

論 文 要 旨

Electrophysiological properties of anion exchangers in the luminal membrane
of guinea pig pancreatic duct cells

(モルモット膵臓導管細胞管腔側膜における陰イオン交換輸送体の
電気生理学的性質)

関西医科大学生理学第一講座
(指導：松田 博子 教授)

Andharia Naaz

【研究目的】

膵臓は、重炭酸イオンに富む膵液を分泌し、消化管内の至適 pH を維持する。分泌上皮細胞では、イオン輸送体が管腔側膜および血管側膜に極性をもって分布することにより、一方向性のイオン輸送が可能となる。重炭酸イオン分泌に最も寄与している膵臓導管細胞において、管腔側膜の Cl^- チャネル (CFTR) は陰イオン交換輸送体 (SLC26A6) と共役し、重炭酸イオン分泌の律速段階となっている。しかし、管腔側膜における陰イオン交換輸送体の電気生理学的性質および制御機構は不明な点が多い。

本研究は膵液分泌に重要な役割を果たす陰イオン交換輸送体の同定を目的とし、モルモット膵臓導管細胞管腔側膜における重炭酸イオンコンダクタンス機能の解析をした。

【研究方法】

モルモットの膵臓から新鮮な小葉間導管を分離した。パッチクランプ法を用いて導管細胞管腔側膜におけるインサイド - アウトパッチ膜電流を測定した。小葉間導管から mRNA を抽出し、RT-PCR 法により陰イオン交換輸送体の分子発現を解析した。免疫組織化学法を用いて、膵臓導管細胞膜における陰イオン交換輸送体の分布を解析した。膵臓導管からタンパク質を抽出し、ウェスタンブロット法を用いて陰イオン交換輸送体の発現を解析した。

【結果】

細胞内の重炭酸イオン (HCO_3^-) は濃度依存的に管腔側膜における重炭酸イオンコンダクタンスを増加させ、その 50% 効果濃度は約 30 mM であった。そのイオン透過性比はチオシアン酸 (1.4) > Cl^- (1.2) = グルコン酸 (1.1) = Γ (1.1) = HCO_3^- (1.0) > メタンスルホン酸 (0.6) であった。コンダクタンス比は HCO_3^- (1.0) > チオシアン酸 (0.7) = Γ (0.7) > Cl^- (0.5) = グルコン酸 (0.4) > メタンスルホン酸 (0.2) であった。細胞外の Cl^- 濃度を低下させると、重炭酸イオンコンダクタンスは減少した。陰イオン交換輸送体の抑制薬 (H_2DIDS) は重炭酸イオンコンダクタンスを減少させた。細胞内 cAMP は重炭酸イオンコンダクタンスを増加させなかった。小葉間導管において SLC26A ファミリーの mRNA の発現を認めた。膵臓導管細胞管腔側膜において SLC26A1、SLC26A4、SLC26A6、および SLC26A10 の局在を認めた。膵臓導管に発現する SLC26A1、SLC26A4、SLC26A6、および SLC26A10 タンパク質の分子量は 80–140 kDa であった。

【考察】

生理的な細胞内重炭酸イオン濃度において、重炭酸イオンコンダクタンスが観察された。重炭酸イオンコンダクタンスのイオン選択性は HCO_3^- > Cl^- であり、cAMP 活性型 CFTR Cl^- チャネルの選択性と異なっていた。重炭酸イオンコンダクタンスは細胞外の Cl^- に依存していたことから、陰イオン交換輸送体を介することが示唆された。重炭酸イオンコンダクタンスは細胞内 cAMP により

直接には制御されていないと推察された。ヒトおよびラットの膵臓導管管腔側膜において、SLC26A6 タンパク質の発現は報告されていたが、SLC26A1、SLC26A4、および SLC26A10 の発現も認めた。これら SLC26A ファミリーにより構成される陰イオン交換輸送体が膵臓導管細胞における重炭酸イオン分泌に寄与することが示唆された。