

論 文 内 容 要 旨

題目 Hypoxia Decreases Glucagon-Like Peptide-1 Secretion from the GLUTag Cell Line

(低酸素は GLUTag 細胞からのグルカゴン様ペプチド-1 の分泌を抑制する)

著者 Yoshitaka Kihira\*, Ariunzaya Burentogtokh\*, Mari Itoh, Yuki Izawa-Ishizawa, Keisuke Ishizawa, Yasumasa Ikeda, Koichiro Tsuchiya, Toshiaki Tamaki

\*These authors contributed equally to this work

平成27年4月1日発行, Biological and Pharmaceutical Bulletin, 第38巻第4号

514 ページから 521 ページに発表済

内容要旨

グルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) は、食餌摂取に応答し、腸管上皮細胞である L 細胞から分泌され、膵臓のインスリン分泌を促進するホルモンである。腸管上皮は、その構造上低酸素状態であり、食餌摂取によりさらに酸素濃度が低下することが知られている。そこで、GLP-1 の分泌には食餌摂取による腸管上皮の酸素濃度変化が影響すると考え、研究を行うことにした。

まず、低酸素により GLP-1 分泌がどのように変化するかについて検討を行った。GLP-1 分泌細胞である GLUTag 細胞を低酸素環境下 (1% O<sub>2</sub>) におき、フォルスコリン (Fsk) 刺激により培養上清中に分泌される GLP-1 を測定した。その結果、低酸素により GLP-1 分泌が抑制されることが明らかとなった。GLP-1 は、preproglucagon (ppGCG) 遺伝子より産生される前駆体が、proprotein convertase 1/3 (PC1/3) により切断されることにより生じる。そこで、ppGCG および PC1/3 の発現を解析した。その結果、ppGCG、PC1/3 ともに Fsk 刺激により発現上昇し、これらは低酸素環境下において抑制された。さらに、ppGCG および PC1/3 の Fsk による発現上昇が、protein kinase A (PKA) の阻害剤 H89 の添加により抑制されたことから、ppGCG および PC1/3 の発現上

昇には cAMP-PKA 経路の活性化が関与していると考えられる。これは、低酸素環境下における GLP-1 分泌低下は、GLP-1 産生の低下によるものであることを示唆している。次に、GLP-1 の分泌は、細胞内 ATP の増加により促進されることが知られていることから、解糖系の酵素について解析を行った。解糖系で最初に働く酵素である hexokinase 2 (HK2) の発現は、低酸素により低下することが明らかとなった。H89 を用いて PKA の活性を阻害したところ、HK2 の発現が抑制されたことから、HK2 は cAMP-PKA 経路により制御されていることが示唆された。また、ピルビン酸から乳酸を産生する lactate dehydrogenase A は、低酸素により発現上昇することが明らかとなった。細胞内 ATP および乳酸濃度を測定したところ、ATP は減少しており、乳酸は上昇していた。これらのことから、低酸素環境下において糖代謝が抑制され、ATP 産生が低下することが示唆された。このことから、細胞内 ATP の低下も GLP-1 分泌抑制に関与していると考えられる。

以上のことから、食餌摂取による腸管の酸素濃度低下が GLP-1 分泌の抑制に関与していると考えられる。GLP-1 は、食直後一過性に分泌されるが、低酸素による GLP-1 分泌抑制は、GLP-1 分泌が過剰にならないようにする機構であると考えられる。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

報告番号	甲医第 1297 号	氏 名	Ariunzaya Burentogtokh
審査委員	主査	安倍 正博	
	副査	赤池 雅史	
	副査	常山 幸一	

題目 Hypoxia Decreases Glucagon-Like Peptide-1 Secretion from the GLUTag Cell Line  
(低酸素は GLUTag 細胞からのグルカゴン様ペプチド-1 の分泌を抑制する)

著者 Yoshitaka Kihira, \* Ariunzaya Burentogtokh, \* Mari Itoh, Yuki Izawa-Ishizawa, Keisuke Ishizawa, Yasumasa Ikeda, Koichiro Tsuchiya, Toshiaki Tamaki  
\*These authors contributed equally to this work.  
平成 27 年 4 月 1 日発行 Biological and Pharmaceutical Bulletin 第 38 巻第 4 号  
514 ページから 521 ページに発表済  
(主任教授 玉置俊晃)

要旨 グルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) は、食事摂取に応答し腸管上皮細胞である L 細胞から分泌され、膵臓のインスリン分泌を促進するホルモンである。GLP-1 は、preproglucagon (ppGCG) 遺伝子より産生される前駆体が、proprotein convertase 1/3 (PC1/3) により切断され産生される。腸管上皮はその構造上低酸素状態であり、食事摂取によりさらに酸素濃度が低下することが知られている。本研究では、GLP-1 分泌細胞である GLUTag 細胞を用いて、食事摂取による腸管上皮の酸素濃度変化が GLP-1 の分泌に与える影響について検討を加えた。得られた結果は、以下のとおりである。

- 1) マウスを用いて、大腸上皮が低酸素環境であり、食餌により低酸素環境が増強し HIF-1 $\alpha$  の発現が増加することを確認した。
- 2) フォルスコリン (Fsk) 刺激により GLUTag 細胞培養上清中に分泌される GLP-1 は正常酸素環境下でも低酸素 (1% O<sub>2</sub>) でも増加した。Fsk 刺激による GLP-1 分泌増加は、低酸素により抑制された。
- 3) Fsk 刺激により ppGCG と PC1/3 はともに発現が増加した。この Fsk 刺激による発現増加は、低酸素環境下において抑制された。Fsk による ppGCG および PC1/3 の発現増加は、protein kinase A (PKA) の阻害剤 H89 の添加により抑制された。
- 4) 解糖系酵素である hexokinase 2 (HK2) のタンパク量は、低酸素により低下した。一方、低酸素により lactate dehydrogenase A のタンパク量は増加した。H89 を用いて PKA の活性を阻害したところ、HK2 の発現が抑制された。低酸素状況では、GLUTag 細胞内の ATP は減少しており、乳酸は上昇していた。

以上の結果より、低酸素環境下では GLUTag 細胞内の糖代謝が抑制され、ATP 産生が低下して GLP-1 分泌が抑制されることが明らかとなった。食事摂取による腸管の酸素濃度低下が GLP-1 分泌の抑制に関与していることが示唆された。本研究の成果は GLP-1 分泌機序解明に寄与し、学位授与に値すると判定した。