

小腸吸収上皮細胞におけるアミノ酸輸送の細胞内過程

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 花井, 洋行 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/855

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 2号	学位授与年月日	昭和59年 3月26日
氏名	花井洋行		
論文題目	小腸吸収上皮細胞におけるアミノ酸輸送の細胞内過程		

論文題目

小腸吸収上皮細胞におけるアミノ酸輸送の細胞内過程

論文の内容の要旨

小腸吸収上皮細胞では、アミノ酸、糖の吸収過程は刷子縁膜ではナトリウムイオンとの共輸送で能動的に細胞内に取り込まれ、血管側の側底膜では促進拡散等で細胞外に輸送される事が知られている。しかし細胞内部膜におけるアミノ酸、糖の輸送能とその機構に関しては現在全く明らかでない。

目的：アミノ酸の細胞内輸送機構を調べる目的で、細胞内部膜として大きな表面積を占める小胞体膜の透過性と輸送能を検討した。

方法：Wistar系ラットの空腸上皮細胞から細胞分画法により小胞体の膜小胞を高純度に単離し、放射性物質で標識したL型、D型アラニンの取り込みをミリポアフィルター法で測定し、種々のイオン条件、阻害剤等の影響について検討した。

成績：小胞体膜は浸透的に活性であり、D型に比し、L型アラニンを特異的に透過させ、NaCl, KCl, choline Cl等の存在でovershoot現象を示したが、NaSCN, KSCN等Clイオンを含まない塩は無効であった。塩素イオンの膜透過阻害剤であるSITS(4-acetamido-4'-isothiocyano-2,2'-disulfonic stilbene)でovershoot現象は消失した。Valinomycin, FCCP(carbonylcyanide p-nitro fluoromethoxy phenylhydrazone)は取り込みに影響を与えなかった。

結論：ラット空腸上皮細胞の小胞体膜には塩素イオン勾配で促進されるL型アラニンの輸送機構が存在する。

論文審査の結果の要旨

申請者は小腸吸収上皮細胞の刷子縁膜から取込まれたアミノ酸の細胞内部における輸送機構を知る目的で、ラット空腸上皮細胞から小胞体膜成分を単離して膜小胞(vesicle)を精製し、これを用いてアラニンの透過性と輸送能について調べた。その結果、アラニンの取込みは塩素イオン濃度勾配により促進される過程であることを見出した。これは刷子縁膜におけるアミノ酸取込みの Na^+ が関与する過程とは異なる機構が存在することを見出したもので、研究成果自体高く評価されるべきものである。

研究内容は主論文PART1, PART2に記述されている。

PART1は膜小胞へのL-アラニンの取込みが塩素イオン(Cl^-)濃度勾配により促進されることを記したものである。実験はラジオアイソトープ標識したL型及びD型アラニンの膜小胞への取込みを種々の条件下で行っている。その結果 1) L型のみが取込まれること 2) 取込みは浸透的に活性であること 3) NaCl存在下では取込みは促進されること、またこのとき一過性の強い取込み(overshoot)を示した後に時間の経過と共に最終値に近づくこと 4) このovershootは膜小胞を予めNaCl溶液中で放置(incubation)するときは見出されないが、取込み量は同じ最終値に近づくこと 5) NaCl以外の塩化物でも促進効果は見られるが Cl^- 以外のアニオンでは取込みが促進されないこと、という知見を得た。これらはアラニンの取込みが Cl^- が関与する過程であることを示唆する。

PART2はPART1で得た結論をより確実にすべく種々のイオンの効果、特定のイオン担体(ionophore)の効果等を調べたものである。実験はこれらの物質が存在した場合、また事前にincubationしたか否かについてそれぞれの場合の効果を取込みの促進及びovershootの有無について比較検討すべく行ったものである。その結果KClのみがovershootのincubationによる消失を起さなかった他は用いた塩化物全てについて取込みの促進及び事前のincubationによるovershootの消失がみられた。また K^+ , H^+ 担体(valinomycin, FCCP)は効果がなく、アニオン透過阻害物質(SITS)は Cl^- の効果を消失させることを見出した。他の知見として取込みのovershootは温度の上昇と共により早められること、その活性化エネルギー値は27 kcal/molであること、また取込みは高pH域の方が促進されることがわかった。

このような小胞体膜のアラニン取込み過程の存在は、上皮細胞内で刷子縁膜から Na^+ と共に取込まれ、側

底膜側から促進拡散で輸送される過程の他に、小胞体膜を通して Cl^- とともに取込まれ、細胞外へ輸送される過程の存在をも示唆している。なお、この論文のPART1は現在American J. of Physiologyに投稿中であり、審査の経過から近々この論文が掲載されることが予想される。

以上の論文内容に基づいて審査委員会は申請者に論文内容の説明を講演の形で行うことを求め、内容に関する質疑応答を行った。審査委員会はこの論文の内容が小腸吸収上皮細胞内の栄養物質の細胞内輸送に関する新しい知見を得たものであり、直接膜小胞を用いての研究例がこれ迄にないことと併せて、十分に国際的評価が得られるものであると判断した。また論文の形式、英文表現も国際的に通用し得るものと認めた。よってこの論文は本学博士課程学位論文にふさわしいこと、また申請者は学位授与に値するものと判定した。

論文審査担当者	主査	教授	南	方	陽							
	副査	教授	本	田	西	男	副査	教授	藤	田	道	也
	副査	教授	森	田	之	大	副査	教授	川	口	治	夫