

氏名	西 村 佳
学位の種類	博士（農 学）
学位記番号	甲 第 7 4 号
学位授与の日付	平成 29 年 3 月 20 日
学位授与の要件	信州大学学位規程第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	ニワトリ小腸 L 細胞の機能形態学的研究

論文審査委員	主査	教授	平松	浩二	
		教授	濱野	光市	
		教授	小野	珠乙	
		教授	鏡味	裕	
		助教	米倉	真一	
		教授	大森	保成	(名古屋大学)
		助教	渡邊	敬文	(オブザーバー)

論 文 内 容 の 要 旨

代表的な消化管ホルモンのひとつであるグルカゴン様ペプチド 1 (GLP1) は、食物摂取に反応して消化管の L 細胞から分泌される。ニワトリにおいて、GLP1 は摂食抑制作用及びそ嚢内容物排出抑制作用を持つことから、摂食行動及び消化管運動を調節するホルモンであると言える。ニワトリ L 細胞の GLP1 分泌制御機構を解明し、食餌により GLP1 の分泌をコントロールすることが可能になれば、消化吸収効率向上による効率的動物生産への応用に有益である。しかし、ニワトリ L 細胞のホルモン分泌制御機構については未だ不明な点が多い。本研究ではニワトリ L 細胞の機能形態学的特徴を明らかにすることを目的とし、以下の 3 つの実験を行った。

ニワトリ回腸における陰窩 - 絨毛軸に沿った L 細胞の動態

消化管の内分泌細胞は分泌するホルモンの種類によって分布や組織内の局在が異なる。ニワトリ L 細胞は、主に小腸の陰窩及び絨毛基部に局在し、絨毛先端にはほとんど局在しない。しかし、L 細胞がなぜこのような分布を示すのかは不明であり、この特徴的な分布パターンには細胞の分化及び成熟が関わっている可能性が考えられた。そこで、粘膜上皮での L 細胞のホルモン産生及び分泌動態を明らかにするため、GLP1 の前駆体であるプログルカゴン (PG) の mRNA シグナル発現と L 細胞内の GLP1 含有量の評価を、in situ ハイブリダイゼーション法及び免疫細胞化学法を用いて行った。その結果、PG mRNA 発現細胞は主に陰窩に局在し、絨毛上部では全く見られなかった。金コロイドを用いた免疫細胞化学法による定量的評価は、1 分泌顆粒上に見られる GLP1 陽性金粒子の平均値が、絨毛上よりも陰窩の L 細胞で有意に多いことを示した。この所見は、陰窩に比して絨毛に局在する L 細胞で、分泌顆粒内の GLP1 含有量が減少している可能性を示す。これらの結果より、ニワトリ L 細胞の GLP1 産生は、陰窩でほぼ完了し、絨毛基部より上部では主に分泌が行われることが示唆された。

GLP1 とニューロテンシンの共存

最近の研究で、同一の消化管内分泌細胞内に複数のホルモンが共局在することが報告されている。そこで、ニワトリ腸管の主要なホルモンである GLP1 及びニューロテンシン (NT) について共局在の可能性を検証した。二重蛍光抗体法により、ニワトリ回腸全体で GLP1 及び NT が共局在する細胞が確認された。さらにニワトリ回腸遠位部では、陰窩から絨毛を上がるにつれて GLP1 と NT の共局在割合が減少し、NT にのみ免疫陽性反応を示す細胞の割合が増加することが明らかになった。そこで、免疫細胞化学法により、陰窩-

絨毛軸に沿って L 細胞内の GLP1 及び NT 含有量を調べたところ、陰窩から絨毛を上がるにつれて GLP1 含有量は減少し、NT 含有量が増加していた。また、GLP1 の前駆体である PG mRNA 発現細胞が陰窩に局限して分布したのに対し、NT の前駆体である NT precursor (NTP) mRNA 発現細胞は粘膜上皮全体に分布していた。これらの結果から、ニワトリ回腸の L 細胞の多くは、複数のホルモンを産生・分泌することが明らかとなった。また、回腸遠位部において、陰窩で GLP1 及び NT を産生する L 細胞は、絨毛を上がるにつれて NT 産生細胞に特化する可能性が示唆された。

ニワトリ L 細胞のホルモン分泌を刺激する因子の同定

開放型の消化管内分泌細胞は、食餌刺激を感知してホルモン分泌が誘導されると考えられている。先行研究より、ニワトリの L 細胞はアミノ酸を刺激因子として受容する可能性が考えられたため、無タンパク質飼料へのアミノ酸添加が L 細胞に与える影響を光学顕微鏡及び電子顕微鏡レベルで解析した。添加するアミノ酸として、鳥類必須アミノ酸で、飼料添加剤として使用が認可されているメチオニン及びリジンを使用した。まず、無タンパク質飼料摂取は、回腸の L 細胞の細胞分布密度を通常飼料摂取時と比べ有意に増加させた。さらに、L 細胞内の分泌顆粒の大きさは通常よりも有意に小さくなるとともに、通常では見られないいびつな細長い顆粒を持つ L 細胞が観察された。一方、無タンパク質飼料にアミノ酸を添加した場合、L 細胞の細胞分布密度及び分泌顆粒の大きさは通常飼料摂取時と同レベルであった。また、いびつな細長い分泌顆粒を持つ L 細胞数は減少した。これらの結果は、アミノ酸がニワトリ回腸 L 細胞の GLP1 分泌過程に関わっていることを示唆する。本研究により、ニワトリ L 細胞の多くは、複数のホルモンを産生・分泌する能力を持つことが明らかとなった。GLP1 産生は陰窩でほぼ完了し、絨毛では主に分泌が行われることが示唆された。さらに、回腸遠位部の陰窩において GLP1 及び NT を産生する L 細胞は、絨毛を先端へと移動するにつれて NT を産生する細胞に特化すると考えられる。また、タンパク質の分解産物であるアミノ酸が、L 細胞の分泌刺激因子であることが示された。