

Title	Trophic Effect of Glucagon- (1-21) - Peptide on the Isolated Rat Ileal Mucosal Cells
Author(s)	渡邊, 伸明
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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)	わた	なべ	のぶ	あき
	渡	邊	伸	明
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9 1 1 1		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〕

豚グルカゴンの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グルカゴン(1-21)(G(1-21))は、豚グルカ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グルカゴン(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、血中エンテログルカゴンレベルの上昇が観察されることなどから、エンテログルカ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グルカ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単離した。3時間のpreincubationの後、glucagon-like peptide(GLP)を含むグルカ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、 $2.5 \times 10^{-7}\text{M}$ での $315 \pm 85\%$ をピークとして 2.5×10^{-9} から $2.5 \times 10^{-6}\text{M}$ 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 2.5×10^{-6} Mにおいて有意に2倍程度の促進効果を示した。膵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 μ g/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。ヘマトキシリン-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 $513 \pm 28 \mu\text{m}$ と対照群の $445 \pm 8 \mu\text{m}$ 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3cm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 μ 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繊維食を与えた。手術から5日後, 吻合部を含む結腸を約5cm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, 膵グルカゴンの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。