

氏名(本籍) 黄 玉 紅 ( 中 国 )  
学位の種類 博 士 ( 医 学 )  
学位記番号 博 士 第 525 号  
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当  
学位授与年月日 平成18年3月24日  
学位論文題目 Immunohistochemical Localization of Monoamine Oxidase Type B  
in Pancreatic Islets of the Rat

(ラット膵臓ランゲルハンス島におけるB型モノアミン酸化酵素の局在に関する免疫組織化学的検討)

審査委員 主査 教授 岡 部 英 俊  
副査 教授 工 藤 基  
副査 教授 木 村 博

## 論文内容要旨

※整理番号	550	(ふりがな) 氏名	こうぎよくこう 黄玉紅
学位論文題目	<b>Immunohistochemical localization of monoamine oxidase type B in pancreatic islets of the rat</b> (ラット膵臓ランゲルハンス島におけるB型モノアミン酸化酵素の局在に関する免疫組織化学的検討)		
<p>【研究の目的】モノアミン酸化酵素 (MAO) にはA型 (MAO-A) とB型 (MAO-B) の二つのアイソザイムがある。MAO-A はセロトニンやノルアドレナリンを特異的に分解し、MAO-B はフェニールアラニンを特異的に分解する。ドーパミンは MAO-A と MAO-B の共通基質である。一方、膵臓ランゲルハンス島には4種類の内分泌細胞が存在する。グルカゴンを分泌するA細胞、インスリンを分泌するB細胞、ソマトスタチンを分泌するD細胞、および膵ポリペプチドを分泌するPP細胞である。生化学的研究では、ラット、マウス、およびゴールデンハムスターの膵臓ランゲルハンス島には MAO-A 活性と MAO-B 活性が存在するが、MAO-B 活性の方が優位であることを示している。ヒトの膵臓ランゲルハンス島では、ほぼ同レベルの MAO-A 蛋白と MAO-B 蛋白が検出されている。免疫組織化学的研究では、モルモットにおいて MAO-B 陽性細胞が膵臓ランゲルハンス島に一樣に分布しているが、ヒトの膵臓ランゲルハンス島では MAO-A 陽性細胞がその中央部に存在し、MAO-B 陽性細胞はその周辺に存在することを示している。膵臓ランゲルハンス島のどのタイプの内分泌細胞が MAO-A または MAO-B を持っているかについては明らかでない。本研究ではラット MAO-B と特異的に結合する抗体を用いて、二重標識蛍光抗体法と電子顕微鏡免疫組織化学法を行い、ラット膵臓ランゲルハンス島における MAO-B の細胞レベルおよび細胞内レベルの局在を検討した。</p> <p>【方法】MAO-B 抗体は、ウシ肝臓ミトコンドリアから精製した MAO-B 蛋白を抗原としてウサギに免疫して作成した。この抗体の特異性は、免疫沈降法によってラット肝臓 MAO-B 蛋白と結合すること、および免疫組織化学法によってラット脳の MAO-B を有する神経細胞は陽性に染色されるが、MAO-A を有する神経細胞は陰性であることから確かめられた。膵臓ランゲルハンス島の内分泌ホルモンに対する抗体は市販されているものを使用した。ヒツジ抗ヒト-グルカゴン抗体、モルモット抗ブタ-インスリン抗体、ラット抗合成ソマトスタチン抗体、およびモルモット抗ラット-膵ポリペプチド抗体である。実験動物として、雄性 Sprague-Dawley ラット (180~200g) を使用した。二重標識蛍光抗体法では、ラットをペントバルビタール麻酔下にパラフォルムアルデヒド溶液で灌流固定し、膵臓の凍結切片を作成した。切片をまず、MAO-B 抗体とそれぞれのホルモン抗体との混液に浸漬した。次に、MAO-B 抗体には蛍光物質 Cy3 の結合した二次抗体を、ホルモン抗体には蛍光物質 FITC の結合した二次抗体をそれぞれ対応させた混液に浸漬した。染色した切片を共焦点レーザー顕微鏡で観察した。電子顕微鏡免疫組織化学法では、ラットをペントバルビタール麻酔下にパラフォルムア</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

ルデヒド、グルタルアルデヒドおよびピクリン酸の混液で灌流固定し、マイクロスライサーを用いて膵臓の切片を作成した。切片を MAO-B 抗体とアビチン-ビオチン-ペロキシダーゼ複合体法を用いて染色し、オスミウムで処理した後、樹脂包埋して超薄切片を作成し、透過型電子顕微鏡下に観察した。

【結果】二重標識蛍光抗体法による観察では、すべての A 細胞およびすべての B 細胞は MAO-B 陽性であった。一方、すべての D 細胞は MAO-B 陰性であった。P P 細胞については、15%の細胞は MAO-B 陽性であったが、残りの 85%は MAO-B 陰性であった。電子顕微鏡免疫組織化学法による観察では、A 細胞、B 細胞および P P 細胞にそれぞれ特徴的な顆粒を持つ細胞において、ミトコンドリアの外膜に MAO-B 陽性反応産物が存在していた。

【考察】我々はランゲルハンス島 B 細胞が MAO-B 陽性であることを明らかにした。B 細胞はドーパミンをはじめとするカテコールアミンやセロトニンを有しており、これらのアミンはインスリン分泌に関与することが知られている。マウスを空腹にするとランゲルハンス島の MAO-B 活性は上昇し、ランゲルハンス島 MAO-B 活性は血漿グルコース濃度に対して負の相関関係を持つことが示されている。MAO-B の反応産物に過酸化水素がある。B 細胞においてグルタチオンの酸化還元状態がインスリン分泌に影響を与えることも報告されている。B 細胞の MAO-B は、B 細胞に含まれるアミンの量を調節したり、反応産物である過酸化水素がグルタチオンの酸化還元状態を調節したりして、インスリン分泌に関与することが示唆される。

【結論】ラット膵臓ランゲルハンス島のすべての A 細胞、すべての B 細胞および一部の P P 細胞が MAO-B を持つことを明らかにした。これらの細胞において MAO-B はミトコンドリア外膜に存在していた。B 細胞のインスリン分泌機構に MAO-B が関与することが示唆された。

## 学位論文審査の結果の要旨

整理番号	530	氏名	黄 玉紅
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>モノアミン酸化酵素 (MAO) はモノアミンを分解し、その反応産物に過酸化水素を含む。MAOのアイソザイムの1種であるB型 (MAOB) は、主としてドーパミンを分解する。一方、膵臓ランゲルハンス島には4種の内分泌細胞があり、それぞれ異なるホルモンを分泌する。ランゲルハンス島におけるMAOBの存在は知られているが、どのタイプの内分泌細胞がMAOBを持っているかについては明らかにされていない。本研究では二重標識蛍光抗体法と電子顕微鏡免疫組織化学法を行い、ラット膵臓ランゲルハンス島におけるMAOBの局在を検討し、以下の結果を得た。</p> <p>全てのグルカゴン分泌細胞、全てのインスリン分泌細胞、および15%の膵ポリペプチド分泌細胞はMAOBを持っていた。一方、全てのソマトスタチン分泌細胞はMAOBを持っていなかった。細胞内局在に関しては、MAOBはミトコンドリア外膜に存在していた。</p> <p>以上のことよりMAOBを有する膵臓内分泌細胞において、MAOBは細胞内モノアミン濃度を調整し、また産生される過酸化水素によってグルタチオン酸化還元状態を調節することにより、ホルモン分泌機構に関与することが示唆された。</p> <p>本研究は、膵臓内分泌細胞のホルモン分泌調節機構を解明する上で重要な知見を与えたものであり、博士 (医学) の授与に値するものと認められた。</p>			
(平成 18年 2月 16日)			