



Title	Presence of glucagon- (1-21) -like immunoreactive substance in the dog small intestinal mucosa
Author(s)	伊藤, 秀彦
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37605">https://hdl.handle.net/11094/37605</a>
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。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	伊	藤	秀	彦
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9279	号	
学位授与の日付	平成2年7月11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	Presence of glucagon-(1-21)-like immunoreactive substance in the dog small intestinal mucosa (イヌ小腸粘膜におけるグルカゴン(1-21)様免疫活性物質の存在)			
論文審査委員	(主査) 教 授	垂井清一郎		
	(副査) 教 授	矢内原千鶴子	教 授	荻原 俊男

### 論文内容の要旨

#### (目的)

グルカゴン関連ペプチドの分子構造と生理作用に関するこれまでの報告によれば、膵グルカゴンよりC端8ヶのアミノ酸が少ないグルカゴン(1-21)は、膵グルカゴンと同等の腸管平滑筋弛緩作用を有する最小ペプチドであり、且つそのラット腸粘膜に対する trophic 作用は、膵グルカゴンより強力であると考えられる。一方、小腸におけるグルカゴン様免疫活性物質(gut glucagon-like immunoreactivity, gut GL I)はRIAにおいてグルカゴンC端特異抗体では認識されず、N端抗体にのみ認識されるペプチドと定義されており、現在までに glicentin, oxyntomodulin の存在が明らかにされているが、その他の分子形については明らかでない。そこで、この強力な生理活性をもつグルカゴン(1-21)が腸粘膜に存在し、gut GL Iの一分子形となりうるか否か検討した。

#### (方法)

各グルカゴン免疫活性物質測定は、次の3種類の抗体を用いて検討した。

- ① AGS18: 膵グルカゴンC端を特異的に認識し、膵グルカゴン免疫活性を測定しうる。
- ② OAL196: 膵グルカゴンN端側を認識し、total GL Iを測定しうる。
- ③ K291: グルカゴン(1-21)のC端部分を認識し、グルカゴン(1-21)様免疫活性(G21-IR)を測定しうる。

グルカゴン(1-21)はJ. Picazo博士より提供を受け逆相HPLCにて純度を確認した上使用した。雑種犬の腸粘膜を酢酸(0.5M酢酸にて15分間煮沸)あるいは酸・エタノール(7.5%エタノ

ール / 0.2 M H C 1 にて 5 分間ホモゲナイズ) 処理し, 得られた抽出液中の total G L I, G 2 1 - I R を測定した。更に抽出液をアセトンにて処理した後 (2 倍量次いで 8 倍量のアセトンを加え遠沈し, 2 度目の沈殿を 1 M 酢酸にて溶解) ゲル濾過及び 3 種類の H P L C (Nucleosil 5 C<sub>18</sub>, MonoS H R 5 / 5, Pep R P C H R 5 / 5 カラム) により連続して分析した。分析は各クロマトグラフィーの G 2 1 - I R (K 2 9 1 にて測定) のピーク分画を更に次のカラムに供することにより実施した。

#### 〔成 績〕

- (1) グルカゴン (1-21) は, グルカゴン N 端抗体 (O A L 1 9 6) とは良好に反応するが, グルカゴン C 端特異抗体 (A G S 1 8) とは全く結合せず, R I A 上 gut G L I として測定された。
- (2) K 2 9 1 を用いた R I A 系において, グルカゴン (1-21) は抗体 K 2 9 1 と良好に反応するが, グルカゴン, oxyntomodulin, グルカゴン (1-20) 及びグルカゴン (1-22) はいずれも K 2 9 1 とほとんど反応せず, 免疫交差性はグルカゴン (1-21) の 0.05% 以下であった。故に K 2 9 1 はグルカゴン (1-21) の C 端部分を特異的に認識していると考えられた。腸粘膜抽出物の希釈曲線はグルカゴン (1-21) の標準曲線とよく一致し, 肠粘膜抽出物中に G 2 1 - I R の存在することが証明された。
- (3) イヌ腸粘膜中の G 2 1 - I R は, 十二指腸より結腸まで広く存在し, 回腸末端で最も高濃度認められた。この G 2 1 - I R 分布は total G L I の分布様式とほぼ一致し, G 2 1 - I R 濃度は total G L I の約 5% であった。
- (4) 小腸粘膜抽出物のゲル濾過により, G 2 1 - I R はウマ心筋チトクローム C (分子量 1 2,3 8 4) のやや大分子側 (ピーク I), oxyntomodulin (分子量 4,4 2 1) のやや大分子側 (ピーク II), グルカゴン (1-21) 標準 (分子量 2,4 4 4) の位置 (ピーク III) に主として 3 つのピークとして溶出された。次いでこのピーク III 分画を 3 種類の H P L C カラムにより連続して分析したところ, どの step においてもグルカゴン (1-21) 標準と一致する位置に G 2 1 - I R, G L I 両免疫活性を有するピークが溶出され, しかも最終段階の逆相 H P L C では单一ピークとして認められた。ピーク I, II はグルカゴン (1-21) 分子とその N 端側への延長部分を含む未知のペプチドと考えられた。

#### 〔総 括〕

- 1) グルカゴン (1-21) は 2 種のグルカゴン抗体を用いた R I A 系にて, gut G L I として認識された。
  - 2) イヌ小腸粘膜にグルカゴン (1-21) 様免疫活性物質が存在した。
  - 3) グルカゴン (1-21) 様免疫活性物質は主として 3 つの分子形よりなり, 最小分子形はグルカゴン (1-21) そのものと考えられた。
- 以上, グルカゴン (1-21) は, 第 3 の gut G L I として腸粘膜に存在することが明らかとなった。

## 論文審査の結果の要旨

グルカゴン（1-21）は腸平滑筋弛緩作用、腸粘膜の trophic 作用において、胰グルカゴンと比較し同等以上の活性を有することが知られている。本研究は、グルカゴン（1-21）のC端部分を特異的に認識する抗体と、ゲル濾過及び3種類のHPLCカラムを用い、犬の小腸粘膜中にこのグルカゴン（1-21）が存在することを明らかにした。また、グルカゴン（1-21）はRIAにおいて、gut GL Iとして認識され、glicentin, oxyntomodulinについて第3のgut GL Iとなることをも明らかにした。この成績は、gut GL Iの新しい生理作用として、特に腸管における粘膜の増殖や平滑筋運動との関与を考慮する上で重要であり、学位に値すると判断される。