

## 先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム) 実績報告書

本様式の内容は一般に公表されません

研究課題名	先端的光技術によるインスリン開口放出機構の可視化と制御
研究機関・ 部局・職名	東京大学・大学院医学系研究科・講師
氏名	高橋 倫子

1. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成26年3月31日

2. 収支の状況

(単位:円)

	交付決定額	交付を受けた額	利息等収入額	収入額合計	執行額	未執行額	既返還額
直接経費	72,000,000	72,000,000	0	72,000,000	72,000,000	0	0
間接経費	21,600,000	21,600,000	0	21,600,000	21,600,000	0	0
合計	93,600,000	93,600,000	0	93,600,000	93,600,000	0	0

3. 執行額内訳

(単位:円)

費目	平成22年度	平成23年度	平成24年度	平成25年度	合計
物品費	4,040,870	8,825,369	13,368,720	9,777,556	36,012,515
旅費	0	136,520	87,420	128,180	352,120
謝金・人件費等	0	9,976,845	9,626,686	7,386,481	26,990,012
その他	4,034,100	374,999	480,936	3,755,318	8,645,353
直接経費計	8,074,970	19,313,733	23,563,762	21,047,535	72,000,000
間接経費計	0	4,453,800	8,537,700	8,608,500	21,600,000
合計	8,074,970	23,767,533	32,101,462	29,656,035	93,600,000

4. 主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関名
レーザー導入ユニット	Sシステム	1	2,410,800	2,410,800	2011/3/25	東京大学
パーソナルコンピュータ	OLMFV870SM	1	525,000	525,000	2011/3/7	東京大学
LSMアップグレードキット (蛍光寿命イメージング装置)	独国PicoQuant社	1	5,953,500	5,953,500	2013/2/14	東京大学
CO2インキュベータ	パナソニック・MCO-18AC	1	780,549	780,549	2013/6/13	東京大学
ラック型チラー	米国スペクトラ・フィジックス インコーポレイテッド・Chiller Rack KE-FE	1	626,115	626,115	2014/1/15	東京大学

5. 研究成果の概要

インスリンの分泌や、神経伝達物質の放出にあたり、大切な役割を果たす蛋白質がどのように作用するのか。生きた組織の中で実時間で計測する実験系を作ること成功した。蛋白質同士の結合は、「蛍光共鳴エネルギー移動」の現象を利用し、蛍光寿命測定により把握した。電気活動が到来すると、1ミリ秒以内に物質を放出するシナプスでは、分泌に関連する蛋白質群が結合しあい、特殊な準備状態を作っていた。一方、ホルモンを分泌する膵島では、各蛋白質の多くは個別に存在し、分泌の直前に複合化する様子が可視化された。糖尿病の成因に関わるインスリン分泌を促す薬剤開発に、蛋白質複合化を指標とする当技術の活用が期待される。

課題番号	LS032
------	-------

## 先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム) 研究成果報告書

本様式の内容は一般に公表されます
------------------

研究課題名 (下段英語表記)	先端的光技術によるインスリン開口放出機構の可視化と制御
	Imaging and control of insulin exocytic mechanism by optical technology
研究機関・部局・ 職名 (下段英語表記)	東京大学・大学院医学系研究科・講師
	The University of Tokyo, Graduate School of Medicine, Lecturer
氏名 (下段英語表記)	高橋 倫子
	Noriko Takahashi

### 研究成果の概要

(和文):

生体内で分子同士がどのように結合している、生体のはたらきに影響するのか。最先端の光学的手法(2光子励起顕微鏡、蛍光寿命画像法、光照射による分泌刺激法、分子の蛍光標識法)を組み合わせ、異なる分子間の結合を生体組織内で定量し、生体機能と関連解析する手法を確立した。その結果、インスリンを分泌する膵内分泌組織と、神経伝達に関わるシナプスでは、分泌に関連する蛋白(SNARE)が共通して発現しているにもかかわらず、分子の複合化に大きな差異があることを見出した。また、分泌期間中の構造変化をとらえることにも成功した。本手法は、例えば、蛋白の複合化を増す薬剤のスクリーニングなどにも使え、インスリン分泌が減弱する2型糖尿病の克服にむけた応用が可能である。

(英文):

How molecules are assembled in the living tissues, and affect the physiological functions? We combined the cutting-edge optical technologies (two-photon excitation microscopy, lifetime imaging system, flash photoirradiation of photoactivatable tools and fluorescent molecular labeling method), and established a method for measuring intermolecular assembly, and analyzed its correlation with physiological functions. In the insulin-secreting endocrine pancreas and presynaptic terminals, the same exocytic molecules (SNAREs) are expressed. However, profound

## 様式21

difference are detected in the pattern of assembly before exocytosis. We also visualized their conformational changes during exocytosis. Our method is applicable, for examples, in the drug screening that affects protein complex in the pancreatic islet, expected for the overcome of Type 2 diabetes mellitus.

### 1. 執行金額 93,600,000円

(うち、直接経費 72,000,000円、間接経費 21,600,000円)

### 2. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成26年3月31日

### 3. 研究目的

インスリン分泌の異常は糖尿病の主因の一つと考えられている。インスリンは膵島の $\beta$ 細胞で合成され、脂質二重膜につつまれた小胞の中に蓄えられ、分泌刺激が与えられると、その小胞の膜が細胞膜と融合することにより、内容物であるホルモンは細胞外に放出される。このような分泌の最終過程は「開口放出」と呼ばれている。

2型糖尿病患者の膵島では、分泌の最終過程にあたる開口放出に関連する蛋白の発現低下が報告されている。しかし、開口放出は、脂質二重膜の再構成を伴う複雑な現象で、定量化する有効な方法論が少なく、その基盤を成す SNARE 分子機構には不明な点が多く残る。申請者らは以前 2光子励起画像法を用い、膵島標本内部でおこるインスリン開口放出を定量的に可視化する手法を確立した (Science 297,1349, 2002, Takahashi et al.)。そして、細胞膜側に発現する SNARE 蛋白質; SNAP25 を蛍光標識し、開口放出に伴う分布の変化を計測した (J Cell Biol. 165, 255, 2004, Takahashi et al.)。SNARE 機構の解明をさらに進めるためには異種 SNARE 分子間の会合を検出する方法論を開発する必要がある。今回はその確立を目指し、インスリン分泌細胞と神経細胞の双方に新手法の応用を図った。そして、複合化の割合や複合体の分子構造が、生体機能にどのように関連するか、検討するとともに、光により分泌や神経伝達物質を制御する可能性についても探索的な研究を試みることを目的とした。

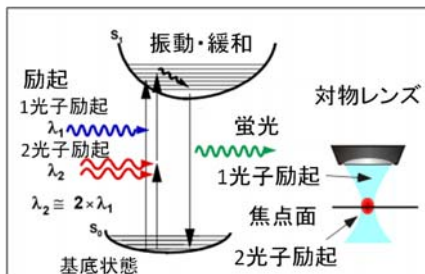
### 4. 研究計画・方法

膜融合の中核となる SNARE の複合化を生体組織内で実時間観察するために、複数種類のアイデアのもとに予備実験を行ったが、「蛋白の蛍光標識法」と「2光子励起蛍光寿命測定法」の併用が最も定量性が高く、有用との結論に達し、以下の実験を進めた。

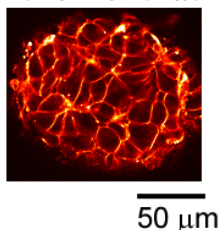
2光子励起画像法は、長波長の近赤外光を励起に用いるために、組織深部の可視化に適し、かつ、励起がレンズ焦点面でのみ起こるので、断層画像情報を得ることができる。加えて、80 MHz (出射間隔 12.5 ナノ秒)の超短パルスレーザーを光源に用いるために、ナノ秒次元で減衰する蛍光寿命の測定に適する。そこで、膵島や神経スライスの観察に有用な2光子励起顕微鏡に、時間相関単一光子検出装置 (TCSPC) を組み合わせ、蛍光寿命を各画素で計測するイメージング

法を、研究室内で新規に立ち上げた。

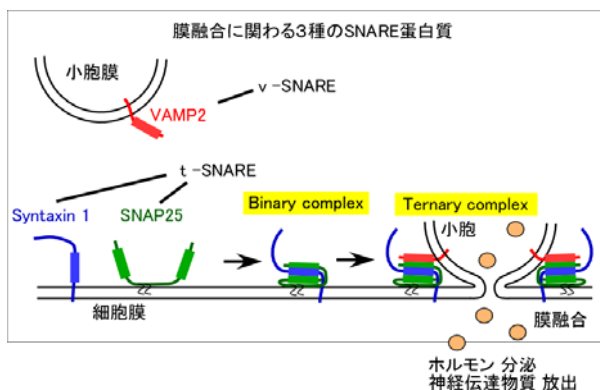
2光子励起画像法



膵島の2光子励起画像  
生体深部の微細構造観察に適する

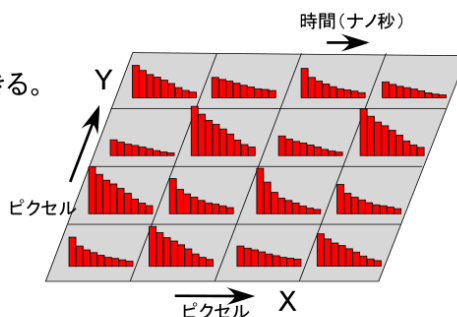
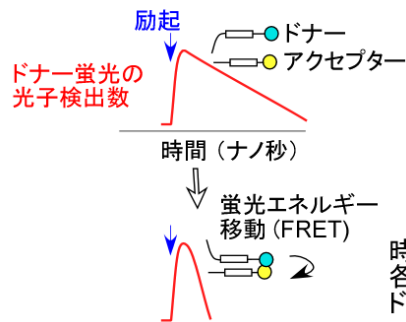


膜融合の中核となる SNARE 分子三種の蛍光標識プローブを多数作製した。FRET を起こしうる蛍光色素の組み合わせとして、mTurquoise(青) と Venus(黄色)、あるいは EGFP(緑)と REAcH(無蛍光)を主に選択した。初代培養神経標本に遺伝子導入し、神経軸索における発現を確認した後、一部を膵島導入用にウィルスベクター化し、膵島に発現させた。蛋白が複合化すると、二種の色素が接近するように、色素標識を行った。蛋白が複合化すると FRET が起こり、ドナーの蛍光寿命が短縮する。この短縮度から、ドナー分子の何割がアクセプター分子に結合するかが計算できるので、異分子間の複合化測定が可能となる(後述)。



蛍光寿命測定による分子間複合化率計測の原理

FRET(蛍光共鳴エネルギー移動)を起こす二種蛍光色素で蛋白を標識。蛋白が複合化すると、ドナーの蛍光寿命が短縮し、短縮分から分子の複合化率が推測できる。



時間相関単一光子検出システムと2光子励起顕微鏡を組み合わせ、各画素における蛍光減衰の時間経過を測定。ドナー分子の複合化率を計測した。

膵島を水溶性蛍光色素 (Alexa594) で還流し細胞外を蛍光標識した状態で分泌刺激を与えると、インスリン開口放出現象は小さな点状蛍光の出現としてとらえられる (Science 297, 1349, 2002)。この開口放出可視化手法と、蛍光寿命測定法を組み合わせ、膜融合前後における分子複合化率の変化を、インスリン開口放出部位で測定した。

並行して、SNAP25欠損胎児マウスより膵島標本と大脳皮質細胞を初代培養する手法と、胎児の遺伝子型を迅速に判定する方法を確立し、SNARE蛋白質の蛍光標識プローブを組織に遺伝子導入した。欠損マウスは胎生致死であるが、その神経細胞は外来性 SNAP25を補充する事により生存し、神経突起を伸ばしてシナプスを形成することを確認した。この実験系を用いると、蛍光標識されたSNAP25分子のみが、開口放出に参加する状況を作れるので、各種の蛋白変異体の複合化と機能の関連を直接解析できる。SNAP25変異体の複合化は FRETで測定し、シナプス伝達 (開口放出) はシナプス後電流により計測した。開口放出の誘発は電気刺激/Sucrose 刺激のほか、ケイジド試薬と光照射法を併用して、キネティクスの詳細を解析した。シナプス前終末には、SNARE複合体の超分子構造があることを見出している。

なお、神経細胞の開口放出機能測定として、シナプス前終末間の違いが可視化できる FM4-64 の利用を当初計画した。位置情報は得られるものの、時間解像度がやや粗く、2光子励起では本色素は相対的に暗く、長期連続記録に適さないと判断した。そこで、パッチクランプ法で神経伝達物質の放出をサブミリ秒単位で計測する実験系を共同研究者: 大学院博士課程 澤田和可子氏、助教 渡辺 恵氏が中心となって立ち上げた。

## 5. 研究成果・波及効果

### (1) 2光子励起蛍光寿命測定法・同時多重染色法の立ち上げ

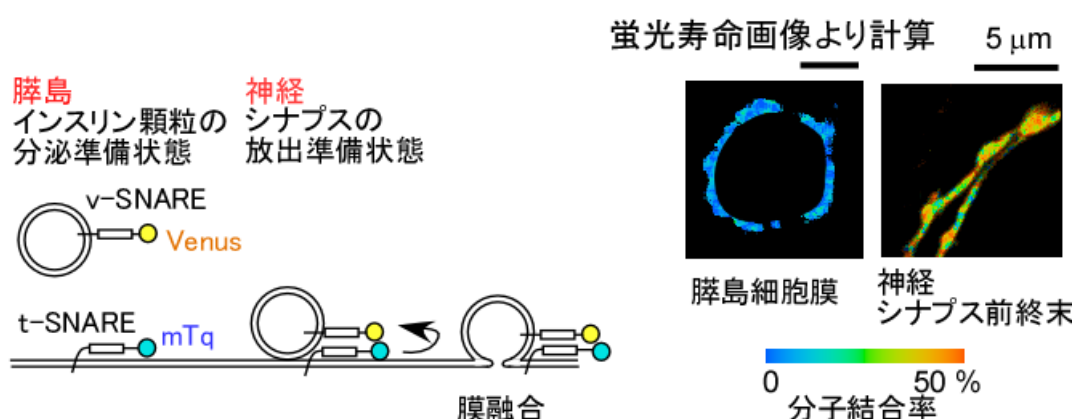
2光子励起顕微鏡法と蛍光寿命測定法、および生体分子の蛍光標識を組み合わせ、生体組織で蛍光寿命を測定する実験系を確立した。機種選定にあたっては、ドイツ製蛍光寿命測定装置2種を試用し、機種選定・購入決定に1年近くかかったため、データの統一的な収集に時間がかかった。蛍光色素として、mTurquoise は 時定数約 3.7 ns、EGFP は時定数約 2.4 ns で single exponential に減衰することを確認し、これらの色素をドナーとして用いるのが適すと考えた。さらに、FRET を起こす色素 2 つ (mTurquoise と Venus) に加え、水溶性蛍光色素 (alexa594) の同時三重染色実験を膵島で行い、インスリン分泌現象と、蛋白複合化の双方を経時的に同時解析する実験系を、東京インスツルメンツ社の技術開発の方々の協力で立ち上げることができた。時間分解能は 1.8 秒まであげることができ、インスリン開口放出を反映する一過性点状蛍光の検出に耐える時間分解能と考えている。

蛍光寿命は、蛍光色素のバルクの発現濃度に依存しないために、分子の密度変化を伴う状況

でも「分子間複合化」の計測に適すると考えられていた。確かに、ドナー色素の発現量とドナー蛍光寿命の間には相関がなかった。しかし、実験を進めるにつれ、アクセプターの発現量にはドナー蛍光寿命が依存することが気付いた。定量比較の際には、必ずアクセプター強度を確認する必要があり、内因性発現量に近い値(例 50-200%)を示した領域でのみ解析し、統計処理する方針を打ち立てた(論文再投稿中)。

(2)神経と膵島における開口放出関連分子 SNARE の複合化の違いを同一実験系で同定

顆粒膜発現 v-SNARE と細胞膜発現 t-SNARE間の複合化

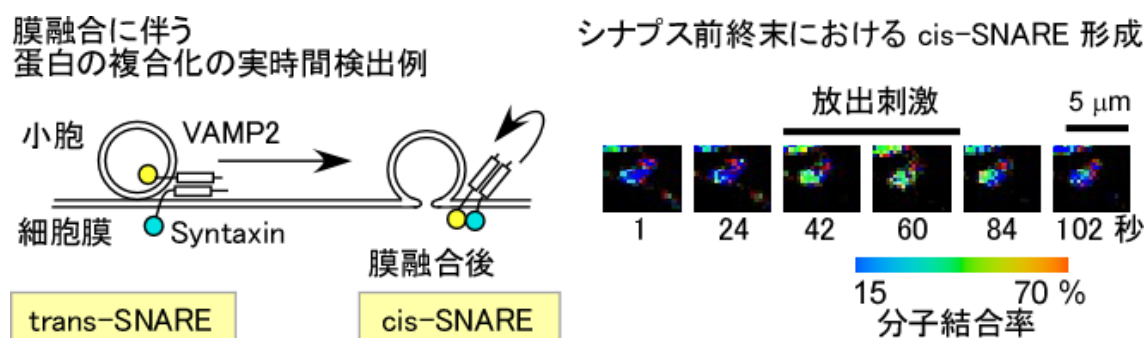


SNARE 分子(SNAP25、Syntaxin1、VAMP2)のN末を、mTurquoise (mTq)あるいはVenusで蛍光標識した蛋白のcoding regionを、発現プラスミドあるいはウィルスベクターに搭載し、ラット大脳皮質神経細胞やマウス膵島に2種類ずつ遺伝子導入した。導入1-2日後にドナーの蛍光寿命画像を取得し、分子間の結合率を測定した。安静時の膵島では、複合化が抑制されていた。細胞膜上に発現するt-SNARE間の複合化は軽度(<10%)で、小胞に発現するv-SNAREとt-SNARE間の複合化はほとんど検出できなかった。以上より、インスリン分泌細胞ではSNARE複合体がほとんど形成されない状態で待機していると考えられた。一方、大脳皮質神経細胞の軸索上には、t-SNARE同士、あるいはt-SNAREとv-SNARE間の結合が高度(約30%)におこる領域が散在し、免疫染色の結果、active zone蛋白とも共局在し、シナプス前終末の特徴と判定した。FRETは原則2種類の蛍光色素間でのみ測定可能のため、2種の蛋白間の結合を見ることになるが、蛍光標識しない残りの一つのSNARE分子のαヘリックスを切断すると、2者の結合が阻害されることから、3者の複合体(Ternary SNARE complex)を反映していると解釈した。また、脳スライス標本で検討した結果、シナプス後部構造(スパイン)の大きさと、シナプス前部におけるSNARE蛋白複合化生成率の間には相関がみられ、後部から与えられる物理的情報が前部の分子動態に影響を与える可能性を推論している。

今後、このような分子間複合化を検出する実験は、複合体の構造が判明している蛋白群には応用可能と考えられる。そして、分子間複合化に影響を与えるような薬剤のスクリーニングを介し

て、膵β細胞の分泌機能や生存期間に作用する薬の開発に役立つ可能性がある。

### (3)神経伝達物質放出やインスリン分泌過程における SNARE 複合化のモニター



前述の②では、Syntaxin と VAMP2 の N 末(細胞内領域)を蛍光標識したプローブが示す Ternary-SNARE 複合体の結果について説明した。一方、図に示すように Syntaxin の細胞外領域と VAMP2 の顆粒内領域(どちらも C 末)を蛍光標識すると、膜融合の後にのみ FRET が出現することが想定される。このように、二つの SNARE 蛋白が同一膜に配向する構造は、cis-SNARE 構造と呼ばれる。シナプス前終末に放出刺激を与えながら、ドナー蛍光寿命画像を経時的に取得すると、一過性の cis-SNARE 形成を検出ことができ、開口放出に伴う SNARE 構造変化を検出した一例といえる。

なお、ternary SNARE 形成率から cis-SNARE 形成率を差し引くと、trans-SNARE 形成率が求められる。開口放出の準備状態に関与する指標と考えられる。分泌刺激を与えても ternary SNARE 複合化率はほぼ一定値を示したことから、trans-SNARE から cis-SNARE への構造変換が捉えられたと解釈した。査読後の再投稿を予定している。

また、水溶性蛍光色素液で還流したマウス膵島において、グルコース刺激を与えながら t-SNARE と v-SNARE 間の複合体の形成を経時測定し。開口放出部位(直径約 0.5 μm 領域)においては、インスリン開口放出に数秒先行して FRET シグナルの増強する例が、高頻度に検出された(未発表データ)。また、30 分近く連続刺激を与えると、膵島膜全体では 10 % 程度のシグナル増強を認めることができ、生化学的な検討結果と矛盾しなかった。膵島では安静時に SNARE 複合体が形成されいないため、分泌直前の変化を検出するのに適した標本とも考えられる。

### (4)シナプス前終末における SNARE 複合体の超分子構造

SNAP25 は二つの αヘリックスがリンカーを介してつながっている。第一の αヘリックスの直前を mTq、第二の αヘリックスの直前を Venus で蛍光標識した SNAP25 プローブを作成し、神経に共発現させると、強い FRET シグナルが検出された。第一の αヘリックスの直前を mTq あるいは Venus で蛍光標識したプローブを同時に発現させても、FRET は検出されないことから、蛍光分子同士の凝集は否定された。これらの実験事実から、神経終末においては、SNAP25 の αヘリ



ックスは、他の SNAP25 分子の  $\alpha$  ヘリックスと複合化し、SNARE 複合体が SNAP25 のリンカー部分を介して架橋され、oligomerize されるモデルが示唆された (domain swapping model)。domain swapping の阻害が想定されるような、SNAP25 リンカー領域の変異体プローブを多種作製し、ウィルスベクター化し、SNAP25 欠損マウスの神経細胞を変異体でレスキューし、神経細胞の放出の速度を定量することにより、当構造が開口放出の速さに与える影響について検討を進めている。なお、膝島では domain swapping は認められなかったことから、この構造はミリ秒の時間経過で誘発される開口放出を支える分子基盤と推定している (Sawada W. et al. Domain-swapped oligomerization of SNAP25 for ultrafast exocytosis at presynaptic terminals. 2014.3 日本生理学会発表)。なお、この検討にあたっては、カルシウムチャネルに対する SNAP25 変異体の効果を除外する目的で、チャネルを介さずに、シナプス前終末に大きなカルシウム上昇を瞬時 (<1ms) に与える必要がある。後述 (6) の新規ケイジド試薬の利用と光照射による開口放出誘発なくしては、推進できない性質のものであった。

#### (5) Munc18b のインスリン分泌様式や分泌量に及ぼす役割の解明

我々の研究グループでは、膝島では各インスリン顆粒が細胞膜に融合する形で開口放出を起こし、顆粒同士が細胞内部で融合する「複合型開口放出」は抑制されていることを、2004 年に 2 光子励起顕微鏡で明らかにし、報告していた。

このたびカナダのトロント大学 Gaisano 教授との共同研究で、SNARE 結合分子である Munc18 のサブタイプ: Munc18b は Syntaxin 2,3 と結合し、さらにインスリン小胞膜の VAMP8 と結合し、小胞間の融合をつかさどることがわかった。共同研究者の大野光代氏は dominant positive 型の K314L/R315L 変異体をウィルスベクターを介して膝島に過剰発現させ、2 光子励起法で分泌の様式と量を検討した。その結果、細胞膜に融合した顆粒の膜に、深部の顆粒が融合する分泌様式: 「逐次型開口放出」の頻度が増えることを、Munc18b による新しい分泌増強効果を見出し、論文報告した (Lam P\*, Ohno M\* et al. \*equally contribution, *Diabetes* 62(7): 2416-2428, 2013)。当変異体は、グルコース依存的なインスリン分泌を増やす表現型を示すため、このように顆粒間の融合を増やし、逐次開口放出の頻度を増強する分子・薬剤は糖尿病の治療に有効活用できる可能性がある。

#### (6) 光を用いた開口放出刺激法の探索

広島大学 安倍博士のグループとの共同研究で、新規に開発されたケイジド試薬を供与いただき、細胞への導入・応用を進めた。当試薬は、2 光子吸収の高い特性をもつ。我々は主に大脳皮質神経細胞に応用し、光活性化後、細胞内のカルシウム濃度上昇を起こし、シナプス後電流 (IPSC) の検出により開口放出を計測した。各種 SNAP25 変異体の機能評価にあたり、SNAP25 がカルシウムチャネルに及ぼす作用に依存せず、検証することが初めて可能となった。シナプス前部には比較的大きなカルシウム上昇を必要とするので、当試薬の開発は我々の研究にも必須で大変に重要なツールと考える。

## 様式21

また、東京医科歯科大学の中田教授のグループにて STIM1 と LOV2 を融合させた新規カルシウムスイッチが開発され、遺伝子をいただき、INS-1 細胞発現用に発現ベクターを組み換え作製した。青色光の照射により、細胞内カルシウム濃度上昇を誘発することに成功した。我々の継代する INS-1 では電位依存性カルシウムチャネルの寄与が大きいためか、分泌の誘発には至らなかったものの、SOCs など、電位依存性カルシウムチャネル以外の分子の関与が大きい細胞種においては、強度なカルシウム上昇が起こり、分泌の誘発される可能性が示唆された。

6. 研究発表等

<p>雑誌論文 計13件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計7件</p> <p>(1) Cai T, Hirai H, Zhang G, Zhang M, <u>Takahashi N</u>, Kasai H, Satin LS, Leapman RD, Notkins AL. Deletion of Ia-2 and/or Ia-2 <math>\beta</math> in mice decreases insulin secretion by reducing the number of dense core vesicles. <i>Diabetologia</i> 2011, 54(9), 2347-57, ISSN 0012-186X</p> <p>(2) <u>Takahashi N</u>. Two-photon imaging of insulin exocytosis in the pancreatic islets. <i>Diabetology International</i> 2011, 2, 112-121.</p> <p>(3) Kimura Y., Momotake A., Takahashi N., Kasai H., Arai T. Polarity-dependent photophysical properties of hemicyanine dyes and their application in 2-photon microscopy biological imaging. <i>Chemistry Letters</i> 2012, 41(5) 528-30.</p> <p>(4) Kasai H, Takahashi N, Tokumaru H. Distinct initial SNARE configurations underlying the diversity of exocytosis. <i>Physiol Rev</i> 2012, 92, 1915-64, ISSN 1522-1210.</p> <p>(5) Shojima N., Hara K., Fujita H., Horikoshi M. Takahashi N., Takamoto I., Ohsugi M., Aburatani, H., Noda M., Kubota, N., Yamauchi T., Ueki K., Kadowaki, T. Depletion of homeodomain-interacting protein kinase 3 impairs insulin secretion and glucose tolerance in mice. <i>Diabetologia</i> 2012, 55 (12), 3318-30.</p> <p>(6) Lam PP, Ohno M, Dolai S, He Y, Qin T, Liang T, Zhu D, Kang Y, Liu Y, Kauppi M, Xie L, Wan WC, Bin NR, Sugita S, Olkkonen VM, Takahashi N, Kasai H, Gaisano HY. Munc18b is a major mediator of insulin exocytosis in rat pancreatic <math>\beta</math>-cells. <i>Diabetes</i> 2013, 62(7): 2416-2428, ISSN: 0012-1797</p> <p>(7) Hayama T, Noguchi J, Watanabe S, Takahashi N, Hayashi-Takagi A, Ellis-Davies GC, Matsuzaki M, Kasai H. GABA promotes the competitive selection of dendritic spines by controlling local <math>Ca^{2+}</math> signaling. <i>Nat. Neurosci.</i> 2013, 16 (10): 1409-1416, ISSN: 1097-6256</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計6件</p> <p>(8) <u>高橋倫子</u>、河西春郎 2011年 膵内分泌における分子と機能の可視化 「最新医学 分子イメージングの最先端」66 巻 10号 p 2336-2341.最新医学社</p> <p>(9) <u>高橋倫子</u> 2011年 インスリン分泌過程の可視化解析 「Islet Equality」9 巻 p15-18 メディカルレビュー社</p> <p>(10) <u>高橋倫子</u> 2011年 膵島におけるインスリン開口放出機構の可視化解析 「糖尿病」 54 巻 11 号 p835-836</p>
----------------------	---

	<p>(11) 高橋倫子、河西春郎 2012 年          膵島におけるインスリン開口放出の分子機構          「Diabetes Journal」 Vol40 No1 p1-6</p> <p>(12) 高橋倫子、大野光代、河西春郎 2012 年          膵島におけるインスリン開口分泌機構の可視化          「最新臨床糖尿病学(上)」70 巻増刊号(通巻 1020 号)p99-103</p> <p>(13) 高橋倫子、河西春郎 2013 年          2 光子励起法によるインスリン開口放出の可視化          「The Lipid」24 巻 2 号 p4-9</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表</p> <p>計17件</p>	<p>専門家向け 計 15 件</p> <p>(1) 第 14 回東京インスリン分泌研究会  <u>高橋倫子</u>          インスリン分泌を起こす蛋白の構造変化、          東京 山の上ホテル、2011 年 2 月 23 日、東京インスリン分泌研究会実行委員会、世話          人の一員として出席・発表</p> <p>(2) 第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会  <u>高橋倫子</u>          膵島におけるインスリン開口分泌機構の可視化解析          札幌 ニトリホール、2011 年 5 月 19 日-21 日、日本糖尿病学会</p> <p>(3) 第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会シンポジウム  <u>Noriko Takahashi</u>, Mitsuyo Ohno, Haruo Kasai          SNARE conformation and insulin exocytosis.          札幌 ロイトンホテル、2011 年 5 月 19 日-21 日、日本糖尿病学会</p> <p>(4) 第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会          大野光代、<u>高橋倫子</u>、河西春郎          SNARE 蛋白の膜拡散によるインスリン分泌調節の 2 光子顕微鏡による解析          札幌 札幌プリンスホテル、2011 年 5 月 19 日-21 日、日本糖尿病学会</p> <p>(5) 第 89 回日本生理学会大会  <u>Noriko Takahashi</u>, Satoshi Watanabe, Mitsuyo Ohno, Wakako Sawada, Haruo Kasai          FRET imaging of SNARE assembly for exocytosis in neurons and beta cells.          松本 松本文化会館、2012 年 3 月 29-31 日、日本生理学会</p> <p>(6) 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会  <u>高橋倫子</u>、大野光代、澤田和可子、渡辺恵、河西春郎、          「膵島と神経における膜融合関連蛋白の複合化」、          横浜 パシフィコ横浜、2012 年 5 月 17 日、日本糖尿病学会</p> <p>(7) The 4th brainstorming Medical Conference  <u>高橋倫子</u>          「分泌の準備過程における膜融合関連蛋白の構造」、          東京 泉ガーデン、2012 年 5 月 27 日</p>

	<p>Brainstorming Medical Conference 実行委員会</p> <p>(8) 第12回 Islet Biology 研究会 高橋倫子 「膵島と神経における開口放出関連蛋白質の複合化」、東京、2012年7月27日、 第12回 Islet Biology 研究会世話人会</p> <p>(9) 北米神経科学会 Takahashi N., Ohno M., Watanabe S., Sawada W, Kasai H. 「Two-photon FRET/FLIM imaging of SNARE-dependent exocytosis」、米国 New Orleans、2012年10月15日、北米神経科学会</p> <p>(10) 第90回日本生理学会大会 Takahashi N., Watanabe S., Sawada W, Ohno M., Kasai H. 「Two-photon FRET/FLIM imaging of SNARE-dependent exocytosis」、東京 船堀タワー、2013年3月27日、日本生理学会</p> <p>(11) The 8th Betacell Workshop 2013 Kyoto NorikoTakahashi, Distinct SNARE complex formation between beta-cell and presynaptic terminal. Kyoto, 2013.4.23-26, "the 8th Beta Cell Workshop 2013 Kyoto" organizing committee,</p> <p>(12) Diabetes Leading-edge Conference 高橋倫子, SNARE assembly in pancreatic endocrine cells and presynaptic terminals. Otsu, 2013.8.3-4, "Diabetes Leading-edge Conference" organizing committee,</p> <p>(13) 第91回日本生理学会大会 Takahashi N, Sawada W, Watanabe S, Ohno M, Kasai H, Two-photon FRET/FLIM imaging of SNARE-dependent exocytosis. 鹿児島, 2014.3.14-16, 日本生理学会</p> <p>(14) 第91回日本生理学会大会 Sawada W, Takahashi N, Watanabe S, Ohno M, Kasai H, Domain-swapped oligomerization of SNAP25 for ultrafast exocytosis at presynaptic terminals. 鹿児島, 2014.3.14-16, 日本生理学会</p> <p>(15) 第91回日本生理学会大会 Watanabe S, Takahashi N, Noguchi J, Kasai H, Direct mechanical regulation of presynaptic functions by enlargement of dendritic spines in CA1 pyramidal neurons. 鹿児島, 2014.3.14-16, 日本生理学会</p> <p>一般向け 計2件</p> <p>(16) 東京大学医学部4年生の協力を得て最先端次世代プログラム研究代表4名(東京大学 吉川雅英氏、山内敏正氏、慶應大学 竹田秀氏)で自ら企画。 高橋倫子、「代謝と脳のはたらきを新しい光でみる」東京 東京大学医学部鉄門記念講堂、2012年5月20日、若手による駅伝講演会</p> <p>(17) 高橋倫子, 先端的光技術によるインスリン開口放出機構の可視化と制御(ポスター発表), 東京, 2014.2.28-3.1, FIRST シンポジウム「科学技術が拓く2030年」へのシナリオ実行委員会</p>
<p>図書 計3件</p>	<p>(1) 高橋倫子、門脇孝 「臨床検査ガイド 2011-2012」、尿ケトン p987-988、 Medical Practice 編集委員会、2011年、総ページ数 1107</p>

	<p>(2) 高橋倫子、畠山裕康、大野光代、河西春郎 「糖尿病学 2011」 SNARE の構造変化とインスリン分泌 p26-32、 診断と治療社、2011 年、総ページ数 146</p> <p>(3) 高橋倫子、河西春郎 「高効率二光子吸収材料の開発と応用」 2光子励起によるインスリン分泌現象の可視化 p54-60、シーエムシー出版、2011 年、総ページ数 200</p>
産業財産権 出願・取得 状況	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
計0件	
Webページ (URL)	<p>東京大学大学院医学系研究科 疾患生命工学センター 構造生理学部門 高橋研究グループ <a href="http://www.bm2.m.u-tokyo.ac.jp/takahashi/">http://www.bm2.m.u-tokyo.ac.jp/takahashi/</a></p>
国民との科 学・技術対 話の実施状 況	<p>・「代謝と脳のはたらきを新しい光でみる」 2012 年 5 月 20 日、 東京大学医学部鉄門記念講堂、小・中学生・高校生・大学生・社会人、74 名、 最先端・次世代研究開発支援プログラムの研究代表 4 名で、東京大学五月祭にて一般向け講演 会を企画・発表。</p> <p>・「未来からの招待状」 2012 年 8 月 24 日-30 日、 東京大学医学部附属病院外来ロビー、来院者・勤務者など、約 200 人、 Q&amp;A 様式を取り入れた研究内容一般紹介。</p> <p>・「未来からの招待状」 2013 年 1 月 16-17 日、 文京シビックセンター B2 区民ひろば、文京区民ほか、約 100 人、 Q&amp;A 様式を取り入れた研究内容一般紹介。</p> <p>・「先端的な光技術によるインスリン開口放出機構の可視化と制御」 2014 年 2 月 28 日 東京都新宿区(ベルサール新宿グランド)、研究者・報道関係者、約 300 人、 FIRST シンポジウム「科学技術が拓く 2030 年」へのシナリオにて研究内容ポスター発表。</p> <p>・「インスリンが分泌されるしくみをタンパク質のレベルで解明」 2014 年 3 月 13 日-8 月 10 日、 東京都文京区(健康と医学の博物館)、一般の方(大学生・高校生・医療機関関係者・通院者を含 む) 約 10,923 人(見込み)、 企画展「糖尿病の真実」にて研究内容パネル・動画展示。</p> <p>・2011 年に研究室ホームページを作成し、公開を開始し、研究内容や発表文献の発信を行った。 連絡先を記載し、メールによる対話が可能な環境を作った。</p>

## 様式21

新聞・一般 雑誌等掲載 計〇件	該当なし
その他	該当なし

### 7. その他特記事項

#### 受賞

日本糖尿病学会賞リリー賞 2011年5月19日 札幌

僻島におけるインスリン開口分泌機構の可視化解析

日本医師会医学研究奨励賞 2011年11月1日 東京

僻β細胞の分泌準備分子機構の可視化解析:神経終末との対比

脳科学事典（査読制度付きオンライン百科事典）「FM1-43」解説担当、掲載開始（2013年8月12日）

<http://bsd.neuroinf.jp/wiki/FM1-43>