

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 29 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28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 28 年 4 月 1 日 ~ 平成 29 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) 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ジェン顆粒の分泌に有意な減少が認められた。さらに、唾液腺の腺房細胞の初代培養系においても SNAP23 ノックアウトでアミラーゼ分泌の減少が見られた。このことから、SNAP23 は膵臓および唾液腺腺房細胞の頂端側からの消化酵素の分泌に重要であることが明らかとなった。

また、Pdx1-Cre や RIP-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 に結合し SNAP25 とは結合しない(結合が弱い)低分子化合物を同定した。この化合物は単離した 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、マウス個体に投与することで血中グルコース濃度を低下させる効果が認められた。

以上の結果は Journal of Cell Biology に掲載された。

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、N-cadherin の細胞膜局在化において SNAP23 と結合する SNARE 分子の同定を行った。現在、N-cadherin 輸送の分子機構の解明に向けて解析中である。

## 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。)

### 論文

Opposing roles for SNAP23 in secretion in exocrine and endocrine pancreatic cells.

**Kunii M**, Ohara-Imaizumi M, Takahashi N, **Kobayashi M**, Kawakami R, Kondoh Y, Shimizu T, Simizu S, Lin B, Nunomura K, Aoyagi K, Ohno M, Ohmuraya M, **Sato T**, Yoshimura SI, **Sato K**, Harada R, Kim YJ, Osada H, Nemoto T, Kasai H, **Kitamura T**, Nagamatsu S, **Harada A**. *J Cell Biol.* 215 121-138. (2016)