

平成14年度自治医科大学研究奨励金研究成果報告

グレリンによるインスリン分泌調節機構の解明

生理学講座統合生理学部門 出崎 克也

グレリンは、オーファンレセプターである成長ホルモン放出促進因子受容体 (GHS-R) の内因性リガンドとして胃から精製された新規ペプチドであり (Nature 402, 1999), 摂食中枢である視床下部弓状核にも局在する。グレリンは、強力な成長ホルモン放出と摂食亢進作用を持ち、摂食障害の治療への応用が期待されており、また、心不全ラットにおける体重増加と心機能改善が報告されている。一方、GHS-R は全身組織に広く分布しており、より広範な生理作用が推察されるが、未だ明らかにされていない。胃のグレリン産生細胞は、膵ランゲルハンス島の α 細胞に類似していることから、膵島におけるグレリンの存在および血糖調節への関与が示唆される。そこで本研究では、膵におけるグレリンのインスリン分泌調節機構を明らかにすることを目的とした。

1. グレリン投与による血糖値の変化

一晩絶食させたマウスの腹腔内にグレリン (0.1-10nmol/kg) を投与すると、容量依存的に血糖値の上昇が観察された。一方、グレリン受容体 (GHS-R) 拮抗薬 ([D-Lys³]-GHRP-6 および [D-Arg¹, D-Phe⁶, D-Trp^{7,9}, Leu¹¹]-substance-P) は、マウス血糖値を低下させた。

2. 膵島におけるグレリンおよび GHS-R の局在

膵ランゲルハンス島におけるグレリンの局在を免疫組織化学的に検討した結果、ラット膵島においてグレリンの局在が観察された。さらに、RT-PCR 法を用いてラット膵島における mRNA の検出を行った結果、グレリンおよび GHS-R の mRNA の発現が確認された。

3. グレリンのインスリン分泌抑制作用

ラット膵臓からコラゲナーゼ法により単離したランゲルハンス島を用いて、ELISA 法にてインスリン分泌を測定した。その結果、グレリン

(10nM) はグルコース (8.3mM) 誘発インスリン分泌を抑制した。一方、低濃度グルコース (2.8mM) 条件下では、グレリンはインスリン分泌に影響しなかった。さらに、グレリン受容体 (GHS-R) 拮抗薬は、グルコース (5.6mM) 存在下でのインスリン分泌を増加した。

4. 細胞内 Ca^{2+} 動態に対するグレリン作用

ラット膵臓ランゲルハンス島に Ca^{2+} 感受性蛍光色素 (fura-2/AM) を負荷し、細胞内 Ca^{2+} 濃度の変化を蛍光画像解析法を用いて測定した。その結果、グレリン受容体 (GHS-R) 拮抗薬は、膵島組織におけるグルコース刺激 (5.6-22.3mM) による細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を有意に増加した。さらに、ラット膵臓ランゲルハンス島から単離した β 細胞を用いて細胞内 Ca^{2+} 濃度を測定した結果、グレリン (10nM) はグルコース刺激による膵 β 細胞内 Ca^{2+} 濃度増加反応を抑制したが、トルブタミド、KCl およびアセチルコリン刺激による Ca^{2+} 濃度増加には影響しなかった。

本研究の結果から、内在性のグレリンが空腹時における過度な低血糖状態を防御している可能性が考えられる。その機序として、膵島内に存在するグレリンが膵臓 β 細胞におけるグレリン受容体に作用し、ATP 依存性 K チャネルの閉鎖過程より上流 (おそらくグルコース代謝過程) を阻害することによりインスリン分泌を抑制することが示唆される。今後、糖尿病や肥満とグレリン作用との関連を解明することにより、グレリンの病態生理学的意義を明らかにする予定である。

筋分化過程に関わるスプライシング調節因子の同定と機能解析

生化学講座機能生化学部門 坂下 英司

多くの遺伝子において細胞、組織、あるいは