

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 7 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 群馬大学
職 名 教授
研究代表者 鳥居 征司

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: 20024)

1. 共同研究課題名	高齢マウスを使用したフォグリン蛋白質の機能解析		
2. 共同研究目的	内分泌細胞に特有のフォグリン(および IA2)は、進化的に保存されるチロシン・ホスファターゼ様の膜蛋白質である。これまでに申請者は、フォグリンが膵β細胞の機能維持に関わることなどを明らかにしてきた。本共同研究では、遺伝子欠損マウスを解析し、加齢やストレスによるホルモン産生・分泌能の減弱にフォグリンが果たす役割を明らかにする。		
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) 鳥居 征司	食健康科学教育研究センター	教授	研究全体の遂行と総括
(分担研究者) 藤枝 みちる	食健康科学教育研究センター	研究員	組織化学実験・解析
水野 寛之	大学院医学系研究科・脳神経外科	大学院生	マウス実験など
矢山 萌	大学院生命医科学研究科	大学院生	生化学実験など
田沼 未歩	大学院生命医科学研究科	大学院生	生化学実験など
5. 群馬大学生体調節研究所の共同研究担当教員	分野名	細胞構造分野	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

A) フォグリン遺伝子欠損マウスを使用し、膵島の組織サンプルを作製して、電子顕微鏡による分泌顆粒形態の観察を行う。すでに高齢マウスの膵島サンプルにおいて、分泌顆粒の減少とリソソーム様構造の蓄積を観察している。この結果に基づき、ホルモンあるいは他の顆粒内蛋白質とリソソーム酵素の発現や活性測定を行う。また電顕データを詳しく分析して、未成熟・成熟顆粒とリソソームの細胞内分布や密度など定性的な評価を行う。

B) 野生型およびノックアウトマウスのそれぞれ若齢/高齢マウスから膵島を単離し、オルガネラの分画により精製した分泌顆粒サンプルを用いて網羅的な質量分析を行う。それぞれの解析結果をすり合わせ、インスリンの分泌機能低下に関わると推察される候補蛋白質を見出す。

C) MIN6/インスリン-HaloTagを培養し長期低糖刺激で分解誘導を行う。新しいインスリン顆粒はHaloTagをマスクし、分解される古いインスリン顆粒のみをラベルして解析を行う。フォグリンの遺伝子ノックダウンや変異体の過剰発現によってインスリン顆粒の分解に影響が出るかを解析する。

7. 共同研究の成果

12 ヶ月を超える膵β細胞特異的フォグリン欠損マウスの膵島において、インスリン含量の顕著な減少を確認した。膵島の組織サンプルを作製して、電子顕微鏡による分泌顆粒形態の観察を行った結果、分泌顆粒の減少を検出し、生化学的な裏付けを進めている。

作製した MIN6/インスリン-HaloTag を培養し長期低糖刺激で分解誘導を行ったところ、古いインスリン顆粒が優先的に分解されることを確認した。インスリン顆粒の分解への関与を調べるためにフォグリンのノックダウンを行ったが明確な差がみられなかった。一方、MIN6/フォグリン-HaloTag を樹立して、HaloTag を標的としたプルダウンにより分泌顆粒の精製を行った。精製した顆粒を質量分析でプロテオームを行った結果、興味深い分子が得られたため、その解析を進めている。

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)

1) 建部貴輝, 久保田知里, 矢山 萌, 神徳亮介, 水野寛之, 大日方英, 鳥居征司. 癌細胞のフェロトーシス感受性を薬剤で調節する. 2021 年度日本生化学会関東支部例会. オンライン. 令和3年6月19日.

2) 鳥居征司, 建部貴輝, 矢山 萌, 神徳亮介, 水野寛之, 大日方英, 久保田知里. 低分子化合物によるフェロトーシス感受性の調節. 第94回日本生化学会大会. オンライン. 令和3年11月3-5日.

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)

- ・ 膵β細胞株 MIN6 などにおけるインスリン生合成等に関する意見交換
- ・ 学術領域研究における共同研究に関する情報交換
- ・ 研究機器に関する情報交換