

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 28 年 4 月 17 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 西安交通大学医学部
職 名 教師
研究代表者 侯 妮

下記のとおり平成27年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 14022)

1. 共同研究課題名	膵β細胞における活性酸素種調節機序の研究			
2. 共同研究目的	グルコース等の生体因子やクロロゲン酸等の外来性物質が膵β細胞に及ぼす影響を、活性酸素種の調節機序の解析を通して解明する。			
3. 共同研究期間	平成 27 年 4 月 1 日 ~ 平成 28 年 3 月 31 日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 侯 妮	西安交通大学医学部	教師	研究全体の遂行と総括	
(分担研究者)				
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	内分泌制御分野	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。

6. 共同研究計画

活性酸素種(ROS)は多くの生物種において普遍的に発現し、シグナル伝達機構の担い手として精密に制御されることが分かってきた。膵β細胞は酸化ストレスに脆弱であると考えられ、ROSによる生体分子の障害が細胞機能の破綻をもたらし、糖尿病をはじめとする様々な代謝疾患を誘発する。共同研究者の鳥居氏と申請者は以前、低糖環境の長時間の継続は、膵β細胞に対してROSの蓄積を起因とするアポトーシスを引き起こすことを明らかにした。申請者は最近、抗酸化作用を有するクロロゲン酸に注目し、これが肝臓の糖代謝機能を高めることを明らかにした。本研究では、グルコースやクロロゲン酸が膵β細胞の生理機能に与える影響を解析する。

本共同研究では、鳥居氏らが新たに見出した低分子蛍光プローブや活性酸素種(ROS)の蛍光解析技術を使用し、膵β細胞内におけるROSの細胞内局在や動態の解析を進めていく。昨年度は、蛍光プローブH₂-TMRosを使い、定常状態においてリソソーム/エンドソームに加え、分泌顆粒にROSが局在することを示した。またこのROS発現をクロロゲン酸が抑制することを確認した。今年度は、この局所のROSにより酸化を受ける分子を調べる。またROSにより酸化を受けることが知られるチロシン脱リン酸化酵素に着目し、チロシンリン酸化シグナルの経路を解析する。

7. 共同研究の成果

膵β細胞内におけるROSの時空間解析を行ったところ、刺激のない定常状態において、リソソームおよびエンドソームといった酸性オルガネラやインスリンを含む分泌顆粒にROSが局在することを確認した。がん細胞などでオートファジーが活発化している細胞において、リソソーム/エンドソームにおけるROS発現は報告されているが、分泌顆粒にROSが局在する知見は初めてである。申請者は、クロロゲン酸が抗酸化作用を通じて、肝臓の5-Fu治療効果を高めることなどを示した(Yan et al, *Anticancer drugs*. 2015)が、クロロゲン酸のβ細胞における抗酸化作用も確認している(未発表)。

一方、チロシン脱リン酸化酵素として分泌顆粒に局在する膜蛋白質IA2に着目した。IA2は1型糖尿病の自己抗原として知られ、膵β細胞に高発現している。細胞質側領域にチロシン脱リン酸化酵素の構造を持つが、酵素活性はなく、実際に基質認識に重要な部位にアミノ酸変異が存在している。しかしながら、ROSで酸化修飾される活性中心のシステインは保存されている。細胞から蛋白質抽出液を調整する際に、当該研究所に設置された無酸素チェンバーを使用したところ、酸化ストレス時にIA2が酸化されることを見出した。またインスリン受容体を介したチロシンリン酸化シグナル経路で、IA2が機能していることが分かった。本研究成果は現在まとめているところである。

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を記載して下さい。なお, 論文の場合は, 別刷りを1部提出して下さい。)

1. Yan Y, Li J, Han J, Hou N, Song Y, Dong L.

Chlorogenic acid enhances effect of 5-fluorouracil in human hepatocellular carcinoma cells through inhibition of extracellular signal-regulated kinases.

Anticancer drugs 26:540-6, 2015

上記論文の中で、共同研究担当教員の鳥居氏はAcknowledgementsにある。