The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Suppression of synthesis and release of glucagon by glucagon-like peptide-1 (7-36 amide) without affect on mRNA level in isolated rat islets
Author(s)	倭, 英司
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37629
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

【119】

氏名・（本籍）	倭（やまと）　英（えい）　司（じ）
学位の種類	医　学　博　士
学位記番号	第　9434　号
学位授与の日付	平成2年12月19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	Suppression of synthesis and release of glucagon by glucagon-like peptide-1 (7-36 amide) without affect on mRNA level in isolated rat islets （Glucagon-like peptide-1（GLP-1）のグルカゴン分泌、グルカゴン合成抑制機序の解明）
論文審査委員	（主査） 教授　荻原　俊男 （副査） 教授　垂井清一郎　教授　矢内原千鶴子

論文内容の要旨

【目　的】

GLP—1はプレプログルカゴンmRNAにコードされるグルカゴン様ペプチドの1つで，インスリン分泌刺激作用とともに，グルカゴン分泌抑制作用を有することが報告されている。GLP—1のグルカゴン分泌抑制作用は，ヒトへの投与実験や，各種の動物を用いた膵灌流実験にて報告されているが，その作用機構についての詳細な検討はない。本研究は，単離ラ氏島を用い，グルカゴン分泌量，グルカゴン含有量，グルカゴンmRNA量に及ぼすGLP—1（7—36 amide）の影響を検討することにより，GLP—1のグルカゴン生合成，及びグルカゴン分泌に対する作用機構を明らかにすることを目的とした。

【方　法】

ラ氏島は，ラットの膵臓をコラゲナーゼを用い消化後，Ficoll gradientにて単離した。単離したラ氏島を10％FCSを含むRPMI—1640にて24時間の前培養後，Gey & Gey buffer(glucose 5.5mM)にて1時間培養し，続いて，①Gey & Gey buffer，②10mM Arginineを含むGey & Gey buffer ③10mM Arginineを含むGey & Gey bufferに10，100，1000 pMのGLP—1（7—36 amide)を添加した培養液中で1時間あるいは18時間培養した。

ラ氏島内のグルカゴンは，ラ氏島を酢酸中で煮沸し抽出した。培養上清および抽出したグルカゴン量はC端抗体OAL—123を用いたRIA法で測定した。

ラ氏島のRNAは，キャリヤーとしてイーストtRNAを加え，塩酸リチウムを用い抽出し，ナイロンフィルターにblottingした。その後，フィルターをウシグルカゴンcDNAとhybridizationを行った。また，同一フィルターをβアクチンDNAにて，再hybridizationした。プレプログルカゴンmRNA量は，

得られたオートラジオグラムのスポットをデンシトメーターにて測定し，βアクチンmRNA量にて補正後，コントロールのプレプログルカゴンmRNA量とのパーセンテージにて表示した。

【結　　果】

① グルカゴン分泌に対する影響

培養1時間では，グルカゴン分泌はコントロールでは30.8±3.6 pg／10 islets であったが，アルギニン刺激により，45.5±4.5 pg／10 isletsと有意に増加した（p<0.01）。GLP—1を10 pM，100pM，1000 pM添加すると，グルカゴン分泌は，それぞれ50.0±6.8，25.6±8.6，22.5±4.5 pg／10 islets となり，GLP—1　100 pM，1000 pMでアルギニン刺激によるグルカゴン分泌は有意に抑制された（p<0.01）。培養18時間では，グルカゴン分泌はコントロールでは36.2±2.3 pg／10 islets であったがアルギニン刺激により251±43 pg／10 isletsと有意に増加した（p<0.01）。GLP—1を添加すると，グルカゴン分泌は132±28 pg／10 islets(10 pM，p<0.05），84.5±13 pg／10 islets(100 pM，p<0.01），91.1±15 pg／10 islets(1000 pM，p<0.01）となり，有意にグルカゴン分泌が抑制された。

② ラ氏島内グルカゴン含有量に対する影響

培養1時間後のラ氏島内グルカゴン含有量はコントロールでは609±293 pg／30 islets であったが，アルギニン刺激により1,940±337 pg／30 isletsと有意に増加した（p<0.05）。GLP—1　1000 pMを添加するとグルカゴン含有量は409±289 pg／30 isletsに有意に抑制された（p<0.01）。培養18時間後のラ氏島内グルカゴン含有量はコントロールでは17.4±4.5 pg／30 islets であったがアルギニン刺激により123±22.5 pg／30 isletsに有意に増加した。GLP—1　1000 pMを添加するとグルカゴン含有量は29.8±4.5 pg／30 isletsに有意に抑制された。

③ グルカゴンmRNA量に対する影響

培養1時間後のラ氏島内プレプログルカゴンmRNA量はアルギニン刺激にて，コントロールの103±29％，GLP—1　1000 pMを添加しても104±17％で，有意な変化はみられなかった。培養18時間では，アルギニン刺激により，コントロールの186±40％に有意に増加した（p<0.01）。GLP—1　1000 pMを添加しても201±40％でアルギニン刺激によるグルカゴンmRNA量の増加は抑制されなかった。

【総　　括】

① アルギニン単独刺激では，培養1時間，18時間ともにラ氏島内グルカゴン含有量とグルカゴン分泌量が増加した。プレプログルカゴンmRNA量は培養1時間では増加しなかったが，　培養18時間では増加した。

② GLP—1（7—36　amide)を添加すると，培養1時間，18時間ともにラ氏島内グルカゴン量とグルカゴン分泌の増加が抑制された。しかし，培養18時間でみられたプレプログルカゴンmRNA量の増加はGLP—1（7—36　amide)により抑制されなかった。

③ 以上より，GLP—1（7—36 amide）はグルカゴンmRNA量には影響せず，グルカゴンmRNAからグルカゴン合成，グルカゴン分泌の段階を抑制していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

GLP—1（7—36 amide）は，腸管L細胞から分泌され，膵からのインスリン分泌を刺激し，腸管由来のインスリン分泌刺激因子であるとして注目されている。

本研究は，GLP—1（7—36 amide）のグルカゴン合成，分泌に対する効果とその作用機構を検討する目的で，単離ラ氏島を用い，GLP—1（7—36 amide）のグルカゴン分泌量，グルカゴン含有量，グルカゴンmRNA量に対する影響を検討したものである。その結果，GLP—1（7—36 amide）はグルカゴンmRNA量には影響せず，アルギニンによるグルカゴン含有量及びグルカゴン分泌が抑制されることが明らかとなった。

これらの結果より，GLP—1（7—36 amide）はグルカゴン合成，分泌を抑制し，その抑制機構は，グルカゴンmRNAからプログルカゴンへの翻訳の段階以降であることが判明した。

以上より，本研究は，GLP—1の生理的役割に新知見を加え，学位論文に値するものである。