

小腸内分泌 L 細胞にて産生されるグルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) は、消化管管腔内の栄養素濃度変化に応じて血中に分泌される。例えば、グルコースやアミノ酸の経口投与により、血中 GLP-1 濃度が上昇する。しかしながら、小腸内分泌 L 細胞がどのようにしてグルコースやアミノ酸などの栄養素、特にアミノ酸を感知し、GLP-1 を血中に分泌するのか、その詳細な分子機構については、明らかになっていない。本論文では、マウス生体から精製した小腸内分泌 L 細胞および小腸内分泌 L 細胞のモデル細胞である GLUTag 細胞を用いて、生理学及び細胞生物学的な視点から解析を行い、新しい知見をもたらしたものである。

まず、小腸内分泌 L 細胞および GLUTag 細胞におけるアミノ酸を感知するアミノ酸受容体候補の遺伝子発現について解析を行ったところ、G タンパク質共役型受容体 C6A (GPRC6A) の発現を見出した。そこで、GPRC6A のリガンドの 1 つである L-オルニチンを GLUTag 細胞に投与し、カルシウム蛍光指示薬を用いて細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) を測定したところ、L-オルニチン投与濃度依存的に $[Ca^{2+}]_i$ 上昇が観察された。一方、GPRC6A、ホスホリパーゼ C およびイノシトール 3 リン酸受容体に対する阻害剤の投与により、この $[Ca^{2+}]_i$ 上昇は、阻害された。

次に、L-オルニチンが GLP-1 分泌を引き起こす可能性について、生細胞イメージング法を用いて、単一 GLUTag 細胞からの GLP-1 分泌動態を可視化解析することで検証した。GLP-1 分泌動態の可視化解析には、緑色蛍光タンパクを融合した組織型プラスミノゲン活性化因子 (tPA-GFP) を遺伝子導入した GLUTag 細胞を用いた。解析の結果、L-オルニチン投与濃度依存的に tPA-GFP 分泌反応数の増加が観察された。また、細胞外に分泌された GLP-1 量を ELISA 法によって測定したところ、L-オルニチン投与濃度依存的に GLP-1 量が増加することを見出した。以上のことから、小腸内分泌 L 細胞に発現する GPRC6A は、L-オルニチンを感知することで $[Ca^{2+}]_i$ 上昇を引き起こし、GLP-1 を分泌させることが明らかとなった。

小腸内分泌 L 細胞は、消化管管腔内のグルコースやアミノ酸などの栄養素を感知することで、GLP-1 を分泌し、体内エネルギー恒常性の維持や摂食調節などの重要な機能を担っている。本論文は、(1) 小腸内分泌 L 細胞にアミノ酸、中でも L-オルニチンを感知する GPRC6A の存在を初めて明らかにし、L-オルニチン投与濃度依存的に GLP-1 分泌が起こることを示した。また、(2) GLP-1 分泌の詳細な分子機構の解析を行うための新たな生細胞イメージング法と解析手法を確立した。したがって、本審査委員会は博士 (学術) の学位を授与するにふさわしいものと認定する。