

## 「インスリン分泌を起こす蛋白の構造変化の解明」

### 1. 発表者：

東京大学大学院医学系研究科 疾患生命工学センター 構造生理学  
特任講師 高橋倫子 (たかはし のりこ)  
教授 河西春郎 (かさい はるお)

### 2. 発表概要：

インスリン分泌は糖尿病の成因に深くかかわる。われわれは、分泌に重要な SNARE 蛋白の構造変化を、生きた膵ランゲルハンス島の内部で実時間観察することに初めて成功した。

### 3. 発表内容：

我々は、インスリン分泌（※注1）にかかわる蛋白の動きを、生きた膵ランゲルハンス島の内部で実時間観察することに初めて成功し、分泌の直前に構造が変化することを見出した。

インスリンは脊椎動物の身体で糖代謝や成長にかかわる、重要なホルモンである。このホルモンが適切に分泌されないと、糖尿病が誘発される。糖尿病は遺伝的素因と環境因子が重なり合わさって発症する疾患で、我国においては現在予備群を含め 2000 万人以上の人々が罹患している。放置すると、人生の質に関わる視力低下や神経障害・腎機能不全などを起こすので、その根本的な治療法の確立は急務である。

インスリンは膵ランゲルハンス島の大部分を占める  $\beta$  細胞から分泌される。一般に、「SNARE 蛋白」（※注2）は、ペプチドホルモンの分泌や神経伝達物質の放出において作用する中核分子と考えられている。SNARE 蛋白は  $\beta$  細胞にも発現し、その生化学的な性質が旧来調べられてきた。しかし、実際の分泌に、この蛋白がどのように関与するかは、いかなる分泌組織標本でも明らかになっていなかった。

我々は、2 光子励起画像法（※注3）の特殊な光化学的特性（同時多重染色性）と、新規に開発した蛍光プローブを応用し、分泌にかかわる SNARE 蛋白（SNAP25）の構造変化をしらべた(図 1)。そして、分泌現象に関連付けて、生細胞で解明する事にはじめて成功した。その結果、 $\beta$  細胞の中には、SNARE 蛋白のあらかじめ複合化した領域と、非複合領域の有ることが判明した(図 2)。複

合化した領域からは、速い分泌が誘発された。また、複合化していない領域からは、分泌の直前に複合化を起こし、分泌を誘発することが明らかになった。

このように我々は、細胞の極性を保った組織内部で、インスリンの分泌を起こす蛋白の構造変化を解析する実験系を確立した。本手法は他の組織標本においても応用可能である。今後病態生理を考察する上で、従来ない威力を発揮するものと考えられる。当研究は2010年7月7日付の米国科学誌セルメタボリズム誌に掲載される。

#### 4. 発表雑誌：

Cell Metabolism 誌 (7月7日発刊予定)

"SNARE Conformational Changes that Prepare Vesicles for Exocytosis.

Takahashi N. et al.

#### 5. 公表日時：

日本時間 7月7日午前1時以降

#### 6. 問い合わせ先：

東京大学大学院医学系研究科 疾患生命工学センター 構造生理学  
特任講師 高橋倫子

#### 7. 用語解説：

注1 インスリン：血糖の調節や生体の成長・代謝に重要なホルモン。

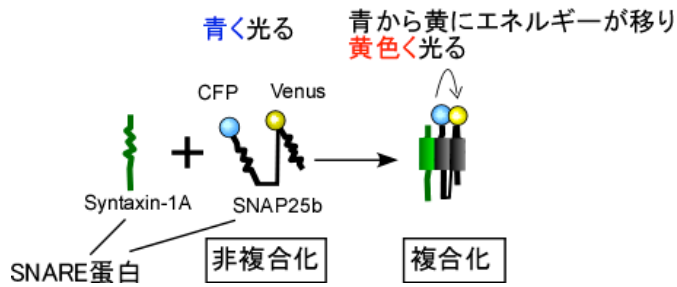
注2 SNARE 蛋白：インスリンは分泌顆粒内部に蓄えられており、顆粒の膜と細胞膜が融合する事により、内容物は放出される。臍島では、これらの膜同士の融合に SNARE 蛋白 (SNAP25, Syntaxin1, VAMP2 の3種蛋白) が関与する。

注3 2光子励起画像法：赤外超短パルスレーザーを光源に用いる画像法。生体深部の微細構造の可視化に適し、多種の蛍光シグナルを同時に取得できる。

注4 蛍光エネルギー移動 (FRET) (添付資料内の注4)：適切な組合せの二種類の蛍光色素分子が接近すると (-5 nm)、色素間でエネルギーが移動して、発せられる蛍光波長が変わる現象。分子間の結合や構造変化の実時間解析に用いられる。

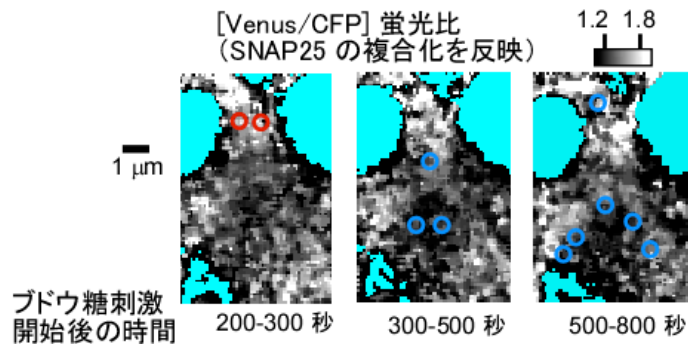
#### 8. 添付資料：

## 図1 分泌関連蛋白の蛍光プローブ



SNAP25 は細胞膜に発現する分泌関連蛋白。SNAP25 に二つの蛍光色素（CFP、venus）を結合し、構造変化をモニターするプローブを新規に作製した。Syntaxin 1A と複合化すると、発する蛍光波長の変わることを確認した（蛍光エネルギー移動：FRET）（※注4）。

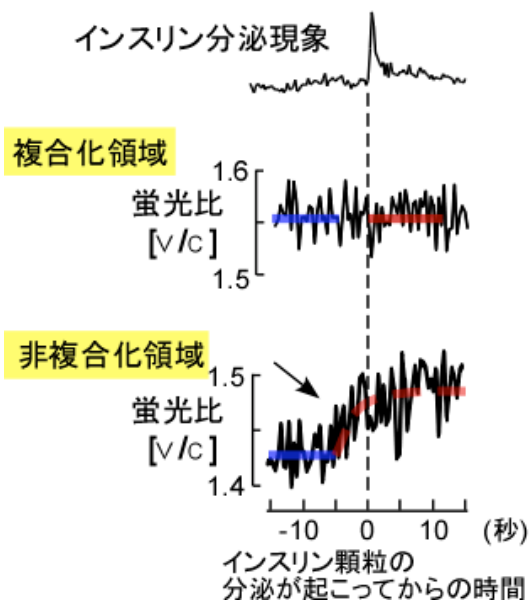
## 図2 膵ランゲルハンス島内部のSNAP25の複合化



SNAP25 の複合化領域を白、非複合化領域を黒で表示。膵ランゲルハンス島内部に勾配のあることを見出した。インスリン分泌の観測部位を円で示す。

血糖調節に重要な初期のインスリン分泌は予め複合化した領域で起こることが判明した。

図3 分泌過程におけるSNAP25の構造変化



インスリン分泌がおこった径 400 nm の領域で、蛍光比の変化を平均加算解析した。

あらかじめ複合化していない領域では、分泌の直前より複合化の起こる様子が明らかになった。