



Title	Trophic Effect of Glucagon- (1-21) - Peptide on the Isolated Rat Ileal Mucosal Cells
Author(s)	渡邊, 伸明
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37129
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	わた 渡	なべ 邊	のぶ 伸	あき 明
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9111		号
学位授与の日付	平成2年3月24日			
学位授与の要件	医学研究科内科系専攻			
	学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	Trophic Effect of Glucagon-(1-21)-Peptide on the Isolated Rat Ileal Mucosal Cells (グルカゴン(1-21)の腸粘膜増殖促進効果)			
論文審査委員	(主査) 教授	垂井清一郎		
	(副査) 教授	川島 康生	教授	矢内原千鶴子

論文内容の要旨

〔目的〕

膀胱カルガゴンの29アミノ酸残基のうちC端側8残基を除いたフラグメントであるカルガゴン(1-21)(G(1-21))は、膀胱カルガゴンのもつ肝糖代謝に及ぼす影響は無いものの、消化管平滑筋弛緩作用などを有することが知られていた。さらに、G(1-21)免疫活性が、消化管ホルモンのひとつであるエンテロカルガゴン(gut glucagon-like immunoreactivity, gut GLI)の一分子型として、小腸粘膜に存在することが当教室で示されている。

一方、従来よりラット空腸切除後に回腸の代償性肥厚と同時に、血中エンテロカルガゴンレベルの上昇が観察されることなどから、エンテロカルガゴンは腸管成長を促す液性因子の有力候補と考えられてきた。今回、G(1-21)のラット腸粘膜に対する trophic effect と腸管の創傷治癒機転について検討を加えた。

〔方法ならびに成績〕

(1) ラット回腸粘膜上皮短期培養細胞のチミジン取り込みに及ぼすカルガゴン関連ペプチドの効果について検討した。細胞は Sprague-Dawley(S-D)ラット回腸より、EDTA、コラゲナーゼを用いて単離した。3時間の preincubation の後、glucagon-like peptide(GLP)を含むカルガゴン関連ペプチドを methyl-[³H]thymidine とともに加え、48時間の incubation の後、細胞を cell harvester にて回収し、取り込まれた ³H を測定した。G(1-21)は最も強い作用を示し、 $2.5 \times 10^{-7} M$ での $315 \pm 85\%$ をピークとして 2.5×10^{-9} から $2.5 \times 10^{-6} M$ までの全ての濃度において有意にチミジン取り込みを促進した。オキシントモデュリンと GLP-1-(7-36)

amide) は $2.5 \times 10^{-6} M$ において有意に 2 倍程度の促進効果を示した。肺グルカゴンも取り込みを増加させる傾向を示した。GLP-1-(1-37), GLP-2, グルカゴン(22-29)はいずれも効果を示さなかった。

(2) ラット回腸粘膜に対する G(1-21) の作用を *in vivo* の系で検討した。体重 135-145g の雄 S-D ラット 10 匹(実験群、対照群各 5 匹)を用いた。実験群のラットにはミニオスモティックポンプを側腹部皮下に埋設し、4 週にわたって 36 μg/日の G(1-21) を投与した。対照群には同様に蒸留水を投与した。その間、摂食摂水は自由に行わせた。4 週後、屠殺し血液及び各組織を採取した。小腸の全長には差は無いが、単位長当たりの湿重量、ならびに回腸粘膜の蛋白含量(ローリー法)及び DNA 含量(フルオロメトリック法)は実験群で高い傾向を認めた。ヘマトキシリノーエオジン染色標本により、光顕下に測定した回腸粘膜の villi の高さは実験群で $513 \pm 28 \mu m$ と対照群の $445 \pm 8 \mu m$ に比し有意な増加が観察された。屠殺時の血漿中のエンテログルカゴン(gut GLI)は実験群が対照群の約 3 倍を示した。

(3) 結腸の外科的創傷の治癒に及ぼす G(1-21) の効果について検討した。雄 S-D ラット 14 匹の上行結腸を回盲部から 3 cm の部位で切断し、6-0 の吸収糸を用いて全層結節縫合により端端吻合した。投与群として無作為に 5 匹を選び、腹腔内にミニオスモティックポンプを埋設し、 $180 \mu g/$ 日の G(1-21) を 5 日間にわたって投与した。術前術後を通して低纖維食を与えた。手術から 5 日後、吻合部を含む結腸を約 5 cm 切除し、その両端を結紮した。この結腸標本内へメチレンブルー水溶液を一定速度で注入することによって内圧を上昇せしめ、吻合部での bursting が起きた瞬間の内圧を bursting pressure として記録した。投与群の bursting pressure は $101 \pm 19 \text{ mmHg}$ と対照群の $47 \pm 7 \text{ mmHg}$ に比し有意に高値であった。

〔総括〕

G(1-21) は、*in vitro* の実験系において回腸粘膜上皮細胞へのチミジン取り込みを最も強く促進した。さらに G(1-21) は *in vivo* においてもラット回腸粘膜に対して trophic effect を示すとともに、実験的には術後の結腸縫合部の治癒も有意に促進した。以上より G(1-21) は腸管に対し、強力な trophic effect を有するエンテログルカゴンの一分子型である事が示唆された。

論文の審査結果の要旨

本研究は、肺グルカゴンの N 端フラグメントであるグルカゴン(1-21)がラット回腸粘膜の増殖を促進することを、*in vitro*, *in vivo* の実験系において明らかにした。すなわち、グルカゴン(1-21)は回腸粘膜上皮細胞のチミジン取り込みを促進するとともに、正常ラットに投与することにより回腸の絨毛高を増加させた。一方、グルカゴン(1-21)が結腸切断術後の縫合部の治癒を促進する可能性を示し、今後の臨床応用への道を拓いた。いずれもグルカゴン関連ペプチドについて新たに示された知見であり、学位に値する研究と考えられる。