

氏 名	いわ くら ひろし 岩 倉 浩
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2898 号
学位授与の日付	平 成 17 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	Studies on pathophysiological significance of ghrelin in pancreas. (膵臓における ghrelin の病態生理学的意義の検討)
論文調査委員	(主 査) 教 授 横 出 正 之 教 授 千 葉 勉 教 授 稲 垣 暢 也

論 文 内 容 の 要 旨

グレリンは、growth hormone secretagogue 受容体 (GHS-R) の内因性リガンドとして同定された28アミノ酸からなるペプチドで、3番目のセリン残基がアシル化修飾を受ける特徴的な構造を有している。また GHS-R を介したグレリンの作用にはアシル化が必須であることが知られている。本研究では、膵臓におけるグレリンの生合成と病態生理学的意義を明らかにする目的で、ヒト膵島細胞腫でグレリン遺伝子発現を検討し、また、膵島でグレリンを過剰発現するトランスジェニックマウスの作成と解析を行った。

ヒト膵島細胞腫でのグレリン発現の検討

ヒト膵島腫瘍でのグレリン発現を検討する目的で、手術時に得られたインスリノーマ2症例、グルカゴノーマ2症例の4症例を対象として、グレリン遺伝子発現を RT-PCR 法により検討し、全例で発現を確認した。その中で多発性内分泌腫瘍 I 型に伴うグルカゴノーマの1例において、ノーザンブロット法で、グレリン遺伝子発現の亢進を認めた。免疫染色でも、グルカゴノーマ細胞はグレリン様免疫活性陽性であった。ヒトのグルカゴノーマでグレリン遺伝子発現が亢進する症例があることより、 α 細胞におけるグレリン産生が示唆された。

膵臓でのグレリン過剰発現トランスジェニックマウスの作成と解析

膵臓におけるグレリン生合成と病態生理学的意義を検討する目的で、ラットのグルカゴンプロモーターおよびインスリン II プロモーターを用いたグレリン過剰発現トランスジェニックマウス (RGP-G Tg および RIP-G Tg) を作製した。

① RGP-G Tg

RGP-G Tg では、膵組織グレリン濃度は2倍に上昇しており、 α 細胞におけるグレリン生合成機構の存在が示唆された。一方、膵組織デスアシルグレリン濃度は約50倍に上昇していたが、膵組織グレリン濃度は2倍にとどまったことから、アシル化能力には一定の限界があることも同時に示唆された。しかし、RGP-G Tg では血中グレリン濃度、デスアシルグレリン濃度の変化はなく、膵臓の形態、機能にも変化は認められなかった。

② RIP-G Tg

RIP-G Tg では、膵組織および血中グレリン濃度は上昇しておらず、膵組織および血中デスアシルグレリン濃度はそれぞれ約1000倍、約3倍に上昇していた。RIP-G Tg マウスでは、腹腔内グルコース負荷にて、耐糖能に差は認められなかった。しかし、負荷後2分、30分のインスリン分泌反応が対照と比較して有意に低反応であった ($P < 0.05$)。一方、膵島単離培養での検討では、2.8, 8.3, 16.7mM グルコースに対するインスリン分泌反応は対照と有意差は認められなかった。インスリン負荷試験では低血糖反応がより強い傾向を示した。以上より、RIP-G Tg のグルコース負荷試験におけるインスリン分泌の低下は、血中濃度の上昇したデスアシルグレリンによるインスリン感受性の亢進によるものである可能性が示唆された。

本研究により、ヒトのグルカゴノーマでグレリン遺伝子が高発現する例があることが明らかになり、ヒトにおける膵 α

細胞でのグレリン発現が示唆された。トランスジェニックマウスの解析により、 α 細胞で、アシル化能力の存在が示唆された。また、デスアシルグレリンが糖代謝に影響を与える可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究で申請者は、膵臓でのグレリンの生合成と病態生理学的意義の解明を目的として、ヒト膵島細胞腫瘍でのグレリン遺伝子発現の検討、および膵臓でのグレリン過剰発現トランスジェニックマウスの作成と解析を行った。

ヒトのインスリノーマ2例、グルカゴノーマ2例を対象とした膵島細胞腫瘍でのグレリン遺伝子発現の検討では、多発性内分泌腫瘍Ⅰ型に伴うグルカゴノーマの1例でグレリン遺伝子発現の亢進を認め、 α 細胞でのグレリン産生が示唆された。

ラットのグルカゴンプロモーターを用いてグレリン過剰発現トランスジェニックマウスを作成したところ、膵組織グレリン濃度が2倍に上昇しており、 α 細胞でのグレリン生合成機構の存在が示唆された。ラットのインスリンⅡプロモーターを用いたグレリン過剰発現トランスジェニックマウスを作製したが、膵組織のデスアシルグレリン濃度が1000倍に増加し、その結果血中濃度は3.4倍に上昇した。腹腔内グルコース負荷試験で耐糖能に有意差は認められなかったが、インスリン分泌反応は有意に低反応であった ($P < 0.05$)。インスリン負荷試験の低血糖反応がより強い傾向であることより、過剰発現したデスアシルグレリンによるインスリン感受性の亢進による可能性が示唆された。

以上の研究は、グレリンの膵臓における生合成と作用の解明に貢献し、グレリンの臨床応用に寄与するところが多い。

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17年4月21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。