

平成 24 年度「地神芳文記念研究助成」 成果報告要旨

研究題目：DPP-4 との相互作用が仲介する膵 α -アミラーゼの
N-型糖鎖認識の役割

研究者：伊達 公恵

所属：お茶の水女子大学大学院 人間文化創成科学研究科

膵 α -アミラーゼは小腸における主要なデンプン消化酵素であり、十二指腸刷子縁膜(BBM)の糖鎖に結合することを見出している。これまでに、十二指腸における膵 α -アミラーゼの糖鎖リガンドとしてジペプチジル・ペプチダーゼ-4 (DPP-4)を同定した。そこで本研究では、膵 α -アミラーゼと DPP-4 の糖鎖を介する相互作用解析から、その生体機能を明らかにすることを目的とした。

まず、膵 α -アミラーゼ固定化カラムを用いたアフィニティークロマトグラフィーと ELISA 法によって相互作用を調べたところ、どちらの方法においても膵 α -アミラーゼと DPP-4 は結合活性を示した。また、ブタ十二指腸の免疫組織染色によって、膵 α -アミラーゼと DPP-4 は主に BBM で共局在が観察された。この組織染色により、非絶食状態で観察される膵 α -アミラーゼが、絶食状態ではほとんど観察されないことを見出した。そこで、絶食状態の十二指腸を膵 α -アミラーゼ溶液で処理すると、膵 α -アミラーゼが経時的に組織内へ取り込まれることが判明した(図1)。DPP-4 は HepG2 細胞において細胞膜からエンドサイトーシス経路を経て取り込まれるとの報告(Slimane TA. et. al. *Mol. Biol. Cell.* 14(2): 611-24, 2003)があったため、膵 α -アミラーゼを蛍光標識し、Caco-2 細胞を用いて、その動きを観察した。その結果、膵 α -アミラーゼは細胞膜に結合後、エンドサイトーシス経路を経て、リソソームに到達し、分解・消失することが明らかとなった。

これらの結果から、DPP-4 と膵 α -アミラーゼの糖鎖を介した相互作用は、膵 α -アミラーゼがエンドサイトーシスを受けるために必要であると考えられる。今後は、DPP-4 の発現抑制による影響を明らかにしていく予定である。

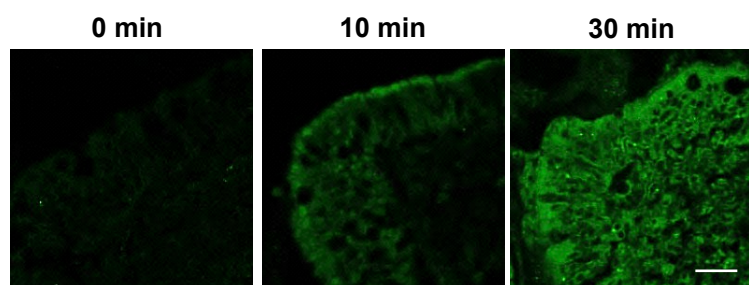


図1. 膵 α -アミラーゼの十二指腸組織における経時的な取り込み。絶食ブタ十二指腸断片を膵 α -アミラーゼ溶液中に 37°C で 0, 10, 30 分処理し、免疫組織染色によりアミラーゼの局在(緑)を観察した。
Bar = 20 μ m.