

消化管内分泌細胞からの GLP-1 分泌を活性化する ペプチド構造の解明

北海道大学大学院農学研究院生物機能化学分野食品栄養学研究室・准教授 比良 徹

■ 目 的

Glucagon-like peptide-1 (GLP-1)は、インスリン分泌促進、膵β細胞保護、食欲抑制など、抗肥満・抗糖尿病作用を有する消化管ホルモンで、そのアナログは体重減少作用のある糖尿病治療薬(注射薬)として広く用いられている。GLP-1の分泌は食事摂取により促進されることが知られており、申請者は各種食品ペプチドがGLP-1分泌を強く促進することを培養細胞ならびに動物試験にて見出した。これまでに食品タンパク質加水分解物(ペプチド混合物)からの分画や、LC-MS/MSでの配列解析に基づいてGLP-1分泌を強く促進するペプチドの同定を試みられているが、ペプチドとGLP-1分泌促進作用の構造活性相関は未解明な部分が多い。本研究では、従来のような食品素材からの探索、同定とは異なるアプローチとして、多様な配列を網羅するペプチドライブラリーを用い、そのGLP-1分泌活性を、培養細胞を用いて一斉に評価することで、上記課題の解決を目指した。

■ 方 法

GLP-1産生細胞のモデルとして広く用いられるマウス大腸由来の消化管内分泌細胞株 GLUTag を用いた。本研究では限られた量のペプチドサンプルでの評価のために、96 ウェルプレートにてGLP-1分泌を評価できるかを検討した。GLUTag細胞を96ウェルプレートに播種し、サブコンフルエントに達するまで(2日間)培養した。培地を除去後、Hepesバッファーにてウェルを洗浄後、同バッファーに溶解した試料を各ウェルに添加した。37°Cにて60分間インキュベート後に、上清を回収した。上清中のGLP-1濃度を市販のELISAキットにて測定した。

■ 結果および考察

通常の96ウェルプレートにて培養し、分泌試験を実施したところ試験中の培地洗浄などの操作により、プレート底面より剥離してしまう細胞が多く観察された。分泌試験にて回収した上清中のGLP-1濃度を測定したところ、同じ処理を施したウェル間でも測定値の変動が大きく、安定した結果を得られにくいことが明らかとなった。細胞の接着性を向上するため、ポリリジンにてウェル内をコーティングしたプレートを用いて分泌試験を実施した。測定値はコーティング無しの条件に比べて低下したものの、同処理間でのばらつきは低減し、陽性対象による分泌促進が確認され、ポリリジンコーティングしたプレートでの試験条件を採用することとした。各種ジペプチドのGLP-1分泌活性を評価したところ、一部のジペプチドに活性が見られた。この結果は、GLUTag細胞は、ジペプチドを非特異的に感知しているのではなく、何らかの側鎖構造を特異的に認識して、それを引き金としてGLP-1を分泌していることを示唆している。

■ 結 語

GLP-1分泌を促進するジペプチドが見出された。それらのペプチドは共通するアミノ酸を含んでいたことから、そのアミノ酸の存在がGLP-1分泌活性に寄与する可能性が考えられた。