

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成 25 年 4 月 1 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 秋田県立大学  
職名 教授  
申請代表者 穂坂正博  
勤務先所在地 〒010-0195  
秋田市下新城野中野字街道端西 241-438  
電話番号 018-872-1572  
ファックス番号 018-872-1670  
E-メール mhosaka@akita-pu.ac.jp

下記により共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:11019)

1. 研究プロジェクト名と共同研究課題名	内分泌細胞の分泌顆粒形成機構を解明する(セクレトグラニン III 欠損マウスの解析)			
2. 共同研究目的	セクレトグラニン III (SgIII) が内分泌細胞の分泌顆粒形成に果たす役割の解明を目指し、SgIII ノックダウン細胞と SgIII ノックアウトマウスを材料として、細胞レベル、個体レベルで解析を行なう。			
3. 共同研究期間	平成 24 年 4 月 1 日 ~ 平成 25 年 3 月 31 日			
4. 共同研究組織				
氏名	年齢	所属部局等	職名等	役割分担
(申請代表者) 穂坂正博	46 歳	秋田県立大学	教授	免疫組織化学を中心とした形態学的解析
5. 群馬大学生体調節研究所の共同研究担当教員	分野名	分泌制御分野	氏名	鳥居 征司

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

(課題番号:11019)

#### 6. 共同研究計画

我々の研究グループ(秋田県立大学 穂坂正博のグループと群馬大学 鳥居征司のグループ)は内分泌細胞の“ペプチドホルモンが分泌顆粒へ選別されるメカニズム”を解析する過程で、ホルモンを選別し分泌顆粒へ輸送するセクレトグラニン III (SgIII) を発見した。最近、我々は SgIII の合成を細胞レベルで阻害すると、分泌顆粒へのホルモン輸送が阻害されることに加えて顆粒の形態不全が起こるなど SgIII の新たな役割に遭遇した。そこで、SgIII の機能解析を細胞レベル、個体レベルで行う。

#### 7. 共同研究の成果

SgIII をノックダウンした細胞レベルの解析: マウス脳下垂体由来の培養細胞株 AtT20 細胞における SgIII の発現を siRNA によりノックダウンし、ホルモン(ACTH)の細胞内局在、マーカータンパク質の局在、グラニンファミリータンパク質の局在を調べたところ、1) SgIII の発現抑制でゴルジ装置トランス側の膜が過剰になり顕著に空胞化する、2) 分泌顆粒数が野生株に対し 20%程度に減少する、3) ホルモンの調節性経路による分泌が野生株に対し 20%程度に減少する、4) POMC(プロオピオメラノコルチン; ACTH の前駆体ホルモン) が構成性分泌経路で細胞外に分泌される、などを見出した。また、SgIII ノックダウン細胞でセクレトグラニン II (SgII) 陽性顆粒に ACTH のシグナルが観察された。そこで SgII がホルモンを分泌顆粒へ輸送するか検証したところ、SgII は高コレステロール組成の分泌顆粒膜に結合しホルモンを顆粒に運ぶことを明らかにした。以上のことから、内分泌細胞には分泌顆粒にホルモンを運ぶ経路が複数存在することが明らかとなった(Traffic 14, 205-218, 2013)。

SgIII ノックアウトマウスの解析: SgIII を欠損させたノックアウトマウスは、1) 脳下垂体のホルモン前駆体 POMC と顆粒内タンパク質クロモグラニン A(顆粒内グラニタンパク質)のプロセッシング(限定切断)が減弱している、2) 高脂肪食を与えると野生マウスと比較して体重の増加が著しい、3) 野生マウスと比較してストレスに対して抵抗性が低い、などの所見を明らかにした。現在、鳥居氏と協力して内分泌組織からのホルモン分泌など更なる影響を調べている。

#### 8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究所の担当教員の氏名の記載、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

(学会発表)

内分泌細胞の分泌顆粒形成におけるグラニタンパク質の役割; 穂坂正博、孫夢、鳥居征司、竹内利行、暮地本宙己、渡部剛; 第 85 回日本生化学会大会(福岡); 2012 年 12 月 16 日

(論文)

Sun, M., Watanabe, T., Bochimoto, H., Sakai, Y., Torii, S., Takeuchi, T., Hosaka, M.; Multiple sorting systems for secretory granules ensure the regulated secretion of peptide hormones. Traffic 14, 205-218, 2013