

主論文の要旨

**Bicarbonate-rich fluid secretion predicted by a
computational model of guinea-pig pancreatic duct
epithelium**

〔 モルモット膵管上皮の数理モデルによる高濃度重炭酸イオン分泌 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
健康増進医学講座 健康栄養医学分野

(指導：石黒 洋 教授)

山口 誠

【緒言】

膵液は、 HCO_3^- （重炭酸イオン）由来のアルカリ性（pH ～8）で等張の消化液であり、その HCO_3^- 濃度はヒトやモルモットでは食事などの刺激により～140 mM に達する。 HCO_3^- は、膵管の上皮細胞（膵導管細胞）から分泌される。この時、血液と膵液の HCO_3^- 濃度差は約 7 倍であり、膵導管細胞がこの濃度勾配に逆らって HCO_3^- を分泌するメカニズムを明らかにするために、細胞膜上の各輸送体のイオン輸送を数式化し、これらを統合して数理モデルを作成した。特に、高濃度 HCO_3^- 分泌に有利に働く可能性のある最近の研究報告に着目して解析した。

膵 HCO_3^- 分泌は、嚢胞性線維症（cystic fibrosis : CF）の原因分子であり管腔膜に局在する CFTR（CF transmembrane conductance regulator）アニオンチャネルに依存する。CFTR の $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ 選択性（ $P_{\text{HCO}_3^-}/P_{\text{Cl}^-}$ ）は、モルモット膵導管細胞の場合～0.4 であるが、最近、細胞内 Cl^- 濃度の低下を介して $P_{\text{HCO}_3^-}/P_{\text{Cl}^-}$ が 1.0 以上に高くなり、高濃度 HCO_3^- 分泌を維持できる可能性が報告されている。また、管腔膜における $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ 交換輸送は、SLC26A6 が担っていると報告されているが、stoichiometry は定まっていない。そこで、SLC26A6 が $1\text{Cl}^-/1\text{HCO}_3^-$ または $1\text{Cl}^-/2\text{HCO}_3^-$ 交換輸送する kinetic model から数式化し、 HCO_3^- 分泌を比較した。

【方法】

- 1) ソフトウェアとして MATLAB/Simulink を用いた。
- 2) 溶質の輸送経路として basement membrane、基底側膜、管腔膜および tight junction、コンパートメントとして bath、細胞、interspace および管腔から構成される数理モデルを作成した (Fig. 1A)。イオン・水の輸送により管腔内の液体の組成が変化し、過剰分が分泌されるようにした。
- 3) 基底側膜に、 Na^+-K^+ ATPase、 K^+ チャネル、 $\text{Na}^+-\text{HCO}_3^-$ 共輸送体 (NBC1)、 Na^+/H^+ 交換輸送体 (NHE1)、 $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ 交換輸送体 (AE2) などを組み込んだ。
- 4) 管腔膜に、CFTR アニオンチャネル（ $P_{\text{HCO}_3^-}/P_{\text{Cl}^-}=0.4$ が標準、Table 1）、 $1\text{Cl}^-/n\text{HCO}_3^-$ 交換輸送体 (SLC26A6) ($n=1$ or 2)、 K^+ チャネルなどを組み込んだ。
- 5) 基底側膜と管腔膜の水透過性は、単離膵導管の報告を参考に設定した (Table 1)。
- 6) 細胞内に、 $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_2$ および内因性の pH 緩衝系を組み込んだ。
- 7) 各経路の分泌流量は、管腔膜は浸透圧差、基底側膜は浸透圧差と静水圧差、basement membrane は静水圧差を駆動力として計算した。
- 8) 各種報告より Table 1 のようにパラメータを設定した。
- 9) 各輸送体の非刺激時および cAMP 刺激時の活性は、モルモット単離小葉間膵管を用いた当研究室の実験の発表データ（細胞内 pH、細胞内 Cl^- 濃度、細胞内電位、分泌流量、管腔内 pH）を用いて最適化した (Table 2)。最適化には、Nelder-Mead 法（関数の最適解を最小二乗法により自動的に探索する）を用いた。

【結果】

- 1) 最適化したパラメータを用いた数理モデルの計算結果と、最適化に用いた実験値との誤差は数%程度であった。
- 2) cAMP 刺激状態（分泌液の HCO_3^- 濃度と分泌流量の増加）は、CFTR と K^+ チャンネル（基底側膜）の透過性および NBC1 と SLC26A6 の活性を上げ、AE2 の活性を下げることによって再現できた（Table 2）。
- 3) 管腔膜の SLC26A6 の stoichiometry の違い（ $1\text{Cl}^-/1\text{HCO}_3^-$ あるいは $1\text{Cl}^-/2\text{HCO}_3^-$ 交換輸送）により、定常状態における細胞内イオン組成、細胞内電位、分泌流量、分泌液の HCO_3^- 濃度に大きな違いは見られなかった（Fig. 2）。
- 4) 非刺激時、cAMP 刺激時ともに、分泌液の浸透圧は、bath および細胞内に比べて 1-3% 高かった。
- 5) cAMP 刺激時に、AE2 活性を非刺激時に対して 70-80% 抑制することにより、分泌液の HCO_3^- 濃度は ~ 140 mM まで上昇した（Fig. 3）。この条件での分泌流量は ~ 350 nl/min cm^2 であり、モルモット単離小葉間腺管の実験値と同程度であった。
- 6) 輸送体の透過性または活性の値を $\pm 1\%$ に設定し、定常状態における分泌液 HCO_3^- 濃度および分泌流量の変化を求めた。変化の勾配は各輸送体の HCO_3^- 分泌への寄与を表す。CFTR 透過性および AE2 活性の寄与が大きいことが分かった。
- 7) SLC26A6 $1\text{Cl}^-/2\text{HCO}_3^-$ 交換輸送モデルにおいて、CFTR の $P_{\text{HCO}_3^-}/P_{\text{Cl}^-}$ を 0 から 2.0 まで変化させた。 $P_{\text{HCO}_3^-}/P_{\text{Cl}^-}$ が 1.0 のとき、分泌液の HCO_3^- 濃度は 143 mM に達し、分泌流量は $P_{\text{HCO}_3^-}/P_{\text{Cl}^-}$ が 0.4 の場合と比べて約 15% 増加した（Fig. 4）。 $P_{\text{HCO}_3^-}/P_{\text{Cl}^-}$ を 1.0 以上に高くしても、分泌液の HCO_3^- 濃度、分泌流量ともにほとんど変わらなかった。

【結論】

4 コンパートメントから構成される腺 HCO_3^- 分泌の数理モデルを作成し、モルモット腺管上皮の高濃度 HCO_3^- 分泌の実験データを再現することができた。高濃度 HCO_3^- 分泌に有利に働くと思われていた CFTR アニオンチャンネルの HCO_3^- 選択性 ($P_{\text{HCO}_3^-}/P_{\text{Cl}^-}$) および管腔膜 SLC26A6 の $1\text{Cl}^-/2\text{HCO}_3^-$ 交換 stoichiometry は、いずれも HCO_3^- 分泌に大きな影響を与えなかった。CFTR の $P_{\text{HCO}_3^-}/P_{\text{Cl}^-}$ は 0.4（モルモット腺導管細胞の実測値）で十分であった。高濃度（140 mM）の HCO_3^- を分泌するためには、基底側膜 $1\text{Cl}^-/1\text{HCO}_3^-$ 交換輸送体（AE2）が 70-80% 抑制され、細胞内 Cl^- 蓄積を抑制し、 Cl^- 分泌量を下げる必要があることが明らかとなった。