



Title	睥グルカゴンの分泌調節とプロセッシング機構の解明 ： グルカゴン産生細胞を用いた研究
Author(s)	松村, 俊子
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40983
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	まつ 村 とし 子 松 村 俊 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 3 7 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 9 年 8 月 4 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	膵グルカゴンの分泌調節とプロセッシング機構の解明 ーグルカゴン産生細胞を用いた研究ー
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松澤 佑次 (副査) 教 授 荻原 俊男 教 授 網野 信行

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

プログルカゴン遺伝子にコードされる膵グルカゴンと glucagon-like peptide-1 (GLP-1) は、それぞれ膵 A 細胞と腸管 L 細胞で合成され、いずれも主に摂食と関連して糖質の代謝調節に寄与するというユニークな特性を有しているが、それぞれのプロセッシングや分泌におけるお互いの相互作用については明らかでない。本研究では、グルカゴン分泌細胞を用いて、GLP-1 の活性型である GLP-1 (7-36) amide によるグルカゴン分泌調節機構を検討すると共に、プログルカゴン遺伝子を導入した下垂体腫瘍由来の細胞を用いて、プログルカゴンの細胞特異的なプロセッシングの分子機構を明らかにすることを試みた。プロセッシングの検討では、インスリン等いくつかのホルモンのプロセッシングに関与するプロセッシング酵素 prohormone convertase (PC) 1 と PC2 の細胞特異的な発現とその役割を明らかにすることを試みた。

【方法】

膵島腫瘍由来のグルカゴン分泌細胞 In-R1-G9 を一夜培養し、翌日細胞を洗滌した後、GLP-1 (7-36) amide を含む培養液で培養し、培養液中のグルカゴン濃度と細胞内 cAMP 濃度を測定した。また、同細胞株とプログルカゴン遺伝子を導入した下垂体腫瘍由来の 2 種の細胞株 AtT-20 と GH3 を用いて、それぞれの細胞のプロセッシング産物を逆相 HPLC 解析するとともに PC1 及び PC2 の発現をノザンプロット解析した。遺伝子導入は、ラットプログルカゴン cDNA を β -アクトチンをプロモーターとする発現ベクターへ組み換え、リポフェクション法にて細胞へトランスフェクトした後、プログルカゴン発現細胞を G418 で選別することにより行った。グルカゴン関連ペプチドの免疫活性すなわち glucagon-like immunoreactivity (GLI) と glucagon immunoreactivity (GI) の測定は、それぞれグルカゴン N 端非特異抗体 (OAL196) と C 端特異抗体 (OAL123) を用いた RIA 法によった。

【成績】

1. In-R1-G9 細胞におけるグルカゴン分泌に対する GLP-1 (7-36) amide の作用

In-R1-G9 細胞におけるグルカゴン分泌 (GI) は、GLP-1 (7-36) amide により、濃度依存性に抑制される傾向にあ

り、 10^{-9} M の濃度では有意の抑制が認められた ($p < 0.05$)。また、同濃度において GLP-1 (7-36) amide は細胞内 cAMP 濃度を有意に減少させた ($p < 0.001$)。

2. 各細胞におけるプログルカゴンのプロセッシング産物と PC の発現

In-R1-G9 細胞とプログルカゴン遺伝子を導入した AtT-20細胞及び GH3 細胞は、逆相 HPLC 解析において、オキシントモジュリン及び膵グルカゴンのピークに一致するペプチドを産生した。AtT-20細胞では、総 GLI 量のうち、55% がオキシントモジュリン、7% がグルカゴン、GH3 細胞では、19% がオキシントモジュリン、42% がグルカゴンであった。すなわち、AtT-20細胞ではオキシントモジュリンが、GH3 細胞ではグルカゴンが優位に産生されており、それぞれ腸管 L 細胞、膵 A 細胞に近いモデルであると考えられた。In-R1-G9 細胞においては、総 GLI 量のうち、42% がオキシントモジュリン、27% がグルカゴンであり、腸管 L 細胞と膵 A 細胞の中間の性格を持つと考えられた。

PC の発現は、AtT-20細胞では PC1 mRNA が、PC2 mRNA より優位であった。GH3 細胞においては、PC2 mRNA のみが発現していた。In-R1-G9 細胞では、PC1、PC2 の mRNA が共に発現していた。このことより、PC1 がオキシントモジュリン、PC2 が膵グルカゴンのプロセッシングに関与していることが示唆された。

【総括】

プログルカゴンは膵と腸管で、それぞれにおける組織特異的な PC により異なったプロセッシングを受けることが明らかになった。すなわち、膵 A 細胞ではグルカゴン、腸管 L 細胞では GLP-1 (7-36) amide が産生されるが、GLP-1 (7-36) amide は従来知られているインクレチンとして、摂食後のインスリン分泌を促進するだけでなく、本研究によりグルカゴン分泌を抑制することも明らかになった。以上より、同じプログルカゴンから産生される異なるペプチドホルモンが協同してエネルギーの同化を円滑に行っているものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

プログルカゴン遺伝子にコードされるグルカゴンと glucagon-like peptide-1 (GLP-1) は、それぞれ膵 A 細胞と腸管 L 細胞で合成、分泌され、いずれも主に摂食と関連して糖質の代謝調節に寄与するという特性を有している。本研究では、プログルカゴンの膵と腸管における組織特異的なプロセッシングに PC1 と PC2 の 2 種のプロホルモンコンバターゼが関与しているか否かをプログルカゴン遺伝子を導入した内分泌細胞を用いて検討した。その結果、膵型のプロセッシングには PC2 が、腸管型のプロセッシングには PC1 が関与していることを明らかにした。また、本研究では、膵グルカゴン分泌がアデニレートシクラーゼ系を介して、GLP-1 の活性型である GLP-1 (7-36) amide により抑制されることをグルカゴン分泌細胞を用いて明らかにした。即ち、腸管 GLP-1 (7-36) amide は従来知られているインクレチンとして、インスリン分泌を促進するだけでなく、グルカゴン分泌を抑制することによっても糖質代謝に貢献していると考えられた。

本論文は、膵グルカゴンの生合成機序と分泌調節に新しい知見を示したものであり、学位授与に値すると考えられる。