

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28日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所 属 機 関 名 大阪大学大学院医学系研究科 細胞生物学
職 名 助教
研 究 代 表 者 國井 政孝

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:14010)

1. 共同研究課題名	複数のモデル動物を用いた、上皮の極性や分泌を制御する遺伝子の同定と解析		
2. 共同研究目的	細胞の極性形成・維持や細胞内での極性輸送に重要であると考えられる遺伝子を線虫を用いたスクリーニングによって同定し、その組織・個体レベルでの機能を遺伝子欠損マウスの解析によって解明することを目的とする。		
3. 共同研究期間	平成27年 4月 1日 ~ 平成28年 3月3 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) 國井 政孝	大阪大学医学系研究科 細胞生物学教室	助教	研究の実施及び論文作成
(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	細胞構造	氏 名 佐藤 健

※ 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

細胞内での極性輸送において膜蛋白質や分泌蛋白質を含んだ輸送小胞と細胞膜との融合に必須であるとされる SNARE 蛋白質の一つである SNAP23 の個体での機能を解明するため、SNAP23 ノックアウトマウスを作製し、組織学的、生化学的解析を行う。

全身でのノックアウトマウスは胎生致死となったため、Cre-LoxP システムによる様々な組織特異的ノックアウトマウスを作製し、解析を行った。

7. 共同研究の成果

本共同研究では、SNAP23 の膵外分泌腺特異的ノックアウトマウス、膵内分泌腺特異的ノックアウトマウス、神経特異的ノックアウトマウスを作製し、解析を行った。

これらの組織特異的ノックアウトマウスのうち、Elastase-Cre による膵外分泌腺特異的ノックアウトマウスでは腺房細胞の形態に変化は見られなかったが、2光子顕微鏡を用いた開口放出過程の観察により消化酵素を含むチモーゲン顆粒の分泌に有意な減少が認められた。このことから、SNAP23 は膵腺房細胞の頂端側からの消化酵素の分泌に必須であることが明らかとなった。

また、Pdx1-Cre や Insulin-Cre を用いた膵内分泌腺特異的ノックアウトマウスにおいても膵 β 細胞の形態に大きな異常は認められなかったが、2光子顕微鏡および全反射顕微鏡の観察によって β 細胞からのインスリン顆粒の分泌が増加することが明らかとなり、マウスの耐糖能が改善するという結果を得た。生化学的解析の結果、SNAP23 は膵 β 細胞において類縁分子である SNAP25 が SNARE のパートナー分子である Syntaxin1A や VAMP2 と結合することを阻害し、インスリン分泌に抑制的に働いていることが示唆された。

以上の結果から、SNAP23 を阻害するような薬剤があれば β 細胞からのインスリン分泌を増加させ糖尿病の治療に役立つことが予想されたため、理化学研究所との共同研究によって SNAP23 に結合する数種類の低分子化合物を同定した。これらのうちの1つに単離した islet やマウス膵 β 細胞株である MIN6 細胞からのインスリン分泌を増加させ、更に、個体において血中グルコース濃度を低下させる効果が認められた。現在、これらの結果を論文にまとめ、投稿中である。

更に、Nestin-Cre を用いた神経特異的ノックアウトマウスでは、大脳皮質や小脳の形成不全が認められ、SNAP23 が神経系においては組織の形態形成に必須であることが示唆された。発生中の大脳皮質の形態学的解析により、神経前駆細胞の形態異常が認められ、それに伴って新生ニューロンの遊走異常や細胞死が生じていることが明らかとなった。更に、この神経前駆細胞の形態異常の原因の一つとして、細胞間接着因子である N-cadherin の細胞膜への輸送の異常が考えられたため、現在、N-cadherin の細胞膜局在化に関与する SNARE 分子の同定を行っている。

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部提出してください。)

学会発表

第 121 回 日本解剖学会全国学術集会 ビッグパレットふくしま
ポスター P2-54
國井政孝、原田彰宏
「大脳皮質形成における SNARE 分子の機能の解析」