

氏 名 (本籍)	すず 鈴	き 木	やす 安	な 名
学 位 の 種 類	医	学	博	士
学 位 記 番 号	医	第	1795	号
学位授与年月日	昭和 61 年 2 月 26 日			
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当			
最 終 学 歴	昭和 54 年 3 月 旭川医科大学医学部医学科卒業			
学位論文題目	Fluid secretion and electrical properties of pancreatic acinus of syrian golden hamster. (ハムスターの膵液分泌と膵腺房細胞の電気生 理学的研究)			

(主 査)

論文審査委員 教授 西 山 明 徳 教授 田 崎 京 二
教授 佐 藤 寿 雄

論 文 内 容 要 旨

膵腺房細胞は ACh や Caerulein, Bombesin などの刺激物質によって、消化酵素だけでなく、イオン液の分泌をおこす。イオン液の分泌量には種差があり、ヒト・ネコでは少なく、マウス・ラットでは多い。また腺房細胞膜の刺激物質に対する電氣的反応にも種差があり、ヒト・ブタでは過分極反応が、マウス・ラットでは脱分極反応が起る。しかし現時点ではこれらの電氣的反応の刺激分泌連関における役割は十分解明されていない。本論文では従来十分検討されていないハムスター膵を対象として、腺房由来の Amylase 及びイオン液の分泌機序を検討した。方法は in vivo, in vitro における分泌実験と、in vitro での current clamp 法を用いての電氣生理学的方法である。

1. in vivo における膵腺刺激の効果

Caerulein 38 ng/100g・体重(ラット最大刺激)で Amylase の分泌量は増加したが、膵液分泌量は基礎値のわずか2倍であった。

2. in vitro における ACh 刺激の効果

種々の濃度の ACh を灌流液中に 30 秒間添加し、膵組織片より放出される Amylase 濃度を連続的に測定した。イオン液分泌の豊富なマウスでの結果と異なり、濃度の上昇は低く、緩徐であった。以上の結果からハムスター膵においては、イオン液の分泌量は単位膵重量当りに換算しても乏しく、ヒト・ネコに類似しているといえた。

3. ハムスター膵腺房細胞膜のケーブル解析

静止膜電位は -61.6 ± 0.7 mV で、膜抵抗は 28.7 ± 1.8 M Ω であった。膜電位が -5 から -80 mV の間で電流-電圧関係は直線であった。膜電位、抵抗の値はマウス・ラットに比較して大きく、それぞれ約 1.5 倍、約 10 倍であったが、比抵抗は 14.9 K Ω cm²、比容量は 1.2 μ F/cm² でマウス・ラットと大差なかった。この理由は、ハムスターでは電氣的に結合する腺房の単位が、マウス等に比して小さい事による。

4. 腺房刺激に対する電氣的反応

ACh を電氣泳動的に投与すると、入力抵抗の減少、時定数の短縮を伴う脱分極反応が観察され、その逆転電位 (E_{ACh}) は -11.9 ± 0.9 mV であった。Caerulein, Bombesin を灌流液中に滴下した時の効果も同様であった。

5. 静止膜電位・脱分極反応のイオン依存性

a. Na イオン: 灌流液を無 Na にすると静止電位は -44.6 ± 1.6 mV に脱分極し、膜抵抗は 43 ± 3.2 M Ω まで増大した。この脱分極の成因として 1) 発電性 Na ポンプが $[Na]_i$ に依存する。

2) Na を置換した Tris が透過性を有することが考えられた。ACh による脱分極反応の (E_{ACh}) は $[Na]_o$ を減少させると過分極方向に移動し、 $\log [Na]_o$ との関係は 8mV の傾きをもつ直線であった。

b. Cl イオン：無 Cl 灌流液では静止電位は徐々に過分極したが、膜抵抗の有意な増加はみられなかった。無 Cl-sulfate 液での E_{ACh} は $+1.6 \pm 3.2$ mV と脱分極した。ここでマウスにおける細胞内 1 価イオンの活量をハムスターにあてはめ、Goldman の定電場理論の式を用いて逆転電位におけるイオン透過性の比を求めると、 $P_K/P_{Na}/P_{Cl} = 1/0.91/0.43$ となり、イオン電流の比は、 $I_K/I_{Na}/I_{Cl} = 1/1.4/0.4$ と計算された。

c. K イオン：静止電位と $\log [K]_o$ の関係は 40 mV の傾きをもつ直線であった。無 Na, Cl 液中では E_{ACh} と $\log [K]_o$ との関係は 22 mV の傾きをもつ直線であった。Ouabain 添加後の $[K]_o = 4.7$ mM, $[K]_o = 47$ mM における静止電位を Goldman の式にあてはめ、静止における 1 価イオンの透過性の比を求めると $P_K/P_{Na}/P_{Cl} = 1/0.2/0.14$ であった。

6. 考察 以上の結果から、腺房刺激は膜の 1 価イオンの透過性を亢進させるといえた。

次に刺激に対するイオン液分泌量がハムスターでは、マウス・ラット腺房に比して乏しいことの原因を検討した。第 1 に単位膜面積当りのイオン電流を、Ginsborg の Parallel conductance model を用いて既算したが、マウス・ラットのそれと大差なかった。第 2 にイオン電流の比を計算したが (前述), I_{Na}/I_K と I_{Cl}/I_K のとりわけ後者が相対的に小さく、これがイオン液分泌量の差に関連をもつと推測された。本論文では ACh 脱分極反応のイオン機序を検討する上で Goldman の定電場理論を用いたが、 $[K]_o$ を増加させた時の E_{ACh} を予測できないという矛盾が生じた。この事は同じ陽イオンの independent theory である Takeuchi のモデルを用いても同様であった。このことはハムスター腺房細胞膜における刺激時の 1 価陽イオンのチャンネルは非選択的であることを推測させる。事実、丸山はハムスター腺房細胞膜に非選択的 Na-K チャンネルを同定しており (未発表データ), 本論文における結果と一致している。以上よりイオン液の分泌様式は、ヒト・ネコに類似し、電気的反応はマウス・ラットと比して量的には差はあるものの、質的には類似しているといえた。

審 査 結 果 の 要 旨

温血動物の膵腺房は分泌刺激 (acetylcholine, CCK-Pz) により消化酵素と血漿様電解質液を分泌する。分泌刺激による電解質液分泌量には種差がみられ、ラットやマウスでは液分泌量が多いが、ネコやヒトでは極めて少ない。一方膵腺房の電気生理学的研究から、この部における電解質分泌機序にも種差が存在することが明らかとなった。すなわちブタそしておそらくヒトでは、分泌刺激が受容体と相互作用すると、まず細胞原形質の Ca^{2+} イオン濃度が上昇する。上昇した Ca^{2+} イオンは側基底細胞膜の K^+ イオンチャネルを賦活して、 K^+ イオンを細胞間隙液に放出し、膜電位を過分極する。側基底側膜には $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ポンプに依存する $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2 \text{Cl}^-$ 共輸送系が存在して、 Cl^- イオンを電気化学勾配に逆って細胞内に蓄積しているが、刺激による K^+ イオンの細胞外液への放出は Cl^- 蓄積を促進する。細胞内に蓄積された Cl^- イオンは腺腔側膜に存在する Ca^{2+} イオンで賦活される Cl^- イオンチャネルを経て腺腔内に分泌され、 Na^+ イオンは腺腔内の Cl^- イオンの負の電荷に引かれて傍細胞性経路を経て腺腔内に移動すると考えられている。一方マウスやラットの膵腺房細胞では、分泌刺激は側基底側膜に存在する Ca^{2+} イオンで賦活される Cl^- イオンチャネルを経て腺腔内に分泌され、 Na^+ イオンは腺腔内の Cl^- イオンの負の電荷に引かれて傍細胞性経路を経て腺腔内に移動すると考えられている。一方マウスやラットの膵腺房細胞では、分泌刺激は側基底側膜に存在する Ca^{2+} イオンによって賦活される $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ イオンチャネルを刺激して細胞膜を脱分極する。分泌刺激は同時に Cl^- イオンチャネルも賦活するので、細胞内に NaCl を流入する。流入した NaCl がどのような機構で腺腔内に分泌されるのかは明らかでない。しかし、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2 \text{Cl}^-$ 共輸送系によって腺腔内に分泌されるという説が最近提出されている。

学位申請者の鈴木安名君はハムスターの *in vivo* および *in vitro* 膵標本を用いて、分泌刺激に対する液分泌量がラットやマウスに比較して $1/10$ と少ないことを確めた上、微小電極法により膵腺房細胞の電気生理学的研究を行った。その結果ハムスター膵腺房細胞の分泌刺激に対する反応は、定性的にラット、マウスに類似し、 Na^+ 、 K^+ および Cl^- イオンに対する透過性を増大することを見い出しました。しかし、ラットの場合とは異なり、 Cl^- イオン流入量が少ないことを Hodgkin, Katz の flux の式から求め、 Cl^- イオン flux が少ないことが電解質液分泌量の少ないことに関連するのではないかと指摘した。この研究は Cl^- イオンチャネルを直接測定したものであるが、独創性に富む、かつ注目すべき研究であり、学位論文として十分価値あるものと思われる。