

論文審査結果報告書

論文提出者氏名 城所 愛美

学位論文題目

Na⁺-K⁺-2Cl⁻ co-transporter-mediated fluid secretion increases under hypotonic osmolarity in the mouse submandibular salivary gland

審査委員 (主査) 教授 稲永 清敏 印

(副査) 教授 柿木 保明 印

(副査) 教授 安細 敏弘 印

論文審査結果の要旨

血漿浸透圧変化により唾液分泌量が変化することが知られているが、唾液分泌機構におよぼす直接的な影響については明らかにされていない。本研究は、マウス顎下腺灌流モデルを用いて、ムスカリン性レセプター刺激による分泌反応が、浸透圧変化によりどのような影響を受けるかを明らかにし、さらにその詳細なメカニズムを細胞レベルで解明することを目的に行われた。

実験では、8-10週齢のc57BL/6Jのマウスを使用した。摘出した顎下腺灌流モデルを用いて、カルバコール(0.3 μM)刺激時の唾液分泌速度およびイオン濃度測定を行った。また、細胞内シグナル伝達の評価には、蛍光指示薬を導入した分散細胞を用いて、細胞内Ca²⁺およびpHを測定した。唾液分泌速度は、灌流液に等張液(320 mOsm)を用いた場合と比較し、10%低張液(288 mOsm)では差はなかったものの、30%低張液(225 mOsm)では34%上昇した。分泌唾液中のイオン濃度は、等張液での灌流と比較して30%低張液による灌流ではNa⁺、K⁺、Cl⁻いずれも有意に減少した。Na⁺-K⁺-2Cl⁻共輸送担体(NKCC)のinhibitorであるブネタマイド(10 μM)の投与により、等張液と30%低張液の灌流での唾液分泌速度が同一になったことから、NKCCの低浸透圧下での分泌上昇への関与が示唆された。さらにアンモニウムショック法により細胞内pHを計測した結果、等張液と比較し30%低張液では46%のNKCCの活性上昇が確認された。また、その活性上昇はブネタマイドによりほぼ完全に抑制された。カルバコール刺激時の細胞内Ca²⁺を測定したところ、等張液と比較して10%および30%低張液のいずれにおいても差はなかった。さらに低浸透圧により活性化されるtransient receptor potential V4(TRPV4)チャネルの関与の可能性を検討したが、関与は否定された。以上の結果より、マウス顎下腺では外部浸透圧が低下すると唾液分泌速度が上昇するが、それはNKCCが機能的に活性化されることに起因していることが証明された。このことから、従来唾液分泌機能回復の標的とされていたムスカリンレセプターや水チャネルに加えて、NKCCが診断や治療の新たな標的となり得ることが示唆された。

審査委員から、浸透圧刺激の方法について指摘がなされたが、公開審査に加え、審査委員会が行った質疑応答に対して、申請者から十分な回答が得られた。以上のことから、審査委員会では本研究が学位論文に十分に値すると判断した。

