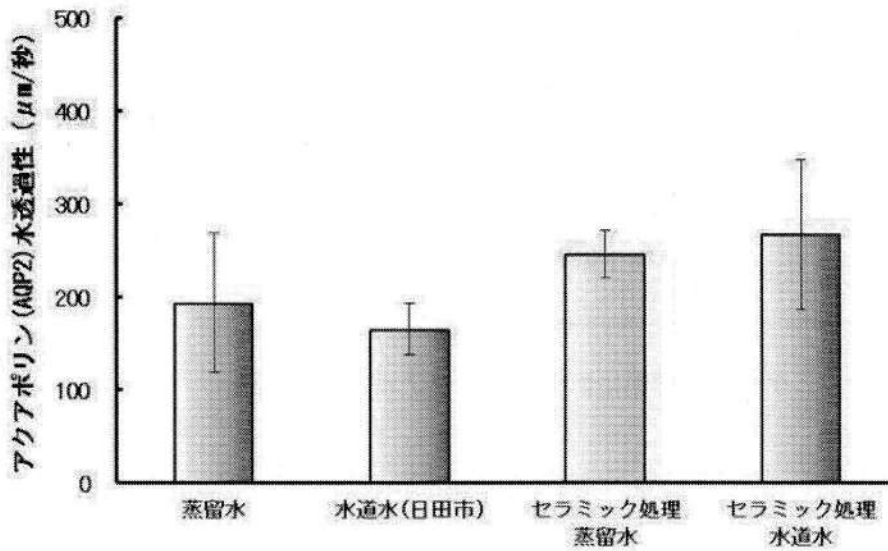
アフリカツメガエル卵母細胞の分離



アクアポリンRNAを注射



アクアポリン水透過性に対するいろいろなミネラルウォーターの影響¹⁰⁾



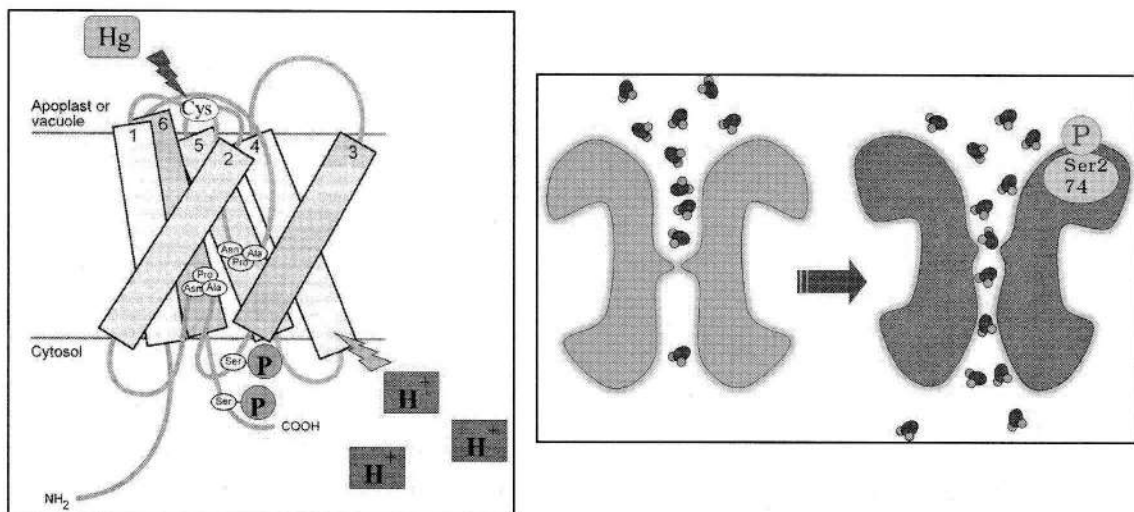
アクアポリン水透過性にセラミック処理水の影響

6. アクアポリンの水透過性のメカニズム

水銀は今まで知られているアクアポリン水透過性阻害剤の中で、メカニズムが唯一解っているものである。AQP4のように水銀感受性のアクアポリンのシステインに水銀が結合し、水透過を阻害する。

一方、植物のアクアポリンではセリンがリン酸化されるとゲートが開いて水が通ると言う説がある。もう一つ、まだ推論の段階であるが、水分子の水素結合の様態が影響すると考えることもできる。水分子のクラスターをアクアポリンの水透過性で測定できるとすれば興味深い。ところで、組織でのアクアポリンによる水透過の制御は遺伝子の発現量で調節されていると考えられ、遺伝子発現阻害剤や促進剤の開発が行われてきた。

実際、腎臓での尿濃縮の促進は、バソプレシンによる刺激でアクアポリンが細胞内小胞から細胞膜への移行し、アクアポリンの分子数の増加で行われる。アクアポリンが増えれば、水透過性は上昇する。しかし、アクアポリンそのものの水透過性を阻害や促進する薬剤が開発されれば、水透過性をダイレクトに制御できるので使用用途が広がる。



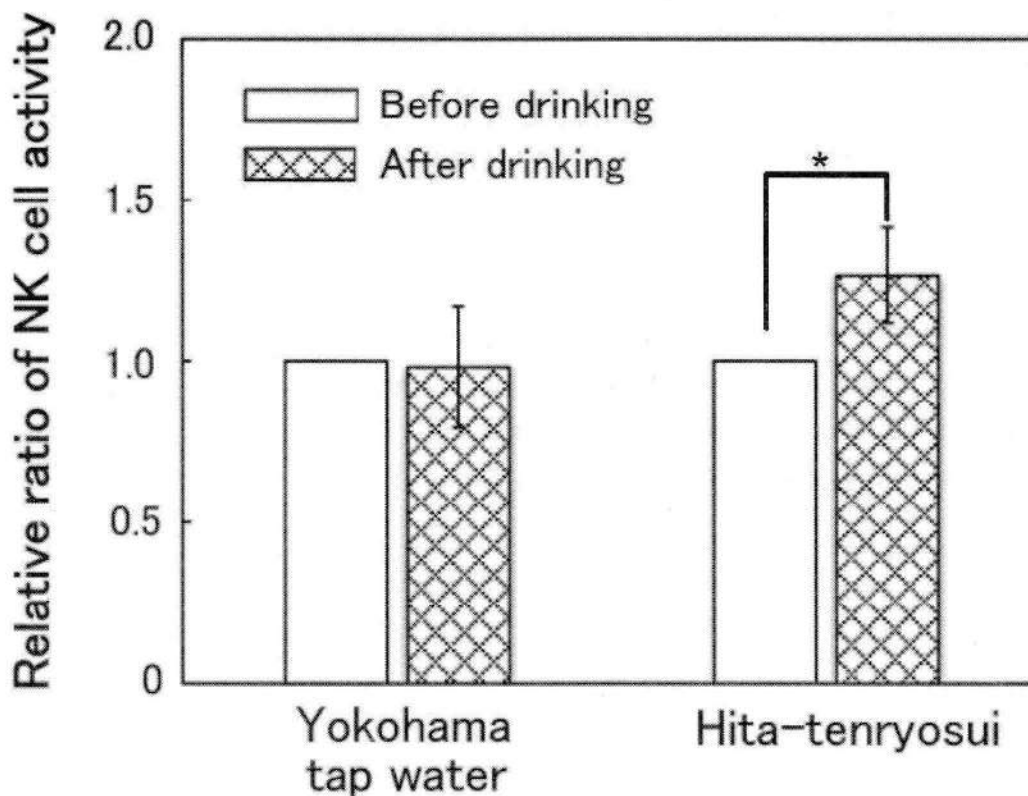
ゲートの開閉に影響するアクアポリンの構造

7. アクアポリン水透過性の高い水は健康に良いのか。

日田市の天然ミネラルウォーターはヒトの糖尿病に効果があることが論文で報告されている¹¹⁾。その他に、個人的な話として、いろいろな病気や健康に効果があることが伝えられている。

アクアポリンを通りやすい水は細胞を活性化するのだろうか。そこで、ヒトにミネラルウォーターを摂取させた時の血中の免疫細胞であるナチュラルキラー細胞の活性を測定した。

水道水を摂取した場合に比べ、ミネラルウォーターを摂取した場合に有意に免疫活性が高かった。



アクアポリン水透過性の高い水を摂取したヒトの免疫細胞活性¹⁰⁾

8. おわりに

アクアポリンは水を通す水チャンネルである。その孔を通る水に透過性の違いがある。その違いが水分子そのものを構造の違い反映している可能性がある。水分子そのものの構造を知る手段はほとんどない現状を考えれば、アクアポリンは興味深い研究対象と言えよう。

アクアポリンの水透過性を測定するのに最も手軽なのが、カエルの卵母細胞を使う方法である。これは、きわめて生物学的方法なので、データの安定性に多少問題がある。再現性ある結果を得るには相当熟練を要する。しかし、これに代わるストップフローや形質転換培養細胞などを用いる方法は、恐らく、もっと不安定で定性的だと思われる。

我々は、より再現性が得られるよう技術を高め、根気よく実験を繰り返す努力を積み重ね、ミネラルウォーターや阻害および促進剤のアクアポリンに対する影響を明らかにしたいと思う。

参考文献

1. Agre, P, et al.: *Am. J. Physiol.*, 265: F463, 1993
2. Walz1, T,: *Nature*, 387: 624, 1997.
3. Kozono, D, et al.: *J. Biol. Chem*, 278: 10649, 2003.
4. Fushimi, K, et al.:*J Biol Chem*, 272: 14800, 1997
5. 石橋賢一：コスメトロジー研究報告書, 18号, 2010.
6. Tanghe, A, et al.: 70: 3377, 2004
7. Sakurai, J, et al.: *Plant Cell Physiol*, 46: 1568, 2005.
8. Matsumoto, T, et al.: *Plant Cell Physiol*. 50, 216-229, 2009.
9. 山野井 昇：サトルエネルギーで健康になる！現代書林, 2004.
10. Kitagawa, Y, et al.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 409: 40, 2
11. Li, Y,: *Cytotechnology*, 64: 281, 2012.