

氏 名 水 谷 真
学 位 の 種 類 博 士 (医 学)
学 位 記 番 号 博 士 (論) 第 3 7 2 号
学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 授 与 年 月 日 平 成 2 2 年 3 月 2 5 日
学 位 論 文 題 目 Localization of acyl ghrelin- and des-acyl ghrelin-immunoreactive
cells in the rat stomach and their responses to intragastric pH

(アシルグレリン、デスアシルグレリン含有細胞のラット胃における分布の違いおよび胃内pHと分泌量の関係)

審 査 委 員 主 査 教 授 西 克 治
副 査 教 授 杉 原 洋 行
副 査 教 授 安 藤 朗

論文内容要旨

*整理番号	376	(ふりがな) 氏名	水谷 真
学位論文題目	Localization of acyl ghrelin- and des-acyl ghrelin-immunoreactive cells in the rat stomach and their responses to intragastric pH (アシルグレリン、デスアシルグレリン含有細胞のラット胃における分布の違いおよび胃内 pH と分泌量の関係)		
<p>研究の目的</p> <p>グレリンは 1999 年に成長ホルモン放出促進因子受容体の内因性リガンドとしてラットとヒトの胃から同定されたアミノ酸 28 個からなるペプチドである。摂食行動をコントロールするペプチドのほとんどが視床下部で産生される事が知られているが、末梢臓器で産生され脳を受容体に作用して摂食をコントロールするペプチドとしては唯一レプチンが知られていた。グレリンはまさに末梢臓器で産生され、脳に作用して摂食行動をはじめ多彩な中枢作用を発揮するペプチドで、このペプチドの発見で「末梢臓器が脳の機能をコントロールする」という脳腸相関の新しい局面が展開する事になった。</p> <p>その後、3 番目のセリン残基が炭素原子数 8 個の脂肪酸であるオクタン酸でアシル化修飾されたグレリン (アシルグレリン) と修飾されていないデスアシルグレリンの 2 つの分子構造があることが明らかになった。アシルグレリンとデスアシルグレリンは生理学的機能が異なっている。アシルグレリンは強力な成長ホルモン分泌促進作用を有し、食欲、体重調節、消化管運動調節、不安発現、循環器調節、糖代謝、脂肪生成、学習、記憶など、多彩な生理作用を発揮する事が知られている。一方、デスアシルグレリンには摂食行動を抑制し、胃の空腹期運動を抑制するという、アシルグレリンと拮抗する作用がある。</p> <p>従来の研究では、アシルグレリンとデスアシルグレリンを区別する特異抗体がなかったため、トータルグレリン (アシルグレリン+デスアシルグレリン) に関する報告とアシルグレリンに関する報告が混在し、混乱を招いていた。</p> <p>トータルグレリン (アシルグレリン+デスアシルグレリン) やアシルグレリンでは消化管粘膜での免疫組織化学が報告されており、その局在は明らかにされていたが、デスアシルグレリンの消化管粘膜での免疫組織化学の報告は無く、局在は明らかにされていなかった。本研究では、アシルグレリンとデスアシルグレリンの特異抗体を作成し、それぞれのラット胃粘膜における局在を明らかにした。</p> <p>また、これまでアシルグレリンの分泌をコントロールする種々の因子が研究されてきたが、胃内 pH がアシルグレリン、デスアシルグレリン分泌にどのような影響を及ぼすかは明らかでなかった。本研究では、胃内 pH とアシルグレリン、デスアシルグレリン分泌の関係を明らかにした。</p> <p>方法</p> <p>雄性ウィスターラット (250~300g) を用いて、アシルグレリン、デスアシルグレリンに対する抗体を作成し、ELISA にて 492nm の吸光度でマイクロプレートリーダーを用いて交差反応を測定した。また、アシルグレリン、デスアシルグレリンの局在を、免疫吸収試験や免疫蛍光多重染色の共焦点顕微鏡観察で明らかにした。ラット胃におけるアシルグレリン、デスアシルグレリン含有細胞分布の定量解析も行った。さらに、ラット胃の ex vivo 灌流実験でアシルグレリン、デスアシルグレリンの分泌量と胃内 pH の関係を調べた。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

結果

今回、アシルグレリンとデスアシルグレリンの特異抗体を作成したことにより、アシルグレリンとデスアシルグレリンを分けて消化管粘膜で染色することが可能となった。

アシルグレリンとデスアシルグレリンの局在部位は胃体部粘膜と胃前庭部粘膜であり、胃前庭部粘膜の方が密度が高かった。デスアシルグレリンを単独で含有する細胞は、細胞質を管腔につけた開放型をしており、ソマトスタチンと共存した。一方、アシルグレリンを含有する細胞は、細胞質を管腔につけない閉鎖型をしており、デスアシルグレリンとオベスタチンが共存していた。

胃内 pH を変化させアシルグレリンとデスアシルグレリンの分泌量を調べたところ、門脈血中のアシルグレリンの分泌量は胃内 pH の影響を受けなかった。しかし、門脈血中のデスアシルグレリン分泌量は pH4 に比べて pH2 で有意に増加した。

考察

管腔に細胞質をつけた開放型のデスアシルグレリン含有細胞は、管腔中の刺激を受容して分泌反応を起こすと考えられる。また、管腔に細胞質をつけない閉鎖型の細胞は、血液由来の物質と反応して分泌反応を起こすと考えられる。

空腹時にはアシルグレリンが上昇し摂食亢進作用をしめすことが知られているが、摂食後に胃酸分泌が亢進し、胃内が pH4 から pH2 に変化するとデスアシルグレリン量を増加させる。つまり摂食後に胃酸分泌が亢進して、デスアシルグレリン分泌が刺激されることが明らかになった。食事を摂取した後の摂食中止の役割をデスアシルグレリンが担っている可能性が考えられた。

結論

本研究では、アシルグレリンとデスアシルグレリンの特異抗体を作成し、アシルグレリン、デスアシルグレリンのラット胃粘膜における局在を明らかにした。また、胃酸分泌の亢進がデスアシルグレリン分泌を刺激することを明らかにした。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	376	氏名	水谷 真
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨)</p> <p>申請者は、末梢臓器で産生され、脳を介して摂食行動などをコントロールするといわれているグレリンの内、脂肪酸修飾のあるアシルグレリン(A)と脂肪酸修飾のないデスアシルグレリン(D)を個別に認識する特異抗体を新規に作製し、両物質のラット胃粘膜での局在を検索し、また、これらの物質分泌と胃内 pH との関係を一明らかにすべく検討を行っている。検討結果から、作製抗体は、両物質に特異的反応性を示し、ともに胃前庭部粘膜に発現が多く、A、D 共存細胞は、管腔側に開口しない閉鎖型細胞に見られ、開口する開放型細胞で、D は、ソマトスタチンと共存していたことを明らかとしている。また、胃内が pH4 から pH2 に変化すると、すなわち、摂食後、胃酸分泌が亢進し pH が低下すると D 分泌が刺激されることを示し、D が摂食中止の役割を担っていることを示唆している。</p> <p>以上の結果は、グレリンに関し新しい知見をあたえ、医学臨床に応用が期待され、医学の発展に寄与するものと考えられ、最終試験として、論文内容に関連した試問を受け、博士(医学)の学位論文に値すると判断される。</p>			
(平成22年1月26日)			