

## 研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		膵β細胞における2相性インスリン開口放出機構のイメージング解析			
研究テーマ (欧文) AZ		Visualization of biphasic insulin secretion by TIRF imaging			
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓)イマイズミ	名)ミカ	研究期間 B	2008 ~ 2009 年
	漢字 CB	今泉	美佳	報告年度 YR	2010 年
	ローマ字 CZ	Ohara-Imaizumi	Mica	研究機関名	杏林大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		医学部・准教授			
<p>概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)</p> <p>グルコース刺激による膵β細胞からのインスリン分泌は2相性を示す。2型糖尿病ではこの分泌様式が破綻していることから、2相性インスリン分泌機構の解明は2型糖尿病の予防、治療法の開発のためにも非常に重要な課題であるが、まだ不明な点が数多く残されている。2相性インスリン分泌はインスリン分泌顆粒の細胞内輸送機構によって貯蔵から開口放出までダイナミックに調節されており、単一顆粒レベルでの時空間的可視化動態解析が強力な研究手段となる。本研究では入射角可変式 Variable Total Internal Reflection Fluorescence (VTIRF) 顕微鏡 (evanescent 場を任意に調節可能な顕微鏡) を用いて、まず分泌第2相でのインスリン分泌機構解明を目指し、第2相を担っているインスリン顆粒 (newcomer 顆粒) の細胞内輸送機構をイメージング解析した。高グルコース刺激後5分以降のインスリン分泌第2相では、後者の細胞質内貯蔵プールより形質膜に選択的に供給され、非常に短時間 (&lt;50 ms) ドッキングした newcomer 顆粒の開口放出が観察され、アクチン重合/脱重合の空間的制御およびミオシンVaが第2相分泌における newcomer 顆粒の細胞内輸送を制御していることを示唆した。また、VTIRF 顕微鏡を用いたインスリン顆粒の動態解析により、PI3 kinase は促進的に、また Gαoは抑制的に開口放出過程を調節していることを欠損マウスを用いて明らかにした。</p>					
キーワード FA	インスリン	開口放出	イメージング	膵β細胞	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード* TA					研究課題番号 AA									
研究機関番号 AC					シート番号									

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Gα0 represses insulin secretion by reducing vesicular docking in pancreatic beta cells							
	著者名 <sup>GA</sup>	Zhao A, Ohara-Imaizumi M et al.	雑誌名 <sup>GC</sup>	Diabetes					
	ページ <sup>GF</sup>	2522~2529	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	0	巻号 <sup>GD</sup>	59
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Insulin/phosphatidylinositol 3-kinase pathway accelerates the glucose-induced first phase insulin secretion through TrpV2 recruitment in pancreatic beta-cells.							
	著者名 <sup>GA</sup>	Aoyagi K, Ohara-Imaizumi M et al.	雑誌名 <sup>GC</sup>	Biochem. J.					
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	0	巻号 <sup>GD</sup>	In press
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Imaging exocytosis of single glucagon-like peptide-1 containing granules in a murine enteroendocrine cell line with total internal reflection fluorescent microscopy.							
	著者名 <sup>GA</sup>	Ohara-Imaizumi M, Aoyagi K et al.	雑誌名 <sup>GC</sup>	Biochem Biophys Res Commun.					
	ページ <sup>GF</sup>	16~20	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	0	9	巻号 <sup>GD</sup>	390
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

#### 欧文概要 EZ

Total internal reflection fluorescence microscopy (TIRFM) system can analyze the docking and fusion of insulin granules near the plasma membrane, however, it is impossible to observe the translocation process of insulin granules from the inside pool to the plasma membrane. In order to overcome this problem, we have developed the variable TIRFM (V-TIRFM). A significant advantage of V-TIRFM is that it is able to visualize the intracellular events more than 100 nm apart from the plasma membrane. V-TIRFM modulates the penetration depth of the evanescent wave. Because the penetration depth depends on the relative refractive index and incident angle, TIRF with a variable angle of incident light makes it possible to acquire the information along the Z-axis. Using V-TIRFM system, the movement of single insulin granule from the inside pool, located about 500 nm from the plasma membrane, to the plasma membrane was observed, which eventually fused with the plasma membrane. Furthermore, the experiments using recombinant adenovirus encoding actin-mCherry treated  $\beta$  cells showed the close association of insulin granule intracellular movement with actin-network. Thus, V-TIRFM is a useful method to analyze the movement of insulin granules in the cytoplasm, and thereby we might be able to explore the mechanism of 2<sup>nd</sup> phase insulin release that is mostly consisted of newcomer fusion.