

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 20 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 日本大学生物資源科学部
職 名 教授
研究代表者 五味 浩司
勤務先所在地 〒252-0880
神奈川県藤沢市亀井野 1866
電 話 番 号 0466(84)3530
ファックス番号 0466(84)3530
E - メ - ル gomi.hiroshi@nihon-u.ac.jp

下記により共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 12026)

1. 共同研究課題名	分泌顆粒膜蛋白質フォグリンの消化管における役割の解明			
2. 共同研究目的	フォグリンは神経内分泌細胞に限定発現し、ホルモン分泌顆粒に局在し機能する膜蛋白質である。本研究ではインクレチンを発現する消化管内分泌細胞に着目し、フォグリンの発現解析などを通じてその役割の解明を目指す。			
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
(研究代表者) 五味 浩司	49	生物資源科学部 獣医学科	教授	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	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

フォグリンは神経内分泌組織に限定発現する膜蛋白質であるが、1型糖尿病の自己抗原でもあることから、膵臓β細胞においてその解析が進められてきた。共同研究者の鳥居博士は膵β細胞特異的ノックアウトマウスを作製し、解析を進めている。申請者は膵島と共通の発生起源をもつ腸管内分泌細胞に注目し、フォグリンおよびその相同蛋白質 IA2 がラットの胃および小腸粘膜に発現していることを見つけた。

鳥居博士が作製したフォグリンと IA2 に対するウサギ抗体はこれら2つの分子を特異的に識別することができるので、この性質を利用して、フォグリンと IA2 が発現する腸管内分泌細胞の種類をラットの胃と小腸において同定し、論文報告した。25年度は、フォグリン細胞表面抗体としてフォグリン・IA2 間で相同性が低い MatN 領域を抗原として作製したマウスおよびラットモノクローナル抗体を用い、抗体を磁気や担体を標識することで FACS やカラム法によるフォグリン発現細胞の分離を試みる。フォグリン発現細胞の分離条件が確立できた場合には、腫瘍化抗原を導入したマウスあるいはラットの消化管から細胞を分離することで、特異的培養細胞の樹立を行なう。

7. 共同研究の成果

鳥居博士が作製したフォグリンと IA2 に対する特異的なウサギ抗体と消化管組織で発現している多種のホルモン抗体を用いて、マウスにおいてフォグリンと IA2 が発現している腸管内分泌細胞の種類を免疫組織化学的に解析した。その結果、十二指腸において、全体としてフォグリンと IA2 の発現様式はよく類似しており、代表的な消化管ホルモン(セロトニン、グレリン、ソマトスタチン、GIP、GLP-1、グルカゴン、コレキストキニン)に対する抗体との二重染色によって、グレリンを除き、両蛋白質が共発現しており、これまでに得られているラットでの所見との共通性が保存されていた。また、12週齢と60週齢のC57BL/6Jマウスの膵島において、フォグリンと IA2 の加齢性発現変化を解析したところ、60週齢では12週齢と比べ、フォグリンと IA2 陽性の膵島サイズが肥大化する傾向が認められた。特に IA2 の発現は60週齢マウスでより増強される染色傾向が見られ、IA2 はフォグリンに比べ加齢性あるいは膵島の肥大化によって発現が誘導される可能性が示唆された。また、IA2 とフォグリンの細胞内局在を解析することを目的として IA2 に対する市販のモノクローナル抗体 (anti-PTPRN, #MAB2710, Abnova) を用い、フォグリンとの二重染色が可能であるかを検討したが、本抗体では免疫組織化学的に有効なシグナルを検出することはできなかった。

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。)

Gomi H, Kubota-Murata C, Yasui T, Tsukise A, Torii S.

Immunohistochemical analysis of IA-2 family of protein tyrosine phosphatases in rat gastrointestinal endocrine cells.

J. Histochem. Cytochem. 61(2): 156-168, 2013.

Hiroshi Gomi, Chisato Kubota-Murata, Seiji Torii

ラット腸管内分泌細胞における IA2 チロシンホスファターゼ分子群の発現様式

(Immunohistochemical analysis of IA2 family of protein-tyrosine phosphatases in rat gastrointestinal endocrine cells)

第86回日本生化学会大会 2013年9月11日 (横浜)