

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 5 年 4 月 3 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4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 4年 4月 1日 ~ 令和 5年 3月31日		
4. 共同研究組織			
氏 名	所属等	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) 田沼 未歩	大学院生命医科学研究科	大学院生	生化学実験, 細胞実験
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、枠を自由に変更できます(横幅は変更不可)。6, 7, 8の項目全体では2頁に収めてください。

## 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などを解析する。また電顕データを詳しく分析して、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 を培養し長期低糖刺激で分解誘導を行う。ホルモン(インスリン)分解システムを構築し、分解されるインスリン顆粒のみをラベルして分離精製を行う。精製顆粒のプロテオーム解析およびリピドーム解析を行って、分解関連因子の同定を目指す。

## 7. 共同研究の成果

細胞内のホルモン分解(とくに成熟インスリンの分解)を解析するためのシステム構築を行った。本システムにおいて低グルコースで長期培養すると、古いインスリン顆粒が優位に分解誘導されることが計測された。古い分泌顆粒はまた、リソソーム酵素の一部と共局在することが分かった。古い分泌顆粒を特異的プローブでラベルし、カラムによる精製を行ったのちプロテオーム解析を実施した(分子の特定を進めている)。高齢の膵β細胞特異的フォグリン欠損マウスの電子顕微鏡解析では、分泌顆粒の減少を検出した。これらの膵島において種々の生化学的解析を行ったところ、一部のリソソーム酵素の発現増加を検出した。この結果と細胞実験の成果は部分的に重複しており、フォグリンが膵β細胞において成熟インスリンの分解機構へ関与することが想定された。佐藤教授をはじめ生体調節研究所教員はオートファジー等のタンパク質分解機構や細胞内の膜輸送機構に精通しているため、意見交換を通じ多角的なアプローチで研究を推進できている。

## 8. 共同研究成果に関連する学会発表・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できる限り記載してください。なお、論文の場合は、PDFファイルを以下の研究所庶務係のメールアドレスまで報告書と併せてお送りください。) 研究所庶務係 e-mail : kk-msomu4@jimu.gunma-u.ac.jp

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) 久保田知里, 水野寛之, 瀧川雄太, 神徳亮介, 輿石一郎, 好本裕平, 鳥居征司. 2,2,6,6-テトラメチルピペリジン N-オキシルの揮発投与により虚血性神経細胞死は抑制される. 2022 年度日本生化学会関東支部例会. 千葉. 令和 4 年 6 月 18 日.

2) Mizuno H, Kubota C, Takigawa Y, Shintoku R, Kanazawa M, Yoshimoto Y, Koshiishi I, Torii S. 2,2,6,6-Tetramethylpiperidine-1-oxyl acts as a volatile inhibitor of ferroptosis and neurological injury. 16<sup>th</sup> Congress of World Federation of Interventional and Therapeutic Neuroradiology, Kyoto, Aug 22. 2022

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
- ・ 大学院生研究指導に関する情報交換
- ・ 研究所の研究機器に関する情報提供、指導