



Title	消化管内分泌細胞におけるグルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) 分泌制御因子に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	續木, 惇
Description	配架番号 : 2668
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14965号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85837
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	TSUZUKI_Atsumi_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏名 續木 惇

主査 教授 渡邊 雅彦
審査担当者 副査 准教授 岩永 ひろみ
副査 准教授 高畑 雅彦

学位論文題名

消化管内分泌細胞におけるグルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) 分泌制御因子に関する研究
(Studies on regulation factors of glucagon-like peptide-1 secretion in intestinal endocrine cells)

本学位論文は、グルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) の分泌制御機構の解明を目的とし、GLP-1 と蛍光タンパク質の融合タンパク質を作製することで生細胞イメージングを行うための手法を確立したことを報告した論文である。さらに、この観察・測定法を用いて GLP-1 分泌制御因子の検証を行い、ピルビン酸が GLP-1 分泌を促進することを明らかにした。

審査にあたり、まず副査の高畑准教授から、この蛍光プローブが GLP-1 と同様の生理活性を持つかという点について質問があった。申請者は、現時点でプローブの機能的評価はできておらず具体的なデータは提示できないが、実臨床で使用されている GLP-1 受容体作動薬の構造を参考にプローブを設計したため、生体内で GLP-1 としての生理活性をもつ可能性は十分あり得ると回答した。また、今回の蛍光プローブについて特許出願や製品化の可能性はあるか質問があり、申請者は、現時点で特許出願などの手続きは行っていないが、GLP-1 に限らず他のペプチドホルモンにも応用可能な方法であることが確認されれば、商業化の見込みはあると回答した。ホルモン分泌の顕微鏡観察ではガラスとの接着面を観察する方法が一般的であるのかという質問について、申請者は細胞には極性があり、上面が腸管内腔、接着面が血管側に相当すること、腸管内腔の栄養因子を感知し、血管側へホルモンが分泌されるため、*in vitro* の実験においても同様に接着面からのホルモン分泌を観察する方法が妥当であり、一般的であると回答した。

次に副査の岩永准教授から、今回用いた細胞株の由来と性質についての質問があった。申請者は、GLUTag 細胞、STC-1 細胞のいずれもマウス由来の細胞株であるが、前者は大腸腺腫由来、後者は小腸由来という違いがあり、機能的には GLUTag 細胞は比較的 L 細胞に近い分泌プロファイルだが、STC-1 細胞はコレシストキニン (CCK) やグルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド (GIP) など GLP-1 以外のホルモンを同時に分泌することが分かっていると回答した。そのことに関連し、STC-1 細胞は実際の L 細胞とは異なる性質を持っており、同細胞株の結果のみではピルビン酸が GLP-1 分泌のキー分子であるとは断定できないとの追加コメントがあった。他にピルビン酸誘発性 GLP-1 分泌を支持する知見があるかという質問については、現時点でそのような報告はなく、今後は *in vivo* 実験など他の方法も組み合わせて検証していく必要があると回答した。モノカルボン酸輸送体-1 (MCT-1) 阻害薬を使った検証を行っているかという質問については、阻害薬実験には着手できておらず、今後検討したいと回答した。

最後に主査の渡邊教授から、使用した細胞株に関する背景情報と、同じ蛍光タンパク質を融合した場合でも初期型-改良型の間で細胞内局在の違いが生じたことについての考察を学位論文の本文中に記載すべきとの指摘があり、申請者はこれらの内容を追記すると回答した。また、GLP-1 の分子構造と生理活性の関係性について質問があり、申請者は、活性型 GLP-1 の N 末端側 9 アミノ酸が GLP-1 受容体への結合に必要とされ、今回の蛍光プローブはその領域が保持されているため、少なくとも受容体結合能を有する可能性はあると回答した。ピルビン酸誘発性 GLP-1 分泌については、STC-1 細胞への siRNA 導入や GLUTag 細胞への過剰発現など、実験系が成立しているか再度検証する必要があるとの助言があった。また、腸管内でのピルビン酸と乳酸の平衡状態について考慮する必要があることや、STC-1 細胞は細胞株化の段階で元の L 細胞とは異なる性質を獲得している可能性があり、そこから得られる結果は慎重に解釈すべきとの助言があった。申請者は、これらは今後の解決すべき課題として検討したいと述べた。今後、研究をどのように発展させていきたいかという質問については、GLP-1 分泌刺激薬の開発や、他のペプチドホルモンの可視化にも本手法を応用していきたいと回答した。この論文は、GLP-1 と蛍光タンパク質の融合タンパク質の作製に初めて成功し、GLP-1 の蛍光イメージング手法を確立した点において高く評価され、今後は新規インクレチン関連薬の創薬へ向けたスクリーニングへの適用や、他のペプチドホルモンの可視化への応用が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。