

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 10 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 日本大学  
職 名 教授  
研究代表者 五味 浩司

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: 18015 )

1. 共同研究課題名	分泌顆粒蛋白質による膵島細胞分別の試み		
2. 共同研究目的	これまで我々は、内分泌細胞に特有の IA2 蛋白質並びにグラニン蛋白質がホルモン分泌顆粒の形成や機能に関わっていることを示した。近年、ベータ細胞をはじめとする膵島細胞に、分泌や増殖能が異なるサブタイプがあることが見出され注目されている。本共同研究ではこれらの蛋白質の膵島における発現様式を詳しく調べ、膵島細胞サブタイプとの関係を探る。		
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) 五味 浩司	生物資源科学部	教授	研究の遂行と総括
(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

インスリンを分泌し血糖調節を行うベータ細胞は、膵臓ランゲルハンス島に局在する内分泌細胞である。最近、ベータ細胞が均質の細胞ではなく、分泌能などが異なるヘテロな細胞集団であることが報告された (Nature 535: 430, 2016 他)。申請者は内分泌細胞に特有のオルガネラである分泌顆粒に着目し、局在する蛋白質の解析を進めてきた。これまでの共同研究では、顆粒膜蛋白質 IA2b や顆粒内蛋白質 SgIII に対する特異的なウサギ抗体を利用して、マウスの膵島をはじめ、下垂体、腸管など様々な内分泌組織において発現細胞を同定し、論文報告した。

本研究では、共同研究者が新しく作製した特異的モノクローナル抗体を使用して、マウスの膵島における組織化学実験を行う。これと並行して、この抗体を磁気ビーズで標識し MACS 法によって発現細胞の分離を試みる。次に報告されている膵ベータ細胞のサブタイプとの関連を探るため、Fltp 抗体、CD9 抗体、ST8SIA1 抗体、Nkx6.1 抗体、PC1/3 抗体を使った細胞分別を行う。最後に、細胞の機能発現に果たす分泌顆粒蛋白質の役割を明らかにするため、IA2b、SgIII の各ノックアウトマウスにおける発現解析を行う。

## 7. 共同研究の成果

新規モノクローナル抗体は特異性が高い反面、通常の組織化学実験では反応性が弱く検出に難があった。そのため各種マーカー蛋白質に対する抗体との2重染色において、さまざまな手法を使ったプロトコル作成を進めている。一方でイムノプロット法においては良い反応性と特異性を示すため、マウスの週齢を追うことで膵島細胞の選別化を図り、それぞれの膵島を摘出してイムノプロットを行った。また db/db やストレプトゾシン処理など糖尿病モデルマウスにおける発現解析も行った。その結果、PC1/3、CPE といったホルモン修飾酵素の発現と IA2b、SgIII の発現が連動していることが明らかとなった。一方で、IA2b、SgIII のそれぞれのノックアウトマウスの膵島ではお互いの発現への影響はほとんど見られなかった。現在、老齢マウスの解析も進めており、近い将来、膵ベータ細胞のサブタイプと分泌顆粒関連蛋白質の発現の関連性に何らかの結論が得られるものと考えている。

## 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

S. Torii, C. Kubota, N. Saito, A. Kawano, N. Hou, M. Kobayashi, R. Torii, M. Hosaka, T. Kitamura, T. Takeuchi, H. Gomi. The pseudophosphatase phogrin enables glucose-stimulated insulin signaling in pancreatic  $\beta$  cells. *J Biol Chem*, 293: 5920-5933, 2018

五味浩司, 大澤裕美, 宇野理恵, 安井禎, 鳥居征司, 穂坂正博, 月瀬東. イヌ口腔腺における Rab および SNARE タンパク質の発現解析. 第 161 回日本獣医学会学術集会. つくば. 平成 30 年 9 月 13 日.

久保田知里, 斎藤直也, 河野あゆみ, 竹内利行, 小林雅樹, 北村忠弘, 穂坂正博, 五味浩司, 鳥居征司. 分泌顆粒蛋白質フォグリンによるインスリン分泌とシグナルの連結機構. 第 161 回日本生化学会大会. 京都. 平成 30 年 9 月 26 日.

### ②この共同研究に基づくとの記載のある論文