

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 26 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
研究代表者 穂坂 正博
勤務先所在地 〒010-0195
秋田市下新城中野字街道端西 241-438
電 話 番 号 018-872-1572
ファックス番号 018-872-1670
E - メ - 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. 共同研究課題名	内分泌細胞の分泌顆粒形成機序の解明			
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 25 年 4 月 1 日 ~ 平成 26 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	47	秋田県立大学	教授	セクレトグラニン III 欠損マウスの内分泌組織を用いてペプチドホルモンの分泌を調べる。また生体情報をイメージングするプローブの開発を行なう。
(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	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 穂坂正博教授のグループと群馬大学 鳥居征司准教授のグループ）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 TGN（トランスゴルジネットワーク）で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。

2013 年度の本申請では、SgIII 欠損マウスで個体レベルの SgIII 機能解析を中心に研究を行った。SgIII 欠損マウスから下垂体、膵臓などの内分泌組織を取り出して；

- ホルモンのプロセッシングと分泌を調べる。
- 下垂体からの ACTH（副腎皮質刺激ホルモン）の分泌をペリフュージョン法で測定する。
- 野生型マウス、SgIII ノックアウトマウスの耐糖能を比較する。

を計画した。

7. 共同研究の成果

神経内分泌細胞では、ペプチドホルモンや神経ペプチドは、粗面小胞体上で合成された後、ゴルジ装置を経て、トランスゴルジネットワーク（TGN）から分泌顆粒に選別輸送されて、貯留され、細胞外刺激により分泌される（調節性分泌経路）。一方、外部刺激による調節を受けない、成長因子、膜蛋白質、アルブミン等の血清タンパク質等の分泌タンパク質は、TGNから細胞表面に移行する経路で輸送される（構成性分泌経路）。

神経内分泌細胞の分泌顆粒にはペプチドホルモン、グラニタンパク質群、ペプチドホルモンを活性化するプロセッシング酵素群が含まれ、また顆粒上には分泌制御タンパク質や顆粒内環境を整えるイオンチャンネルとポンプが存在している。申請者は、これまで『ペプチドホルモンが分泌顆粒へ選別されるメカニズム』を解析し、グラニタンパク質の SgIII（471 個のアミノ酸からなる）が、アミノ酸 23 番-186 番目のドメイン SgIII 23-186 で TGN 膜の高コレステロール組成ドメイン（コレステロール組成が 40-45 mol%）に着床して、その一方、SgIII 187-373 でペプチドホルモンとクロモグラニン A（CgA）の凝集体を結合し、ホルモンを顆粒へ選別することを示した。そこで本申請では SgIII を欠損したマウスを作製し、個体レベルでその機能を解析した。

2012 年度の結果を踏まえ、SgIII ノックアウトマウスの検体数を増やし検証したところ：

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) 強制水泳実験の結果から野生マウスと比較してストレスに対して抵抗性が低い、
- 4) 血漿中の ACTH 量が野生型マウスと比較して少ない、
- 5) 耐糖能が野生型マウスと比較して低い、
- 6) 上記の結果は月齢が進むに連れて顕著に変化している
- 7) 一方、下垂体を単離した状況のペリフュージョン実験では野生型マウスと比較して大きな差が見られない、

ことを明らかにした。

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。）

該当無し