

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 27 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26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 26 年 4 月 1 日 ~ 平成 27 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。今年度はまず、グルコース刺激の時間や強弱による細胞内各所のROSの変化を、蛍光プローブH<sub>2</sub>-TMRosを使い詳しく解析する。汎用されるROS検出プローブDCFとは異なり、H<sub>2</sub>-TMRosは自己光酸化が起こらず、時空間的解析を進めることができるからである。これと並行して、ROSにより酸化を受ける分子、とくにチロシン脱リン酸化酵素を中心とするシグナル伝達機構の解析も行う。

## 7. 共同研究の成果

これまでの共同研究で、鳥居氏の開発したシグナル検出法や蛍光解析技術を利用してさまざまな細胞機能を解析してきた。例えばマルチタグ・ラベリング法を使った解析では、β細胞で発現するインスリンを異なる蛍光体で新旧に区別し、新規に合成されたものが刺激に対して優先的に放出されることを示した。本研究では、こうした細胞本来の機能解析も進めつつ、病態ストレス下での応答をROS解析を中心に行っている。

蛍光プローブH<sub>2</sub>-TMRosを用いて膵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、肝癌の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)。詳しい機構の解析は現在行っ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部提出してください。)

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

2. Hou N, Han J, Li J, Liu Y, Qin Y, Ni L, Song T, Huang C.

MicroRNA profiling in human colon cancer cells during 5-fluorouracil-induced autophagy.

*PLoS ONE* 9, e114779, 2014

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