

論文の内容の要旨

論文題名 インスリン受容体基質-2欠損
マウスにおける脂肪肝と糖尿病の発症機序の解析

氏 名 戸 辺 一 之

インスリンは肝臓・骨格筋・脂肪組織などのインスリン標的臓器に、消化管で分解・吸収されたブドウ糖・アミノ酸・脂質などをグリコーゲン・蛋白質・中性脂肪などの形にして貯蔵することに関与するホルモンである。いずれの作用もインスリンがインスリン受容体に結合し内在するチロシンキナーゼを活性化し、インスリン受容体基質(Insulin Receptor Substrate:IRS)-1やIRS-2などの細胞質内に存在する基質がチロシンリン酸化を受けることがその作用発現の第一歩となる。IRS-1やIRS-2などのインスリン受容体の基質の役割は、これらの遺伝子の欠損マウスを作製することにより明らかにされてきた。IRS-1欠損マウスは、骨格筋でのインスリン抵抗性を有するが耐糖能障害を示さない。これは肝臓ではIRS-1の作用を代償するpp190/IRS-2の発現量が多く、骨格筋ではpp190/IRS-2の発現量が少ないためである。また膵β細胞が過形成を呈し高インスリン血症によりインスリン抵抗性を代償するため耐糖能障害を示さない。一方IRS-2欠損マウスは肝臓でのインスリン情報伝達障害に加えて膵β細胞が過形成不全を示すため、インスリン分泌が不足して糖尿病を発症する。

本論文では、IRS-2欠損マウスの肝臓におけるインスリン抵抗性の機序と糖尿病発症の機序を明らかにするために、肝臓よりRNAを抽出しDNAチップ (Affymetrix Mu11K) を用いて包括的・網羅的な遺伝子発現の解析を行った。DNAチップの結果は、IRS-2欠損マウスの肝臓で複数の遺伝子の発現が上昇していることを示していたが、私はその中でもステロール調節領域結合蛋白 (Sterol Regulatory Element-binding Protein:SREBP)-1の遺伝子の発現の上昇に特に注目した。それはSREBP-1遺伝子が、ブドウ糖および脂質代謝などエネルギー代謝の調節に関係している重要な転写因子であるからである。例えばトランスジェニックマウスの実験ではSREBP-1が脂肪酸合成を司る酵素群の遺伝子発現を亢

進することで脂肪肝の発症に関与していることが示されている。一方、SREBP-1遺伝子の発現に関してはインスリンがこの遺伝子の発現を誘導することがこれまでに報告されていた。この視点に立って考えると、私のDNAチップの結果は、インスリンでその発現が誘導されるはずの脂肪肝の形成に関与する遺伝子であるSREBP-1の発現が、インスリンシグナルが低下しているIRS-2欠損マウスの肝臓で上昇しているという意外な結果であったのである。

SREBP-1遺伝子には第1エクソンのみが異なるSREBP-1a遺伝子とSREBP-1c遺伝子の2つのアイソフォームが存在し、このうち肝臓で主に発現しているのはSREBP-1c遺伝子である。SREBP-1c遺伝子はインスリンやブドウ糖によりその遺伝子発現が上昇し、絶食で低下、摂食時や再摂食時にはその発現が上昇する。RNaseプロテクションアッセイ法により、IRS-2欠損マウスの肝臓で上昇しているアイソフォームはSREBP-1cであることが確認された。またIRS-2欠損マウスの肝臓での中性脂肪含量は野生型に比べ有意に上昇しており、IRS-2欠損マウスにおける脂肪肝の存在が証明された。このことはSREBP-1c遺伝子とその下流の遺伝子がIRS-2欠損マウスの肝臓で上昇しているとの結果と合致するものである。実際DNAチップの結果を検討すると、SREBP-1遺伝子の下流に位置するATPクエン酸リアーゼ遺伝子、spot 14遺伝子、脂肪酸合成酵素遺伝子の発現も上昇していた。これらのDNAチップの結果はすべてノーザンブロットングで確認された。

次に私はIRS-2欠損マウスの肝臓でSREBP-1c遺伝子発現が上昇する機序について検討した。これまでにSREBP-1c遺伝子はインスリンやブドウ糖によりその遺伝子発現が誘導されると報告されてきた。このうちインスリン作用については、IRS-2欠損マウスの肝臓ではインスリン情報伝達障害があるため、SREBP-1c遺伝子発現の上昇にはインスリン作用が主に関与しているわけではないことは明らかである。もう一つ、SREBP-1c遺伝子発現を上昇させる因子としてブドウ糖がある。実際に16週齢のIRS-2欠損マウスは糖尿病により高血糖を呈している。そこで高血糖がSREBP-1c遺伝子発現を上昇を司る要因である可能性を検討するため、耐糖能が正常の6週齢のIRS-2欠損マウスの肝臓におけるSREBP-1c遺伝子発現を調べた。結果は、正常血糖の6週齢のIRS-2欠損マウスの肝臓でもSREBP-1c遺伝子の発現が上昇しており、高血糖がSREBP-1c遺伝子の発現上昇をもたらす主要な因子とは考えられないことが判明した。このようにSREBP-1c遺伝子の発現調節におけるインスリン、ブドウ糖の作用の関与は否定された。では一体何がIRS-2欠損マウスの肝臓でSREBP-1c遺伝子の発現を誘導したのであろうか。

IRS-2欠損マウスには、もう一つ重要な特徴がある。それは体脂肪量の増加と高レプチン血症を示すこと、即ちレプチン抵抗性の存在が示唆される点である。レプチンとは脂肪細胞から分泌されるホルモンであり、視床下部の弓状核にあるレプチン受容体に作用して食欲の抑制やエネルギー消費の亢進をもたらすことでエネルギーの過剰状態を改善し体重の低下させる。実際、野生型マウスに10mg/kg体重の量のレプチンを投与すると食餌摂取量や体重増加が十分に抑制された。しかしながらこの量のレプチンをIRS-2欠損マウスに投与しても食餌摂取量も体重増加も抑制できないことが判明し、IRS-2欠損マウスがレプチン抵抗性を示すことが証明された。次に、IRS-2欠損マウスに食餌摂取

量や体重増加を抑制しうるより多くの量のレプチンを投与を行った。すると、肝臓で上昇していたSREBP-1の発現が低下することが判明した。即ち、IRS-2欠損マウスでは視床下部においてレプチン抵抗性があり、このことが肝臓でのSREBP-1遺伝子の発現を誘導した原因であることが強く示唆された。

IRS-2欠損マウスは肥満に伴い糖尿病を発症することから、ヒトのインスリン抵抗性2型糖尿病モデルとして妥当なものと考えられる。このような観点から今回の結果を考察すると、過食・高脂肪食・運動不足のエネルギー過剰に起因する肥満・インスリン抵抗性2型糖尿病に高率に合併する脂肪肝の発症は、視床下部でのレプチン抵抗性が肝臓でのSREBP-1遺伝子の発現を誘導したことが原因となっていることが推察される。

近年、高脂肪食・運動不足の生活習慣により肥満及び糖尿病の有病者数は急激に増加しており、これらの根本にはインスリン抵抗性があると考えられている。このようなエネルギー過剰の生活習慣病の病態を考える上で、脂肪肝が合併するヒトの肥満及び2型糖尿病の発症・進展においては、従来の肝臓・骨格筋・脂肪細胞などのインスリンの標的臓器でのインスリン抵抗性のみならず、視床下部におけるレプチン抵抗性の関与も考えて総合的に病態を把握すべきであることを私は本研究においてを示した。