

氏 名	やす だ こういち ろう 安 田 浩 一 朗
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	論 医 博 第 1603 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	HAMSTER GASTRIC INHIBITORY POLYPEPTIDE RECEPTOR EXPRESSED IN PANCREATIC ISLETS AND CLONAL INSULINSECRETING CELLS:ITS STRUCTURE AND FUNCTIONAL PROPERTIES (豚ラ島およびインスリン分泌細胞株に発現するハムスターガストリックインヒビトリープオリペプチド受容体の構造と機能について)
論文調査委員	(主 査) 教 授 千 葉 勉 教 授 成 宮 周 教 授 清 野 裕

### 論 文 内 容 の 要 旨

グルカゴンスーパーファミリーに属する gastric inhibitory polypeide (GIP) は、ブドウ糖によるインスリン分泌を促進するが、その作用機構についてはなお明らかではない。そこでこの機序の解明するため、GIP 受容体 cDNA のクローニングを試みた。また得られたクローンに関してその機能の解析を行った。

#### (1) GIP 受容体 cDNA のクローニングと発現組織の検討

ラット豚ラ島 cDNA をテンプレートとし、既報のグルカゴンスーパーファミリー受容体のアミノ酸配列を参考にディジェネライトオリゴヌクレオチドを作成し、これをプライマーとして PCR を行った。得られた PCR 産物を回収し未知のグルカゴンスーパーファミリー受容体を検索した。得られた未知の受容体部分 cDNA をプローブとしてハムスター豚β細胞由来細胞株である HIT-T15 細胞の cDNA ライブラリーをスクリーニングし全長を含むクローンを得た。ハムスターの GIP 受容体 (haGIPR) cDNA は、1386bp の読み取り枠 (open reading frame) があり、これより決定されたアミノ酸の一次構造は462個のアミノ酸より成り、疎水性分析より、7個の膜貫通部を持つと思われる。これは、他のG蛋白共役受容体と同じ特徴を持ち、GIPR もG蛋白共役受容体の一種と考えられる。haGIPR はアミノ酸レベルで、ラットグルカゴン受容体と47%、ラット glucagon like polypeptide-1 (GLP-1) 受容体と47%の相同性を持ち、グルカゴンスーパーファミリーの受容体も、遺伝子ファミリーを形成していると考えられた。

ノザン法を用いた検討では、豚ラ島および HIT-T15 細胞でのみ強く発現しており、その他の組織には明確なシグナルが認められなかった。このことより GIP の主な標的はインスリン分泌細胞であると考えられた。

#### (2) GIP 受容体の機能解析

haGIPRcDNA を発現プラスミドに組み込み Chinese hamster ovary (CHO) 細胞に導入し、受容体を発現させた細胞を作成し、これを用いて GIPR と各種ペプチドとの結合を検討した結果、GIPR は

GIP とのみ高い親和性 ( $IC_{50}=9.6nM$ ) を示し、他のグルカゴンファミリーとの結合は見られなかった。また GIPR 発現細胞における cAMP 産生を検討したところ、GIP 刺激によってのみ cAMP の産生が増加した、またその反応は容量依存的であった ( $EC_{50}=15.0nM$ )。このことにより、GIPR は GIP の特異的受容体であり、アデニル酸シクラーゼを介して細胞内 cAMP を増加させ、そのシグナルを伝達すると考えられた。

#### 論文審査の結果の要旨

申請者はインスリン分泌の分子機構を解明する一環として、ハムスターの GIP 受容体 (haGIPR) のクローニングおよびその機能解析を行った。クローニングの結果、haGIPR は、462個のアミノ酸で、疎水性分析より、7個の膜貫通部を持つことが予想された。これは、他のG蛋白共役受容体と同じ特徴を持ち、haGIPR もG蛋白共役受容体の一種と考えられる。ノザン法を用いた検討では、豚ラ氏島および HIT 細胞のみに強く発現しており、その他の組織には明確なシグナルが認められなかった。したがって GIP の主な標的はインスリン分泌細胞であると考えられた。haGIPR cDNA を発現させた細胞を作成し、これを用いて各種ペプチドとの結合を検討した結果、haGIPR GIP とのみ高い親和性を示した。また haGIPR 発現細胞における cAMP 産生を検討したところ、GIP 刺激によってのみ cAMP の産生が増加し、その反応は容量依存的であった。このことより、haGIPR はアデニル酸シクラーゼを介してそのシグナルを伝達すると考えられた。

以上の研究は豚β細胞に発現するハムスターの GIP 受容体の遺伝子構造を解明し、その機能の解析に寄与するところが大きい。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成9年3月3日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。