

27PE-am198

スピラベルグルコースおよびESR法を用いたグルコース輸送評価法の開発
○山口 恭平¹, 吉川 豊¹, 伊東 治², 桜井 弘^{1,3}, 安井 裕之¹(¹京都薬大, ²山形生物ラジカル研, ³鈴鹿医療科学大)

【目的】グルコースは、生物にとって最も重要な物質の一つである。そのため、従来よりさまざまな細胞を用いたグルコース輸送の研究が行われている。通常、細胞内への取り込み測定には ¹⁴C などの放射性同位体で標識したグルコースが用いられている。今回、我々は、放射性同位体による標識法に代わる方法として、電子スピン共鳴 (ESR) 法により高感度検出が可能なスピラベルグルコースである 3-(D-glucopyranosyloxymethyl)-PROXYL (Glc-P) を用いた、新しいグルコース輸送評価法を検討したので報告する。【方法】Wistar 系雄性ラットから副睾丸周辺の脂肪細胞および肝細胞をコラゲナーゼ法により分離し、Krebs-Ringer 緩衝液中に分散させた。脂肪細胞を用いた取り込み実験では、グルコース輸送体である GLUT4 を細胞膜上へ移行させるためにインスリンを加え、さらに Glc-P を添加した。一方、肝細胞を用いた取り込み実験では Glc-P のみを添加した。4°C および 37°C でインキュベート後、経時的に採取した細胞外液中の Glc-P 濃度を ESR 法により定量した。また、肝細胞の実験では、GLUT2 の阻害剤であるサイトカラシン B を用いて、Glc-P の肝取り込みにおける GLUT2 の関与を評価した。【結果・考察】Glc-P は 37°C の条件において、脂肪細胞中に取り込まれなかった。これは、Glc-P に対する脂肪細胞膜上の GLUT4 による基質認識性が低いためと考えられた [1]。一方、Glc-P は肝細胞中へ濃度依存的、および時間依存的に取り込まれた。また、サイトカラシン B の共存により肝細胞内への取り込みは有意に抑制されたため、Glc-P の肝細胞内への取り込みに GLUT2 が関与すると考えられた。以上の結果から、Glc-P の ESR 測定に基づく本法は、GLUT2 を介した糖輸送の評価法となることが示された。

[1] M.J. Seatter et al. (1998) *Biochemistry*, **37**, 1322-1326.