

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 6 月 1 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 群馬パース大学先端医療科学研究センター
職 名 特任教授
研究代表者 平野 久

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： 21030)

1 共同研究課題名	ヒト臍島におけるプロテオミクス解析およびリン酸化プロテオミクス解析			
2 共同研究目的	ヒト臍島および臍臓切片を用いて、プロテオームおよびリン酸化プロテオーム解析を行うことで、糖尿病の病態制御に関わる新規分子、または糖尿病の治療標的となり得る新規分子の同定を目指す。			
3 共同研究期間	令和 3 年 4 月 1 日 ~ 令和 4 年 3 月 3 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) 平野 久	群馬パース大学先端医療科学研究センター	特任教授/農学博士	実験、データ解析、研究の総括	
(分担研究者) 井上 亮太	群馬大学生体調節研究所 代謝疾患医科学分野	助教	ヒト臍島タンパク質試料の調製	
西山 邦幸	横浜市立大学医学部小児科学	大学院生	ヒト臍島組織試料の調製	
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	代謝疾患医科学分野	氏 名	白川 純

※ 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

実験動物で得られた糖尿病の病態や治療に関するこれまでの知見が、ヒトにおいても同様に観察されるのかは、未だはっきりしていない。例えば、ヒトとマウスにおいては膵島における細胞の分布が異なることが分かっているが、その意義は明らかでない。本共同研究では、糖尿病の病態制御に関わる新規分子、または糖尿病の治療標的となり得る新規分子を同定することを目的とし、糖尿病状態下にあるヒト膵島を用いてプロテオミクス解析やリン酸化プロテオミクス解析などを行う。

<1> ヒト膵島を高グルコース含有培地や高遊離脂肪酸含有培地で培養し、プロテオミクス解析およびリン酸化プロテオミクス解析を施行し、生理的グルコース濃度下または脂肪酸濃度下で培養した対照群のヒト膵島と比較する。

<2> 1型糖尿病糖尿病患者の膵切片で残存するβ細胞をレーザーマイクロダイセクションにより採取し、プロテオミクス解析およびリン酸化プロテオミクス解析を行う。

7 共同研究の成果

研究計画に従い、ヒト膵島および幹細胞由来の膵島のリン酸化タンパク質組成の違いを調べた。まず膵島試料からタンパク質を抽出し、還元カルボキシメチル化後、トリプシンで消化した。得られたペプチドをチタニアカラムを用いた金属アフィニティー精製法により、濃縮精製した。そして、リン酸化ペプチドの混合物をナノ液体クロマトグラフィーで分画、オンラインでESI-LTQオービトラップ質量分析計によって分析し、リン酸化タンパク質を同定した。この分析において、全部で約6千のリン酸化ペプチドに関する情報が得られた。これを基に試料間のプロテオームの発現の違いを解析した。一方、リン酸化タンパク質に限定しないで、すべてのタンパク質（プロテオーム）の違いを質量分析計で調べる非標識ショットガン分析も行った。現在、得られた質量分析データの解析を進めている。

また、研究計画の2番目の課題、すなわち、1型糖尿病患者の膵島β細胞のプロテオーム解析は、まだ報告の対象となる成果が挙がっていない。

なお、今後、診断、治療、及び予防の技術の開発に当たっては、血漿または血清のタンパク質の解析が重要となることから、本共同研究では、これまでに世界中で報告された血漿または血清タンパク質に関する主な知見をまとめておくことにした。その作業がかなり進展した。

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 邸提出してください。)

① 本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

Hirano H, Shirakawa J. Recent developments in Phos-tag electrophoresis for the analysis of phosphoproteins in proteomics. *Expert Rev Proteomics*. 2022. doi: 10.1080/14789450.2022.2052850. PMID: 35285370

平野 久, 白川 純. リン酸化タンパク質解析のための Phos-tag 対角線電気泳動. *電気泳動*65, 51-62, 2021.

② この共同研究に基づくとの記載のある論文

Hirano H, Shirakawa J. Recent developments in Phos-tag electrophoresis for the analysis of phosphoproteins in proteomics. *Expert Rev Proteomics*. 2022. doi: 10.1080/14789450.2022.2052850. PMID: 35285370

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)

分析試料入手に関する事 共同で執筆した総説に関する事など
分析技術に関する事
質量分析データの解釈に関する事