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 31 年 4 月 1 日

群馬大学生体調節研究所長　殿

所属機関名　国立大学法人京都大学
職　　　名　特定助教
研究代表者　蜷川 暁

下記のとおり平成30年度の共同研究成果を報告します。

記

（課題番号: 18021）

1. 共同研究課題名	第二世代抗精神病薬オランザピンがインスリン分泌へ与える効果の解析
2. 共同研究目的	糖尿病を引き起こすことが知られる第二世代抗精神病薬オランザピンが、インスリン分泌不全を引き起こすことを明らかにしている。 本共同研究では、インスリンおよびインスリン分泌顆粒局在タンパク質の材料と手法、経験的知識を得て、オランザピンがインスリン分泌に与える効果の分子メカニズムを解明する 。
3. 共同研究期間	平成30年 4月 1日 ～ 平成31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) 蜷川 暁	京都大学大学院理学研究科	特定助教	研究の実施、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。

（課題番号： 18021 ）

6. 共同研究計画

第二世代抗精神病薬であるオランザピン(OLA)は、副作用として肥満、インスリン抵抗性に由来する糖尿病を発症すると考えられてきた。しかしながら OLA 誘導性糖尿病には、臨床的に見て、通常の糖尿病発症機構では説明出来ない特殊性がある。1. 通常の糖尿病では、インスリン抵抗性から糖尿病を発症するまでに通常数年単位の時間がかかるが、OLA 誘導性の糖尿病の場合、半年以内に発症することがある(Nakamura and Nagamine 2010, Nakamura et al., 2014, Kinoshita et al., 2014)。2. 糖尿病性ケトアシドーシスは、インスリン分泌の大幅な低下を起因として発症し、一般的には 1 型糖尿病患者において見られる。しかし糖尿病ではなかった患者が OLA 投与を受けて半年以内に、突然、この糖尿病性ケトアシドーシスを発症することがある(Kinoshita et al., 2014)。

そこで、OLA 誘導性の糖尿がどのように誘導されるか細胞レベルでの解析を試みる。

申請者は最近、マウス膵臓ベータ細胞株の MIN6 に OLA を作用させると、インスリンの分泌不全が起こることを見出した。この結果を受けて本研究では、OLA がインスリンの生合成、輸送、分泌に与える影響を詳しく解析し、OLA の作用機序を明らかにする。そのうち共同研究においては、群馬大学生体調節研究所分泌制御分野・鳥居准教授の作成したインスリン HaloTag（Hou et al., PLoS One, 2012）などを用いて、pulse chase 実験を行うことを計画した。またインスリンとともに分泌顆粒に局在することが知られる膜タンパク質 Phogrin（Saito et al., Traffic, 2011）の動態を調べ、インスリンとの比較解析を行う。本研究において、OLA の膵臓ベータ細胞に及ぼす効果を解明し、OLA 誘導性の糖尿病発症における新たな分子基盤の提唱を行うことを目的とする。

7. 共同研究の成果

マウス膵臓ベータ細胞株 MIN6 に OLA を作用させると、ELISA においても Pulse chase 法においても Insulin の分泌が抑制されていることが確認出来た。しかし、OLA は、インスリン分泌顆粒で起こる Phogrin のプロセッシングには影響がなかった。また A1AT の分泌についても大きな影響を与えなかった。これにより OLA がインスリン特異的に分泌を抑制することが支持された。

さらに MIN6 を Insulin 抗体で蛍光染色すると、未処理では、Insulin が主には未成熟分泌顆粒またはインスリン分泌顆粒に局在していることが分かったが、OLA を処理すると主に小胞体に局在がシフトすることが分かった。Phogrin は、OLA 処理の有無に関わらず、未成熟分泌顆粒、インスリン分泌顆粒、細胞膜に存在し、OLA によって局在を変化させなかった。A1AT についても OLA 処理により局在の変化は観察されなかった。これにより OLA が特異的に Insulin を小胞体に留まらせていることが分かった。

現在は、OLA がどのような作用で Insulin を特異的に小胞体に留まらせているか？を調べている。

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のある論文，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本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

口頭発表、ポスター発表（日本語）第 91 回　日本生化学会大会
2018 年 9 月 24-26 日　座長：菅波　孝祥、田久保　圭誉
第二世代抗精神病薬オランザピンがインスリン分泌不全を引き起こし、糖尿病を誘起する分子メカニズムの解析
Satoshi Ninagawa, Tetsuya Okada, Koshi Imami, Hajime Umezawa, Tokiro Ishikawa, Seiji Torii, Robert B. Mackin, Yasushi Ishihama, Takahiko Nagamine and Kazutoshi Mori

②この共同研究に基づくとの記載のある論文