

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム (2009.03) 9巻1号:58～59.

平成19年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト課題
小腸インクレチン細胞における転写および分泌調節機構の解明

藤田征弘

10) 小腸インクレチン細胞における転写および分泌調節機構の解明

研究代表者 藤田 征弘

[はじめに]

GLP-1 (Glucagon-like peptide-1) と GIP (Glucose-dependent insulintropic polypeptide) は小腸から分泌される腸管ホルモンで、食事由来の刺激により小腸のL細胞 (GLP-1) とK細胞 (GIP) から門脈血中に分泌され、膵臓ランゲルハンス島のβ細胞からそれぞれのG蛋白共役性受容体を介して血糖依存性にインスリンの合成及び分泌を促進する。GLP-1、GIPは様々な生理活性をもち、糖代謝の恒常性維持などにおいて非常に重要な役割を果たしている。しかしインクレチン分泌細胞の転写調節やインクレチン分泌を誘発する機構はあまり解明されていない。糖尿病を代表とする糖代謝異常の治療の新しいアプローチに応用するため、本研究ではインクレチン分泌細胞の分化・転写メカニズムを解明し、さらに分泌促進のメカニズムを明らかにしようと試みた。

[結果1 転写調節]

免疫組織学的検討では、GIP陽性細胞は常に転写因子のPax6、Pdx1を共発現していた。ヒト、ラット十二指腸においてPdx1はGIP陽性細胞だけでなく多くの粘膜上皮細胞で陽性であった。このことは、Pdx1のみではGIP発現に不十分であることを示唆している。一方Pax6の発現はほぼGIP陽性細胞に限定されていた。ラット空腸では、Pdx1はGIP陽性細胞にのみ発現していた。回腸では約30%のGLP-1陽性細胞がGIPを共発現しており、それらはPax6、Pdx1とも陽性であった。このことはPdx1がGLP-1の発現を抑制しないことを示している。一方、GLP-1陽性GIP陰性細胞ではPax6のみ陽性で、Pdx1は発現していなかった。興味あることにマウス網膜でもGIPの免疫染色陽性細胞を認め、GIP陽性細胞はPax6とPdx1を共発現していた。小腸内分泌細胞株であるSTC-1では、Pax6、Pdx1の発現を免疫染色およびRT-PCRで認めたが、IEC-6ではすべて陰性だった。human GIPプロモーターによるルシフェラーゼアッセイでの検討では、STC-1はIEC-6に比較し40倍のGIP転写活性を示した。IEC-6ではPax6及びPdx1の強制発現によって、それぞれ6倍及び4倍のGIP転写活性が上昇した。また、STC-1においてGIP-184からGIP-145のプロモーター切断によって転写活性は90%低下した。STC-1において優性阻害型Pax6、Pdx1の強制発現はGIP転写活性をそれぞれ約70%、20%抑制した。ゲルシフト法によりPax6及びPdx1が近位GIPプロモーター(-193/-138)に結合することを確認した。一方、Pax6の強制発現はプログルカゴンの転写活性を25倍上昇させたが、Pdx1は上昇させなかった。STC-1において優性阻害型Pax6はプログルカゴン転写活性を約70%抑制したが、優性阻害型Pdx1は転写活性に影響を与えなかった。

[結果2 分泌調節]

小腸の内分泌細胞 (K細胞、L細胞) から分泌されるGIP、GLP-1などのインクレチンホルモンは食事(糖や脂質)依存性に分泌され、それらのホルモンは血糖依存性にインスリン分泌を促進する。K細胞、L細胞に舌と同じ味覚受容体の発現が報告され、特に甘味受容体のT1R2+T1R3およびalpha-gustducinといったシグナル伝達系が発現していると報告されている。In

in vitro では、人工甘味料であるスクラロースがインクレチンの分泌を促進したと報告がある。一方、経口インスリン分泌促進剤のミチグリニドは膵 Langerhans 島 β 細胞上の SU 受容体、ATP 感受性 K^+ Channel (SUR1/Kir6.2) を介して速効性、短時間にインスリン分泌促進作用を発揮するが、GIP や GLP-1 産生細胞にも β 細胞型の SUR1/Kir6.2 が発現されている事が最近報告されている。今回正常ラットを用いて甘味料とミチグリニドのインクレチン分泌促進作用の有無について検討した。

ミチグリニドナトリウム塩を経口にて正常ラットに投与した。非絶食下ラットに単回投与を行ったが経口または腹腔内投与で同様の血糖降下作用を認めた(約 50% 低下)。経口ブドウ糖試験 (2g/kg) に比較し、ミチグリニドをブドウ糖と同時経口負荷することで血糖値は著明に低下した。(125mg/dl vs 53mg/dl 2 時間値)。また、その際のインスリン頂値はミチグリニドを同時負荷にて約 2.5 倍上昇した (0.34ng/ml vs 0.81 ng/ml)。これらの実験によりミチグリニドが正常ラットの糖代謝に十分影響を与えていることが明らかとなった。陽性コントロールであるブドウ糖経口負荷時で、GIP の血中濃度は負荷後 10 分でピークに達し基礎値の約 4 倍に達した。ミチグリニド単独経口投与と対照(蒸留水)単独投与を行い比較検討したが、ミチグリニド群と対照群では GIP 値に有意差を認めなかった。

組織学的検討ではラット小腸で alpha-gustducin と GIP の共発現を認めた。甘味料の生理学的検討には、スクラロース、サッカリン、ステビア、D-トリプトファンを用いた。腹腔内ブドウ糖負荷試験 (IPGTT) と経口での甘味料の共負荷の実験で、いずれの甘味料も IPGTT 単独と比較して血漿ブドウ糖濃度曲線を改善しなせず、経口ブドウ糖でのブドウ糖濃度の頂値より有意に高かった。したがって、これらの甘味料はインクレチンの分泌を促進していない可能性が考えられた。それを明らかにするため絶食ラットにブドウ糖または甘味料の単回経口投与を行って GIP を測定したが、ブドウ糖のみ GIP 分泌を促進し甘味料では GIP の血中濃度は変化しなかった。

[まとめ]

転写調節機構では Pax6 並びに Pdx1 がともに GIP

遺伝子発現に重要な転写因子であることが示唆された。一方分泌促進機構の解明では、糖尿病治療ターゲットとしての“インクレチン分泌促進化合物”を見いだすことができず、今後の検討・研究課題となった。

[謝 辞]

今度、“独創性のある生命科学研究”の学内資金より研究費を賜ったことに非常に感謝しております。さらに今回の研究に University of British Columbia の Timothy J. Kieffer 教授から多大なご指導を頂いたことを心より感謝いたします。