

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 鈴木 尚子

---

生物は、外界の環境や生体内の状態に応答して生命を維持するために、200種類以上の多種多様な細胞の機能を、多くの細胞外因子の細胞内シグナルのクロストークによって制御している。本論文は、代表的な同化ホルモンであるインスリン様成長因子I (IGF-I) およびインスリンに着目し、「トロピックホルモンとIGF-I」、「成長ホルモン (GH) とインスリン」という2種類のホルモンクロストークをモデルとして、その相互作用機構について研究を行ったもので、緒論、第一部、第二部、総合討論からなる。

まず、緒論では、本研究の背景および意義を概説し、本研究の目的と本論文の構成について、述べている。

第一部では、トロピックホルモンによるIGF依存性増殖の増強機構についての研究成果を示している。IGF-Iは、種々の細胞の増殖・分化誘導に必須なホルモンであり、単独ではその活性は弱く、他の因子の存在下で増強されることが特徴である。申請者が属する研究グループでは、ラット甲状腺由来正常細胞FRTL-5を用いて、細胞増殖における甲状腺刺激ホルモン (TSH) とIGF-Iの相乗作用の解析を行ってきた。その過程で、FRTL-5細胞をTSHで長時間前処理すると、cAMP経路が活性化され、続くIGF-I刺激に細胞が反応するようになり、その結果、IGF-I依存性細胞増殖が増強することを発見している。この相乗機構を解明する目的で、TSH処理あるいはIGF-I処理後にホスホチロシンホスファターゼ (PTPase) 活性を測定したところ、細胞膜画分には、TSH長時間処理によって活性化されるPTPaseが存在し、細胞質画分では、TSH長時間処理によって活性化されるPTPaseが、続くIGF-I短時間処理によって、阻害されることが明らかとなった。他の結果も併せると、cAMPシグナルとIGF-Iシグナルの合流により活性制御されるPTPaseが存在し、このようなPTPaseは、cAMP経路の長時間刺激によるIGF-I依存性増殖の増強になんらかの役割を果たしていることがわかった。

第二部では、成長ホルモンによるインスリン依存性糖取り込みの抑制機構についての研究成果を示している。近年、他のホルモンやサイトカイン、栄養因子などにより、標的細胞がインスリンに反応しにくくなる、すなわち「インスリン抵抗性」が引き起こされることが報告されており、このインスリン抵抗性が、II型糖尿病発症の主要因になると言われている。特に、GHは、IGF-Iの産生を介した成長促進活性と同時に、抗インスリン作用に代表される代謝制御作用を有しており、この抗インスリン作用は、臨床上問題となっている。そこで、分化した3T3-L1脂肪細胞を、種々の時間GHで前処理した後、インスリンで短時間処理、糖取り込みを測定した。その結果、3T3-L1脂肪細胞を、GHで12時間以上前処理することにより、インスリン依存性糖取り込みが有意に抑制されることを見出した。一般に、脂肪細胞・筋管細胞などインスリン標的細胞では、インスリン刺激に反応して活性化されるインスリンレセプター (IR) TKにより、insulin receptor substrates (IRS)がチロシンリン酸化され、このIRSのリン酸化チロシン残基を認識して、SH2ドメインを介してPI3-kinase (PI3K)のp85制御サブユニットが結合、PI3K経路が活性化される。この

IRS-PI3K 経路の活性化が、糖輸送体である glucose transporter 4 (GLUT4) を細胞質から細胞膜表面上へ移行させ、その結果、細胞内への糖取り込みが促進されと考えられている。GH の 24 時間前処理は、インスリン依存性 IR TK 活性化に影響を与えなかったが、GH 単独処理で IRS1/IRS2 のチロシンリン酸化が誘導され、これらのチロシンリン酸化は、続くインスリン刺激により相加的に増加した。続いて、GH 長時間処理が、PI3K 経路に及ぼす影響について検討した。その結果、インスリン刺激に応答して IRS1/IRS2 に結合する p85PI3K の結合量は、IRS1/IRS2 のチロシンリン酸化量を反映し、GH により増加することがわかった。更に、PI3K 活性を測定したところ、IRS1 に結合する PI3K 活性は、IRS1 のチロシンリン酸化および IRS1 に結合する p85 PI3K 量を良く反映し、GH 前処理により上昇した。これに対して、インスリン依存的に IRS2 に結合する PI3K 活性は、GH 前処理により抑制されることを発見した。最後に、インスリン依存性糖取り込みを担う GLUT4 の動態について解析を進め、GH 長時間前処理した細胞においても、インスリンに反応して GLUT4 が細胞膜表面へ移行することを確認した。一連の結果は、GH 長時間処理は、インスリン刺激に反応して細胞膜に移行した GLUT4 の糖取り込み機能を抑制する可能性を示している。

総合討論では、IGF あるいはインスリンの細胞内シグナルおよび生理活性が、他のホルモンによって修飾される生理的意義について考察している。

以上、本論文は、IGF あるいはインスリンという同化ホルモンのシグナル伝達系に、他のホルモンがどのようにクロストークするかを検討したもので、学術上・応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位として価値あるものと認めた。