

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

令和 4 年 4 月 26 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 公益財団法人 神戸医療産業都市推進機構  
先端医療研究センター  
職 名 上席研究員  
研究代表者 稲田明理

下記のとおり令和3年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:20017)

1. 共同研究課題名	小腸・膵臓細胞におけるインクレチン産生調節機構の解明			
2. 共同研究目的	近年、糖尿病人口が急増し深刻な社会問題となっている。小腸から分泌される消化管ホルモンは、膵臓細胞から分泌されるインスリンやグルカゴンと共に食後の血糖値の上昇を抑制する重要な役割を担っているが、生体内における消化管ホルモンの産生や分泌の分子機構については、未解明な部分が多い。そこで、本共同研究では、遺伝子改変マウスを用いてこれらの消化管ホルモンを産生する仕組みを解明することを目的とする。			
3. 共同研究期間	令和3年4月1日 ~ 令和4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) 稲田明理	老化機構研究部門	上席研究員	代表	
(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	代謝シグナル解析分野	氏名	北村忠弘

※ 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

Cre-LoxP システムを用いて小腸 L,K 細胞、膵臓  $\alpha$  細胞特異的に遺伝子を欠損するマウス 2 種類を新たに作製する。これらのマウスにおいて、上記細胞に特異的に発現しているタンパク質に対する抗体を用いて FACS 解析を行い、細胞を採取する。この方法を用いれば、単離した細胞から、細胞数や一細胞当たりの消化管ホルモンの産生能の変化、関連遺伝子の発現量の変化について直接解析することが可能である。また、マウスの生化学的・組織学的解析を進め、糖負荷試験、分泌反応試験等を行い、耐糖能と糖代謝の変容を明らかにする。

## 7. 共同研究の成果

これまで、Cre-LoxP システムを用いて小腸 L,K 細胞、膵臓  $\alpha$  細胞特異的に遺伝子を欠損するマウス 2 種類を新たに作製し、これらのマウスの解析を進めてきた。遺伝子の欠損および Cre-LoxP システムの効率、組み換え後に tdsRed を発現するリポーターマウスとの交配により確認した。すべての個体について尻尾の DNA を抽出して遺伝子型を決定し、ヘテロマウスどうしを掛け合わせて欠損マウスを作出した。それぞれのマウスについて、隔週ごとに体重および血糖値の測定を行い、代謝の変化を検討した。

生化学的解析では、血糖値やヘモグロビン A1c、インスリンなどの血中ホルモンレベル値はコントロールと有意な差は認められなかった。また、組織学的解析では、膵島構造、小腸細胞にも変化は見られなかった。しかし、糖負荷試験を行ったところ、欠損マウスは糖負荷後 15 分後のピークからの降下が非常に緩慢で正常値への戻りが遅く、耐糖能異常を示し、血糖値の推移にコントロールと有意な差が認められた。さらに、糖負荷後の関連ホルモン分泌量を検討したところ、大きく減少していることが明らかになった。

一方で、これらのマウスにおいて、小腸の L,K 細胞に特異的に発現しているタンパク質に対する抗体を用いて FACS 解析を行い、細胞を採取した。細胞数(%)の変化は認められなかったが、標的細胞における関連遺伝子の発現量は、大きく減少し変化していることが明らかになった。この結果は、耐糖能試験の結果と一致するものであった。

来年度は、糖代謝への影響を解明するため、骨格筋における糖取り込みへの影響について検討する予定である。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換 (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

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

③学会発表を行った主なもの3件以内(学会名、開催日、演題)

④本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)

- ・ホルモン測定方法についてアドバイスを頂いた。
- ・結果について discussion を行ない、論文執筆する。