

プロジェクト名：消化管ホルモン研究に対する小型モデル動物の開発と ホルモン機能機構研究

プロジェクト代表者： 坂井貴文（理工学研究科・教授）

実施したプロジェクトの概要

モチリンは1970年代にブタ十二指腸から単離・同定された22アミノ酸のペプチドホルモンであり空腹時の消化管蠕動運動を惹起する事が知られている。今までに、イヌを用いて消化管運動に対する知見が多く報告されているが代表的な実験動物であるラット、マウスなどの小型の哺乳類でモチリンの遺伝子およびアミノ酸配列は同定されておらず、これら小動物を用いた研究ができない。この状況を打開するために、申請者は、進化的にげっ歯類と離れている小型の哺乳類としてスンクス (*Suncus murinus*) に着目しモチリン研究のモデル動物として利用出来るよう基礎的な研究を行った。本プロジェクトにより得られた成果は以下の通りである。

得られた成果

1. スンクスモチリン遺伝子の同定

スンクス小腸よりcDNAを作成し、PCRクローニング法および3' RACE、5' RACEを行い、スンクスモチリン遺伝子の全長配列を同定した。同時に、モチリンの免疫染色と同定した配列を元に作成したcRNAプローブを用いたin situ hybridizationを行い、モチリン発現・産生細胞が十二指腸に相当する上部小腸に局限して存在することを明らかにした。また、得られたcDNA配列から推定されるスンクスモチリンを合成し、その生理作用を調べたところ、organ bath実験系でスンクス胃が合成モチリンに反応することを確認した。これらの成果は、内外の学会で発表すると共に国際誌であるPeptides誌に発表した。

2. スンクスグレリン遺伝子の同定

スンクス胃よりcDNAを作成し、モチリンと同様の手法を用いてスンクスグレリン遺伝子の全長配列を決定した。また、グレリン発現及びグレリン産生細胞分布を詳細に検討した結果、スンクスグレリンは胃に局限して発現することおよび産生細胞は胃底部に高密度に存在することを明らかにした。また、スンクスグレリンは他の哺乳類と同様に3位のセリンがオクタン酸により修飾されていることが確認された。これらの成果は内外の学会で発表すると共に国際誌であるPeptides誌に発表した。

3. 無麻酔・無拘束スンクスにおける消化管運動記録実験系の確立

消化管運動を記録するためにフォーストランスデューサーを自作し、胃と上部小腸に逢着し、空腹期収縮を記録した。その結果、スンクス胃は空腹時に約120分の周期で強収縮を起こすことを確認した。この間隔はヒトやイヌと同様であった。これらの結果はいくつ

かの学会および研究会で報告した。

4. 総合研究機構プロジェクト研究費に関連する成果

著者名	タイトル	発表誌等	発表等年・月
筒井千尋	House musk shrew (<i>Suncus murinus</i> , order: Insectivora) as a new model animal for motilin study.	Peptides	平成21年2月
石田祐子	Identification of ghrelin in the house musk shrew (<i>Suncus murinus</i>): cDNA cloning, peptide purification and tissue distribution	Peptides	in press
坂井貴文	スunks (<i>Suncus murinus</i>)におけるモチリンおよびグレリン遺伝子の同定	第16回 群馬消化管運動研究会	平成20年3月
筒井千尋	スunks (<i>Suncus murinus</i>)モチリンの発現分布と消化管運動に対する影響の検討	第16回 群馬消化管運動研究会	平成20年3月
筒井千尋	Determination of Motilin Gene and Its Tissue Distribution in Musk Shrews (<i>Suncus murinus</i> , Order Insectivora).	第90回アメリカ内分秘学会 (ENDO2008)	平成20年6月
坂原聖士	Identification of Gastric Ghrelin, and Distribution of Ghrelin-Producing Cells in the <i>Suncus murinus</i> .	第90回アメリカ内分秘学会 (ENDO2008)	平成20年6月
坂井貴文	モチリン/グレリン研究へのスunksの利用	軽井沢セミナー	平成20年8月
筒井千尋	モチリン研究のためのモデル動物としてのスunks <i>Suncus murinus</i> の提唱	日本動物学会 第79回大会	平成20年9月
石田祐子	食虫目スunks (<i>Suncus murinus</i>)におけるグレリンの同定と特徴	日本動物学会 第79回大会	平成20年9月
坂井貴文	モチリン-グレリンファミリー研究のためのモデル動物スunks (<i>Suncus murinus</i>)の提案	第7回 日本神経消化器病学会	平成20年9月
筒井千尋	スunks (<i>Suncus murinus</i>)モチリンの発現分布と消化管運動に対する生理作用の検討	同上	平成20年9月
小池加奈子	発生期スunks (<i>Suncus murinus</i>)十二指腸におけるモチリン mRNA 発現量及び免疫陽性細胞数の検討	第33回 日本比較内分秘学会大会及びシンポジウム	平成20年12月
谷中崇嗣	<i>in vitro</i> におけるモチリンによるスunks胃収縮作用機構の解明	第33回 日本比較内分秘学会大会及びシンポジウム	平成20年12月
坂原聖士	食虫目スunksは <i>in vivo</i> のモチリン研究において有用な新規モデル動物である	第33回 日本比較内分秘学会大会及びシンポジウム	平成20年12月
坂井貴文	<i>in vivo</i> モチリン作用機序の解明における食虫目スunksの有用性	第17回 群馬消化管運動研究会	平成21年3月
筒井千尋	壁内神経叢を介したモチリン誘導スunks (<i>Suncus murinus</i>)胃収縮機構の検討	第17回 群馬消化管運動研究会	平成21年3月
小池加奈子	発生期スunks (<i>Suncus murinus</i>)のモチリンファミリーの細胞密度と mRNA 発現の変化	第61回日本動物学会関東支部大会	平成21年3月
坂井貴文	消化管運動機能物質のスクリーニング方法 (特願2008-245518)		平成20年