

Title	ヒトにおけるグルカゴン関連ペプチドの分泌動態および分子形態に関する研究
Author(s)	弘田, 明成
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35626
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	ひろ 弘	た 田	めい 明	せい 成
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	7950	号	
学位授与の日付	昭和63年1月6日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	ヒトにおけるグルカゴン関連ペプチドの分泌動態および分子形態に関する研究			
論文審査委員	(主査)			
	教授	熊原 雄一		
	(副査)			
	教授	垂井清一郎	教授	鎌田 武信

論文内容の要旨

[目的]

グルカゴンの前駆体であるプログルカゴンはグルカゴンのC端側に更に二つのGlucagon-like peptides, 即ちGLP-1およびGLP-2を含んでいる。そのうちGLP-1は動物種間においてそのアミノ酸配列が高度に保存され、なんらかの生理的意義を有する事が予想されている。現在生物活性としてラット灌流臍におけるインスリン分泌刺激作用やラット視床下部でのadenylate cyclaseの活性化作用が知られている。しかし、その分泌動態は必ずしも明らかではない。本研究では、GLP-1に特異的に反応する抗体を作製すると共にRIA系を確立、これを用い、各種負荷試験時の血中グルカゴン関連ペプチドの分泌動態を検索し、さらに、血漿、臍および消化管のGLP-1 immunoreactivity (GLP-1 IR) の分子形態を検討することにより両組織に於けるproglucagon processingの差異を明らかにすることを試みた。

[方法]

抗GLP-1抗体の作製およびGLP-1 RIAの確立：合成ヒトGLP-1 (1-37) をグルタルアルデヒド法によりカプトガニヘモシアニンにconjugateし、これで家兎を免疫して抗GLP-1抗体を得た。この抗体を用いて二抗体法ラジオイムノアッセイを確立した。

各種負荷試験：健常者10名に30gアルギニンを30分間点滴静注し(ATT), 0, 10, 20, 30, 45, 60, 90分後に採血, アルギニン負荷試験の検体とした。健常者15名, 胃切除者20名に75g経口ブドウ糖負荷試験を施行(OGTT), 0, 15, 30, 60, 90, 120分後に採血し, 経口糖負荷試験の検体とした。健常者7名に十二指腸ゾンデ, または内視鏡により空腸起始部に75gのブドウ糖を注入(TGTT), 0, 15,

30, 60, 90, 120分後に採血し、経管糖負荷試験の検体とした。以上の検体について血糖、血中インスリン、グルカゴン (G I), glucagon-like immunoreactivity (G L I), 及びGLP-1 I Rを測定した。ゲルろ過：測定された免疫活性の分子形態を解明するため、アルギニン負荷前および負荷後45分の血漿、糖負荷試験前および負荷後15, 30分の血漿をSephdex G50 (1.6×90cm) またはSuperrose 12 (2.5×50 cm) にてゲルろ過し、ろ過液のG I, G L I, G L P-1 I Rの濃度を測定した。さらに、ヒト膵臓および空腸の酸煮沸抽出物も同様に解析し、各ペプチドの存在様式を併せて検索した。

[成 績]

ATT後の血糖、血中インスリン、G I, G L I, G L P-1 I Rはいずれも有意に上昇したが、G I, G L Iはいずれも30分後に頂値となり、共に前値の約三倍に達した。ゲルろ過により空腹時血漿G L P-1 I Rはvoid volume, チトクロームCより大分子側、合成GLP-1 (1-37) の付近、およびそれより小分子側の計4つの異なった分子サイズに分かれた。負荷後の血液検体を用いた場合、第二のピークのみが著明に増加した。一方、膵臓抽出物のゲルろ過では第二及び第三のGLP-1 I Rピークに相当する免疫活性のみが認められた。これらの成績より、この大分子型GLP-1 I Rはグルカゴンと共に膵に存在し、アルギニン刺激により膵臓より放出されることが示唆された。

OGTTにより、正常者の血中G I, 及びGLP-1 I Rはともに軽度低下したが、G L Iは約30%上昇した。胃切者では経口糖摂取により血中G Iは殆ど変動しなかったが、GLP-1 I Rはむしろ有意に上昇した。また、血中G L Iも正常者に比し著しい上昇を示した。正常者の負荷後15分血漿のゲルろ過の解析で、GLP-1 I Rの第二のピークが低下し、第三のピークが増加することが明らかとなった。しかし、負荷30分後には第二のピークはほぼ前値に復し、第三のピークも15分時より低下した。また、OGTT後、GLP-1 I Rが奇異性上昇を示した胃切者検体のゲルろ過においても第二のピークが低下し、第三のピークが著明に上昇した。即ち、OGTT後のこの奇異性の血漿GLP-1 I Rの上昇は分子量3500-4200に相当する第三のピークの成分によることが明らかとなった。

正常者におけるTGTT後の血糖、血中I R I, G I, G L I, G L P-1 I Rはいずれも胃切者のOGTT時の推移に類似し、血中GLP-1 I Rが上昇した。また、TGTT後の血漿ゲルろ過でも胃切者と同様、第三のピークが著明に増加した。すなわち、OGTT時における正常者および胃切者の血中GLP-1 I Rの反応の相違が胃切除者の器質的变化に由来するのではなく、腸管へのグルコースの流入速度の差に起因することが示唆された。さらに、人空腸抽出物のゲルろ過像では第三のピークに一致するGLP-1 I Rのみが認められた。これらの成績を総合すると、OGTT/TGTT後の血中GLP-1 I Rは腸管より分泌されたものであると想定することが出来る。

[総 括]

- 1) アルギニン刺激により分子量約13000の大分子GLP-1 I Rがグルカゴンと共に膵臓より分泌される。
- 2) 経口糖負荷後、血中GLP-1 I R成分中の膵臓由来の大分子GLP-1 I Rは低下し、腸管由来のGLP-1 I Rが増加した。また、後者の分泌の多寡は腸管へのグルコースの流入速度に依存した。
- 3) 膵臓及び腸管におけるプログルカゴン代謝には組織特異性が認められ、前者ではグルカゴン、大分

子GLP-1 IR, 後者ではグリセンチン, GLP-1が主要な代謝産物である事が判明した。更に, これらのグルカゴン関連ペプチドはいずれも生理的条件下で分泌されうることも明らかとなった。

論文の審査結果の要旨

本研究は新しくその存在が確認されたグルカゴン関連ペプチド特にGLP-1の生体内に於ける分布やその分子形態を明らかにすることにより, 生体におけるプログルカゴンのプロセッシングの組織間特異性を明らかにすることを主目的とした。その目的のためGLP-1特異的抗体を作製すると共に, 高感度ラジオイムノアッセイ系を確立した。この系を用いて, ヒトにおけるGLP-1の分泌動態の検索を行った。アルギニンによる腸型GLP-1の分泌を示し, また, ブドウ糖による腸間型GLP-1の分泌およびそれに影響する因子をも併せて証明したことは内分泌学的に意義深いことである。更には本ペプチドのブドウ糖依存性インスリン分泌促進能すなわちインクレチン作用を併せて証明したことは, 本ペプチドの臨床的重要性を示すと同時に糖尿病など各種病態における本ペプチドの関与の可能性を示唆するものである。本研究は臨床的ならびに学問的に重要な研究であり, 学位に値するものである。