

トウモロコシ由来ペプチドによる GLP-1 分泌促進機構の解明

応用生物科学専攻 食資源科学講座 食品健康科学専門分野 井上 大輔

1. 目的

Glucagon-like peptide 1 (GLP-1)は下部消化管に多く存在する消化管内分泌細胞 L 細胞より食事刺激に伴い分泌される消化管ホルモンで、インスリン分泌促進や膵β細胞保護、食欲抑制などの作用を有している。これまでの研究においてトウモロコシ由来タンパク質 Zein の酵素加水分解物である ZeinH をラットに経口投与することで GLP-1 の分泌が促進されることが明らかにされている。しかし、GLP-1 産生細胞におけるその作用機構は不明である。本研究では培養細胞を用いて食品ペプチド ZeinH による GLP-1 分泌促進機構を解明することを目的とした。

2. 方法

細胞外カルシウムの有無、阻害剤処理などにより、GLUTag 細胞における ZeinH の認識機構、細胞内情報伝達経路を解析した。

1) <GLP-1 分泌試験> マウス大腸由来の GLP-1 産生細胞株 GLUTag をサブコンフルエントになるまで培養した。細胞を試験溶液中で 1 時間インキュベート後に上清を回収し、GLP-1 濃度を ELISA 法にて測定した。

2) <細胞内カルシウム濃度測定> GLUTag 細胞をカバースリップ上に播種し、24 時間程度培養した。蛍光カルシウム指示薬 Fura-2 AM を負荷後、細胞内イオン測定装置にて蛍光強度変化を測定し、細胞内カルシウム濃度変動を観測した。

3) <逆相 HPLC による分画> ZeinH を C18 カラムを用いた逆相 HPLC に供し、水とアセトニトリルを移動相としてグラジエント溶離し、一定時間ごとに分画した。分画物は凍結乾燥後、上記の GLP-1 分泌試験に供した。

3. 結果と考察

実験① ZeinH による GLP-1 分泌機構の検討

ZeinH による GLP-1 分泌促進作用は細胞内カルシウムキレーターである BAPTA-AM 処理、およびバッファー中のカルシウム（細胞外カルシウム）除去により消失した。また、ZeinH 刺激により細胞内カルシウムシグナルが惹起され、バッファー中カルシウム除去により細胞内カルシウムシグナルが消失した。以上より、GLP-1 産生細胞において、ZeinH は細胞外カルシウムの流入により細胞内カルシウムシグナルを惹起し、GLP-1 分泌を促進していることが示唆された。

また、ZeinH による GLP-1 分泌促進作用はペプチド、アミノ酸の受容体として知られる Calcium-sensing receptor (CaSR) および G protein-coupled receptor family C group 6 member A (GPC6A) のアンタゴニストである NPS2143 処理により消失したことから、ZeinH は CaSR あるいは GPCR6A を介して GLP-1 分泌を誘導することが示唆された。

実験② ZeinH に含まれる GLP-1 分泌活性ペプチドの探索

逆相 HPLC を用いて ZeinH を 30 秒間隔で分画し、GLP-1 分泌活性を測定したところ、特定の画分に GLP-1 分泌促進作用が見られた。

4. まとめ

ZeinH は CaSR, GPCR6A を介して細胞内カルシウムシグナルを惹起し、GLP-1 分泌を促進することが示唆された。また特定のペプチドが ZeinH による GLP-1 分泌促進に寄与していることが示唆された。