

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 15 日現在

機関番号：84404

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2010～2011

課題番号：22890253

研究課題名（和文）

ペプチドーム解析より発見された VGF タンパク質由来新規ペプチド群の生理機能の解明

研究課題名（英文）

Analysis of physiological function for new peptides derived from VGF protein discovered by peptidomics analysis

研究代表者

望月 明和 (MOCHIZUKI AKIKAZU)

独立行政法人国立循環器病研究センター・分子薬理部・研究員

研究者番号：30589601

研究成果の概要（和文）：

本研究において、NERP-1 と NERP-2 陽性細胞が、CRH 産生細胞とも一部共存することを新たに見出した。NERP-1 と NERP-2 以外に、in vitro での活性が見られたペプチドである NERP-3 と NERP-4 に対する抗体を作製した。また、VGF 遺伝子欠損マウスを作製し、VGF ノックアウトマウスが低体重であり、生殖能力が非常に低いという表現系を示すことが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

In this study, we found NERP-1 and NERP-2 producing cells are colocalized with CRH immunopositive cells. We made antibodies against for NERP-3 and NERP-4. In addition, we made VGF knockout mouse. They are lean and infertility.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2011 年度	1,230,000	369,000	1,599,000
2012 年度	1,130,000	339,000	1,469,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,360,000	708,000	3,068,000

研究分野：内分泌学

科研費の分科・細目：医歯薬学・内分泌学

キーワード：VGF、ペプチド、ノックアウトマウス

1. 研究開始当初の背景

(1) 申請者の研究室では、培養神経内分泌系細胞の分泌ペプチドーム解析により、VGF タンパク質由来ペプチドを多数同定し、プロセシング機序の解析より VGF タンパク質全体より生成する主要な 15 種のペプチド構造を初めて明らかにした。

(2) NERP-1 と-2 の共通前駆体である VGF タンパク質は 617 残基の分泌タンパク質で、プロセシング酵素のコンセンサスモチーフを数

多く有することより、多くの生理活性ペプチドを生成する可能性が示唆され、C 末端部の AQEE-30、TLQP-62、TLQP-21 などが見出され、海馬のシナプス伝達、胃縦走筋収縮、痛覚伝達制御、抗鬱剤様作用、エネルギー代謝への影響などが報告されている。しかしながら、遺伝子欠損マウスの表現型（エネルギー代謝異常、性的成熟遅延、不妊、生体リズム異常等）に適合する機能は見出されておらず、VGF タンパク質に由来する未同定ペプチドが機能発現させていると推定される。

2. 研究の目的

本研究では VGF タンパク質より生成することが確実な 15 種のペプチドの内、アミノ酸残基数が 40 以下の全てのペプチドについて in vitro, in vivo の実験により活性の有無を判定し、活性ペプチドについて生理機能の探索を行う。

3. 研究の方法

(1) 抗体を作製した VGF タンパク質由来ペプチドについて、主に中枢神経系での産生細胞の局在を免疫組織化学で調べる。また、他のホルモン産生細胞との二重免疫組織化学を行い、その局在についても検討した。

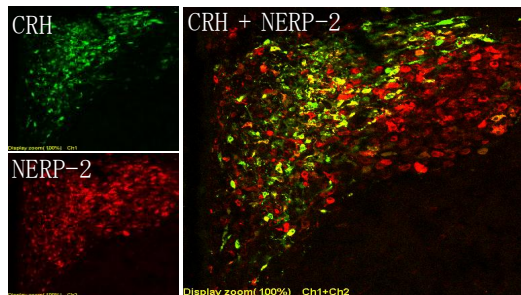
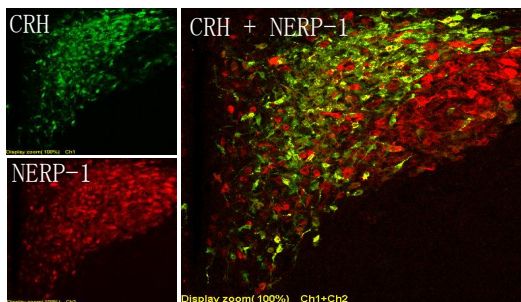
(2) VGF ノックアウトマウスを作成し、体重変化と血中の生化学検査を行い解析した。

4. 研究成果

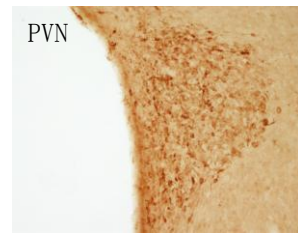
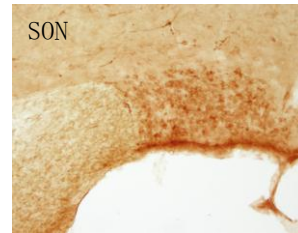
(1)

①NERP-1、NERP-2 と CRH の二重免疫組織化学により、NERP-1、NERP-2 共に一部の産生細胞が CRH 産生細胞と共存することが明らかとなった。

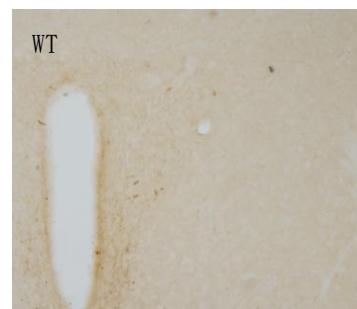
VGF タンパク質由来ペプチドが CRH 産生細胞と共存するという報告はまだなく、VGF タンパク質由来ペプチドがストレス反応と関わる可能性を示唆した。



②NERP-4 の抗体を作成し、中枢神経における局在を免疫組織化学により検討した結果、室傍核、視索上核に産生細胞が存在することが明らかとなった。

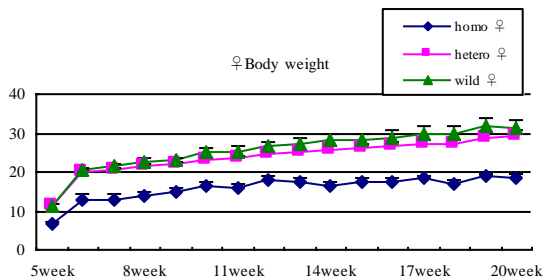
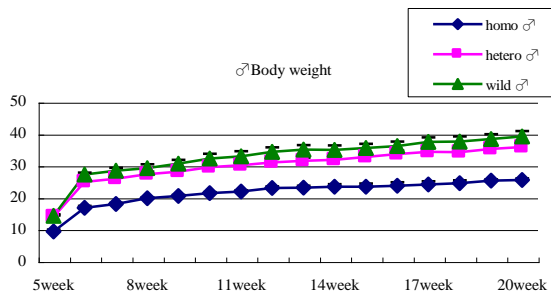


(2) NERP-3 の抗体を作製し、共同研究者らが NERP-3 の中枢神経における局在と、体液調節における機能に関する論文を報告した。その際、抗体の特異性を、VGF ノックアウトマウスを用いて確認した。

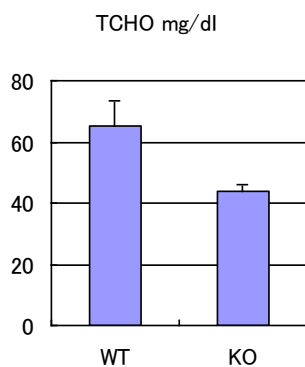


(2)

①VGF ノックアウトマウスが、雌雄共に、低体重であることを確認した。
すでに VGF ノックアウトマウスが低体重を示すことは報告されているが、VGF タンパク質由来ペプチドを全て把握出来ているのは申請者の研究室のみで、VGF ノックアウトマウスに VGF タンパク質由来ペプチドを投与することで、それぞれのペプチドの機能を解析することが出来るとともに、数種のペプチドの相加・相乗作用を調べることが出来る。



②血中の生化学検査を行った結果、コレステロール値が顕著に低いことが明らかとなった。
低体重であることから、脂質代謝に VGF タンパク質由来ペプチドが作用していることが示唆された。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

①徐枝芳、加賀重人、望月明和、坪水純、足立幸香、坂井貴文、井上金治、足立明人
Immunocytochemical localization of kisspeptin neurons in the rat forebrain with special reference to sexual dimorphism and interaction with GnRH neurons.

査読有、*Endocrine Journal*. 59(2); 161-171, 2012.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22240892>

②徐枝芳、加賀重人、坪水純、藤崎潤、望月明和、坂井貴文、東村博子、前田敬一郎、井上金治、足立明人

Circadian transcriptional factor DBP regulates expression of Kiss in the anteroventral periventricular nucleus.

査読有、*Molecular and Cellular Endocrinology*. 339(1-2); 90-97, 2011

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21458520>

[学会発表] (計 4 件)

① Mochizuki A

The effects of prolactin-releasing peptide (PrRP) in energy metabolism and stress.

5th International Peptide Symposium in conjunction with 47th Japanese Peptide Symposium, Kyoto, 2010 年 12 月 4-9 日

②徐枝芳

時計遺伝子による Kiss1 発現制御に関する研究

第 17 回日本時間生物学会、東京、2010 年 11 月 20-21 日

③望月明和

プロラクチン放出ペプチド (PrRP) のストレス反応との関連

第 28 回日本内分泌代謝学サマーセミナー、長崎、2010 年 7 月 8-10 日

④望月明和

Proactin-Releasing Peptide (PrRP) のエネルギー代謝とストレスとの関連

第 7 回 GPCR 研究会、東京、2010 年 5 月 7, 8 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

望月 明和 (MOCHIZUKI AKIKAZU)

独立行政法人国立循環器病研究センター

分子薬理部・研究員

研究者番号：30589601

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし