

論文の内容の要旨

論文題目 新規小胞体ストレス調節因子 Sdf2l1 によるインスリン感受性調節作用の検討

指導教員 門脇 孝 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 17 年 4 月 入学

医学博士課程

内科学専攻

笹子 敬洋

肝臓は糖代謝に於いて中心的な役割を果たす臓器であり、また全身のインスリン感受性への影響や糖尿病の病態形成の観点からも、重要である。肝臓は絶食時と再摂食時で果たす役割を大きく切り換えるが、この摂食状態に応じた代謝調節機構の破綻が、肥満・糖尿病の病態形成に大きな役割を果たしていることが明らかとなってきた。

この代謝調節に於いて鍵を握る分子及び生命現象を明らかとするため、私はまず野生型マウスに、24 時間の絶食後、6 時間再摂食させ、絶食時と再摂食時の遺伝子発現を、マイクロアレイで網羅的に解析した。その結果、再摂食時に発現が上昇する遺伝子の中に、小胞体ストレス関連遺伝子を複数認めた。小胞体ストレスは、蛋白の翻訳が過剰になるか、正常に折りたたまれない蛋白が増加することによって生じ、肥満や糖尿病でインスリン感受性が低下する 1 つの機序として、最近注目を浴びている。また上昇幅が 2 番目に大きい Sdf2l1 (stromal cell-derived factor 2 like 1) も、摂食と小胞体ストレスを結びつける鍵分子の候補として、併せてこれに注目した。

この結果を基に、野生型マウスに絶食と再摂食をかけ、絶食時と再摂食 6 時間での肝臓で、mRNA 発現を RT-PCR にて検討した。その結果、マイクロアレイ解析で発現が上昇していた小胞体ストレス関連遺伝子の発現が、実際に上昇ないし上昇の傾向を示しており、その他の代表的な小胞体ストレス関連遺伝子についても同様であった。そこで肝臓での小胞体ストレスマーカーの遺伝子発現の経時的変化を、より詳細に解析した。その結果、代表的な小胞体ストレスマーカーはいずれも、再摂食 1-4 時間で大幅に上昇しており、Sdf2l1 も同様の経過を示すことが分かった。このことから肝臓に於ける小胞体ストレスは、摂食の度に生理的な反応として惹起されている可能性が示唆された。

Sdf2l1 の機能を解析するため、Sdf2l1 を発現するアデノウイルスを作製した。これを野生型マウスに尾静脈注射し、肝臓にて Sdf2l1 の過剰発現モデルを作製した。まずこのマウスの肝臓で、摂食状態に応じた小胞体ストレ

スマーカーの変化を解析した。その結果、Sdf2l1 過剰発現マウスでは、再摂食時に有意にはマーカー遺伝子の発現が低下していた。このことから Sdf2l1 を肝臓で過剰発現させることで、摂食時の小胞体ストレスが軽減される可能性が示された。

小胞体ストレス改善が糖代謝に好影響を及ぼす可能性を考え、耐糖能とインスリン感受性の評価を行なった。その結果 Sdf2l1 過剰発現マウスで、経口グルコース負荷試験とインスリン負荷試験はいずれも改善を示した。このことから、肝臓で Sdf2l1 を過剰発現させることで、インスリン感受性の亢進と耐糖能の改善を来たことが示された。

このマウスの肝臓でのインスリンシグナルを評価した。その結果、インスリン受容体のレベルでは明らかな差を認めなかったものの、インスリン受容体基質のレベルではインスリンシグナルが賦活化されている結果であり、更に下流の Akt のリン酸化も同様であった。更に、再摂食時の JNK のリン酸化も抑制されており、小胞体ストレスの改善が、JNK 経路の抑制を介して、インスリン受容体基質のセリンリン酸化を抑制し、インスリンシグナルを賦活化させているものと考えられた。

続いて、Sdf2l1 が実際の病態に於いてどのような役割を果たしているかを明らかにするため、糖尿病モデルマウスである *db/db* マウスで、Sdf2l1 の発現を検討した。まず週齢に伴う変化を見ると、Sdf2l1 は 6 週齢の時点で既に対照マウスよりも発現が低下しており、14 週齢では更に低下幅拡大することが分かった。10 週齢のマウスで絶食・再摂食時の発現変化を解析したが、随時摂食、絶食、再摂食のいずれの時点でも発現は低下したままであり、いずれも既知の小胞体ストレスマーカー遺伝子の変化とは異なるままであった。このことから Sdf2l1 の低下が、病態形成を考える上で重要な役割を果たしていることが考えられた。

そこで病態モデルに、発現が低下している Sdf2l1 をアデノウイルスで補充する実験を行なった。Sdf2l1 発現を回復させて *db/db* マウスでは、耐糖能が有意に改善しており、インスリン抵抗性も改善傾向にあった。

このマウスで肝臓でのインスリンシグナルを評価したところ、やはりインスリン受容体のレベルでは明らかな差がないものの、下流の Akt のリン酸化は改善傾向を示した。更に肝臓での脂肪代謝の指標として、肝臓での中性脂肪含量を解析したところ、Sdf2l1 補充マウスで中性脂肪含量の低下傾向を認めた。このことから病態モデルで Sdf2l1 の発現を回復させることで、インスリンシグナルが賦活化され、脂肪肝についても改善している可能性が示唆された。

以上の結果をまとめると、まず、インスリン抵抗性を来す病態モデルの慢性状態で生じるものと思われていた肝臓での小胞体ストレスが、再摂食時に生理的な反応として惹起されていることが、今回明らかとなった。小胞体ストレスを介した IRS-1 のリン酸化状態の変化という新しい概念は、摂食時の生理的なインスリンシグナルの調節機序を明らかにする上で、非常に重要である可能性が考えられる。すなわち摂食時の肝臓では、遺伝子レベルで調節を受ける IRS-2 と異なり、IRS-1 はリン酸化状態の変化という別な機序によって、いずれもインスリンシグナルが過剰とならないように合目的に抑制がかかっている可能性が示唆された。

中でも私が解析した Sdf2l1 は、摂食と小胞体ストレス、及びインスリン感受性の関係を考える中で、摂食時の小胞体ストレスが過剰とならないように調節を担い、インスリン感受性に関しても調節を行なっていることが明らかとなった。

また、Sdf2l1 の発現は糖尿病モデルマウスで低下しているだけでなく、それを補うことで耐糖能の改善をもたらすことが明らかとなった。これまで病態モデルにて、インスリン抵抗性に伴う高インスリン血症が肝臓での IRS-2 発現を低下させることに加え、IRS-1 のセリンリン酸化が、一部は過剰な小胞体ストレスに因って亢進することが、更なるインスリン感受性低下を来すことが想定されてきた。今回の私の検討では、何らかの原因で Sdf2l1 の発現が低下することが、過剰な小胞体ストレスの原因となっている可能性が考えられる。すなわち、Sdf2l1 が糖尿病の病態形成の中で鍵を握っていると共に、有効な治療対象となる可能性が示唆された。