HamaMed-Repository
浜松医科大学学術機関リポジトリ
浜松医科大学
Hamamatsu University School of Medicine

Induction of mitochondrial serine : pyruvate aminotransferase of rat liver by glucagon and insulin through different mechanisms

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 宮嶋, 裕明 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/928

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　　７５号	学位授与年月日	平成　元年　３月２７日
氏　　名	宮　嶋　裕　明		
論文題目	Induction of mitochondrial serine : pyruvate aminotransferase of rat liver by glucagon and insulin through different (グルカゴンとインスリンによる異なる機構を介するラット肝ミトコンドリアのセリン：ピルビン酸アミノ転移酵素の誘導)		

医学博士　宮嶋裕明

論文題目

Induction of mitochondrial serine:pyruvate aminotransferase of rat liver by glucagon and insulin through different mechanisms

（グルカゴンとインスリンによる異なる機構を介するラット肝ミトコンドリアのセリン：ピルビン酸アミノ転移酵素の誘導）

論文の内容の要旨

<はじめに>

ラット肝のセリン：ピルビン酸アミノ転移酵素（SPT）は、肝実質細胞のミトコンドリアとペルオキシゾームに局在するが、このうちミトコンドリアのSPT（SPTm）のみがグルカゴンの投与により著しい誘導を受ける。本研究では、ホルモンによるSPTm生合成の制御機構を解析する目的で、一般的にグルカゴンと関連して作用するインスリン、ハイドロコーチゾンおよびタンパク合成阻害剤であるサイクロヘキシミドの効果を検討した。

<方法>

体重180－200gのWistar系雄ラットを24時間絶食にした後、グルカゴン、インスリン、ハイドロコーチゾン、サイクロヘキシミド（各々体重100g当たり300μg、2U、5mg、500μg）を種々の組み合わせで腹腔内に同時投与した。酵素活性は投与24時間後の肝で測定し、mRNAは投与3.5時間後（ただしタイムコースは指定の時間後）の肝より調製した。mRNAの測定は、ウサギ網状赤血球溶血液を用いた無細胞タンパク合成とRNAブロット解析を行い検討した。またSPTm－mRNAのサイズの変化をオリゴ（dT）存在下でのリボヌクレアーゼHによる消化により調べた。

<結果と考察>

1）一般的にはグルカゴンと相反的に働くインスリンが、グルカゴンと同様にmRNAの増量に基づくSPTmの誘導をもたらした。しかし、グルカゴンとインスリンの投与によりもたらされるSPTm－mRNA（約1900ヌクレオチド）の増量のタイムコースは明らかに異なっていた。すなわち、グルカゴンを投与した場合には3.5時間後に、インスリンの場合には6時間後にSPTm－mRNA増量のピークが見られた。またサイクロヘキシミドの同時投与により、グルカゴンによるSPTm－mRNAの増量は影響を受けなかったのに対し、インスリンによる誘導は顕著に抑制されたことから、インスリンによる同mRNAの増量のみがある種のタンパク性因子の新たな合成を必要とすると推定された。

2）一般的にはグルカゴンと協同的あるいは許容的に作用するハイドロコーチゾンは、グルカゴンによるSPTm－mRNAの増量、したがってSPTmの誘導に対してのみ抑制的に作用し、インスリンによる誘導には影響を及ぼさなかった。

3）グルカゴンおよびインスリンにより増量したSPTm－mRNAは各々ピークに達した後徐々に減少したが、これに伴いmRNAのサイズは約1900ヌクレオチド長から1700－1800ヌクレオチド長への減小が認められた。mRNA増量のピーク時と短縮後で翻訳産物のサイズ（約45kDa）は同一であり、かつ両者（1900nt－mRNA、1700－1800nt－mRNA）共にオリゴ（dT）存在下でのリボヌクレアーゼHによる消化により同一サイズ（約1600ヌクレオチド長）まで減少したことから、グルカゴンおよびインスリンによるSPTm－mRNAの誘導にポリ（A）部分の長さの変化が伴うと推定された。

<結論>

ラット肝SPTmの生合成は、mRNAレベルでグルカゴンおよびインスリンにより異なった機構で調節されており、グルカゴンによる調節は更にハイドロコーチゾンにより制御されていることが明らかとなった。

論文審査の結果の容旨

肝のアミノ酸代謝に関与する酵素セリン：ピルビン酸アミノトランスフェラーゼ（以下SPT）にはミトコンドリアに存在するもの（SPTm）とペルオキシゾームに存在するもの（SPTp）がある。前者はグルカゴンによって強く誘導され、その誘導は糖質コルチコイドで抑制される。

本研究ではインスリンのSPTm誘導に対する作用をグルカゴンのそれと比較した。また、グルカゴン、インスリン、ハイドロコーチゾン、サイクロヘキシミドの種々の組み合わせ投与がSPTmに与える作用について検討した。

その結果、1）SPTmに対してインスリンによる正の誘導があり、その際ハイドロコーチゾンは抑制しないこと、2）グルカゴンの場合と違ってサイクロヘキシミドによって強く抑制されること、3）インスリンとグルカゴンの同時投与はそれぞれの単独投与よりも大きい効果があること、4）SPTmのmRNAのレベルの変化もタンパク質のそれに平行していること、5）また興味あることに、誘導されたmRNAのポリ（A）尾部の大きさは誘導開始後の時間によって異なることなどの事実を見出した。これらの点は高く評価された。

研究発表は質疑を交えつつ行われ、発表後も質疑が続行された。それらのうち主なものは以下のとおりである。

1　SPTpの機能
2　SPTmとSPTpの分子的相違
3　1700 nt のmRNAはSPTpのものか
4　SPTの活性測定法
5　実験の例数と統計処理
6　43 kDa 成分の誘導について
7　グルカゴンとインスリンによる誘導の差
8　RNaseHの作用
9　ポリ（A）尾部のサイズ
10　脱ポリ（A）mRNAの翻訳産物

申請者の以上の試問に対する回答はおおむね適切であり、本研究は医学博士の学位授与に値するものであると審査員全員が一致して判断した。

論文審査担当者　主査　教授　藤田道也
副査　教授　菅野剛史　副査　教授　西村顯治
副査　教授　吉見輝也　副査　助教授　鈴木　修