

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 25 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

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: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 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) 五味 浩司	生物資源科学部	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

1. 鳥居博士が作製したウサギポリクローナル抗体(MAT2)を用い、マウス消化管組織におけるフォグリン発現細胞の同定を行った。セロトニン、ソマトスタチンおよびコレキストキニン発現細胞では、とほぼ全ての細胞においてホルモンとの共発現を認められたが、グルカゴン、GLP-1 および GIP 発現細胞では、共発現の程度が弱いかまたは認められない細胞もあった。陰性率は、グルカゴンで40%、GLP-1で60%、GIPで90%であった。同様の所見は膵島でも認められ、これらの結果から、フォグリンの発現が細胞の成熟度あるいは増殖性などと関連していると思われる。一方、これらの現象がフォグリンに近縁なファミリータンパク質である IA-2 との発現とどのような関連性があるのかについて検討するために、鳥居博士が作製したフォグリンのモノクローナル抗体を用いて解析を試みた。ブアン固定後のパラフィン切片では、MAT2 抗体のような十分なシグナルを検出することが出来なかったが、パラホルムアルデヒド固定後の凍結切片では検出可能で、IA-2 との二重染色が可能であることが分かった。

2. フォグリンの消化管内分泌細胞のマーカーとしての可能性を検討するため、細胞外部位を認識する抗フォグリン抗体との結合性を生細胞で適応させ、消化管内分泌細胞を分離して特異的培養細胞の樹立を目指すための初期実験として、マウスを用いた *ex vivo* 腸管内でのトリプシン消化を行なって小腸上皮細胞を回収した。回収した細胞を固定後、抗体との反応性を検討したところ、蛍光抗体標識法によって陽性反応を示すの細胞が多く認められたが、詳細に調べたところ、リンパ性の中心乳び腔内に由来する形質細胞が多く混入していることが判明したので、今後、内分泌細胞をより効率的に回収するための条件検討が必要となった。

#### 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。)

Gomi H, Morikawa S, Shinmura N, Moki H, Yasui T, Tsukise A, Torii S, Watanabe M, Maeda Y, Hosaka M. Expression of secretogranin III in chicken endocrine cells: Its relevance to the secretory granule properties of peptide prohormone processing and bioactive amine content. J. Histochem. Cytochem. in press.