

氏名(本籍)	わた	なべ	まさ	ひこ	(山形県)
学位の種類	医	学	博	士	
学位記番号	博	甲	第	555	号
学位授与年月日	昭和63年3月25日				
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当				
審査研究科	医学研究科				
学位論文題目	MORPHO—FUNCTIONAL ASPECTS OF THE RAT PANCREATIC ENDOCRINE CELLS. I. Twenty—four hour variations in subcellular structures of islet B—, A—and D—cells, portal plasma glucose and insulin levels. II. Immunocytochemical localization of cysteine proteinase and their endogenous inhibitors in islet endocrine cells. (ラット膵島内分泌細胞における形態—機能連関 I. 日周リズムから見た、膵島B, A及びD細胞の細胞内小器官。 II. ライソゾーム酵素、及びその内在性インヒビターの膵島内局在。)				
主査	筑波大学教授	医学博士	山	下	亀次郎
副査	筑波大学教授	医学博士	岩	崎	洋治
副査	筑波大学教授	医学博士	大	貫	稔
副査	筑波大学教授	医学博士	松	下	松雄
副査	筑波大学助教授	医学博士	藤	田	禎三

## 論 文 の 要 旨

Part I. 膵島ホルモンであるインスリン、グルカゴン、ソマトスタチンは生体における糖代謝調節に重要な役割を演じているが、本研究でそれぞれのホルモン分泌をつかさどる膵島B, AおよびD細胞の細胞内小器官について形態学的な日周リズムを中心に解析した。明暗環境下(明期12時間、暗期12時間)に飼育したウイスター系雄ラットを用いて、まず胃および膵組織、さらに門脈血を8時から4時間おきに採取した。採取した膵組織から電子顕微鏡写真を作成し形態計測法により膵島B, AおよびD細胞の細胞内小器官(核、粗面小胞体、分泌顆粒、ライソゾーム)を定量し、また総胃重量、血中グルコースおよびインスリン濃度を測定した。その結果、血中グルコース濃度は総胃重量とともに明期に減少し、暗期に増加する明瞭な日内変動を示した。血中インスリン濃度はグルコース濃度の変化に少し遅れて暗期の終わりから明期の初めにかけて上昇した。これらと各膵島細胞の形態的变化を比較検討した。即ち、形態計測法により求めたB細胞の分泌顆粒の細胞内含量は血中インスリン濃度と相反的に変動した。いいかえれば分泌顆粒の量の減少は分泌活動を反映す

るものと考えられた。B細胞の分泌顆粒の減少に引き続き、A細胞の分泌顆粒は明期の初めに著しく減少した。一方、D細胞の分泌顆粒の減少はBおよびA細胞の分泌顆粒の減少する前後の時間帯において認められた。このD細胞の分泌顆粒の変動は、ソマトスタチンのBおよびA細胞に対する分泌抑制作用を示唆している。以上の結果は日周リズムの観点から既に観察されている肝-膵系および膵島-膵外分泌系の形態機能連関とともに、膵島内の分泌調節機構の存在を示唆する。上記の膵島細胞の形態学的解析を通して、分泌蛋白が合成され、成熟し、蓄積される細胞内領域である粗面小胞体、ゴルジ複合体および分泌顆粒が膵島B、A、D各細胞により特有な形態および量を示すことを明らかにした。更に著者は蛋白の分解と再利用の場としてしられるライソゾームにも形態学的な著しい差異を見出した。

Part II. 膵島細胞のライソゾームに含まれる酵素として代表的なシステインプロテアーゼであるカテプシンB、HおよびLの細胞内局在を特異抗血清を用いて免疫組織化学的に解析した。また、システインプロテアーゼの強力な内在性インヒビターであるシスタチン $\alpha$ および $\beta$ の細胞内局在を同法により検索した。ABC法による光顕免疫組織化学の結果、カテプシンB免疫活性はインスリン、グルカゴン、ソマトスタチンおよび膵ポリペプチド陽性細胞のすべてに認められた。カテプシンH免疫活性はA細胞に強陽性で、PP細胞にも弱い活性が認められた。同活性は他の細胞では陰性であった。一方、シスタチン $\beta$ 陽性細胞はB細胞の分布と全く一致して認められた。カテプシンLおよびシスタチン $\alpha$ は全ての細胞において免疫反応陰性であった。次に、粒子径の異なる金コロイドを用いた二重標識電顕免疫組織化学を行い、B細胞においてインスリン陽性顆粒の一部にカテプシンBと共存するものが認められ、また多数の顆粒でシスタチン $\beta$ との共存が認められた。このことからプロインスリンがインスリンへと成熟する過程においてカテプシンBが関与している可能性が強く示唆された。また、ライソゾームにおけるカテプシンBおよびHの免疫活性は光顕免疫組織化学の結果と一致する分布様式を示した。この膵島細胞によるライソゾーム酵素の分布様式の違いは、分解されるべき蛋白の違いによるものではないかと推察された。

以上の研究結果から、(1)ラット膵においてB、A、D細胞の細胞内小器官は形態学的検討からそれぞれの日内変動を行っており、更に相互間で調節し合っていることが示唆された。特にグルカゴンを分泌するA細胞では分泌顆粒とライソゾームは体積などにおいて二峰性の日内変動を示しており、ホルモン分泌を介して血糖調節機構に複雑な作用を発揮していることが示唆された。(2)各膵ホルモンの生成過程でそれぞれに特有なカテプシンが働き、その調節(抑制)にシスタチンが関与している可能性が示唆された。

## 審 査 の 要 旨

膵内分泌系はインスリン，グルカゴン，ソマトスタチン，膵ポリペプチドなど多くのホルモンを分泌し，血糖調節などホメオスターシスの面から重要な役割を演じている。それら相互間の分泌調節機構については血中ホルモン値からの検討はあったが，形態学的検討はほとんど行われていない。本研究は膵ランゲルハンス島のB，A，D細胞の分泌顆粒など細胞内小器官について電顕レベルで詳細な計測を行い，それぞれの日内変動と相互連関を明らかにした点が十分に評価される。またグルカゴンを分泌するA細胞では分泌顆粒が二峰性の日内変動を示すことを明らかにしたことは，このホルモンが複雑な調節作用を持つものとして大変興味深い。今後，血中グルカゴン値などホルモンレベルとの詳細な対比検討により，重要な知見が得られるものと期待される。

よって，著者は医学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。