

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 安藤 康年

世界中で罹患者が急増しているⅡ型糖尿病は、血中に十分量のインスリンがあるにも関わらずインスリンの作用が十分に発現されない「インスリン抵抗性」を主因とするメタボリックシンドロームである。一般にインスリンは、標的細胞の細胞膜上に存在するインスリン受容体に結合すると、受容体に内蔵されているチロシンキナーゼを活性化し、インスリン受容体基質 (IRS) をはじめとした細胞内基質をリン酸化する。チロシンリン酸化された基質を認識して PI 3-kinase (PI3K) などのシグナル分子が相互作用し、これを起点として下流シグナル経路が活性化、広範な生理活性を発揮する。特に、脂肪組織や筋肉におけるインスリン依存性糖取り込みについては、PI3K 経路のセリン/スレオニンキナーゼ Akt が活性化されると、糖輸送担体 (GLUT) 4 を含む小胞が細胞膜に移行し、糖取り込みが誘導される。我々は、インスリンの生理活性の修飾機構を解析している過程で、IRS が複数のタンパク質 (IRSAP) と相互作用し、巨大なシグナル分子複合体を形成していることを見出した。そして、IRSAP が他の因子や生理状態の変化に応答してダイナミックに変動し、インスリンシグナル伝達や生理活性を変化させていることを明らかにしてきた。そこで本論文では、複数種存在する IRS のうち IRS-1 を bait とした酵母 two-hybrid screening によって同定された IRSAP、42-kDa cGMP-dependent protein kinase anchoring protein (GKAP42) に着目し、GKAP42 がインスリンのシグナル伝達や生理活性発現に果たす役割を検討すると共に、「インスリン抵抗性」発生への関与を明らかにすることを目的としている。

序章では、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。

第一章では、GKAP42 がインスリンシグナル伝達および糖取り込みに果たす役割について検討した。内在性 GKAP42 と IRS-1 との相互作用を確認後、3T3-L1 脂肪細胞の内在性 GKAP42 を発現抑制し、インスリンシグナル伝達およびインスリン依存的な糖取り込みに与える影響を解析した。一連の結果から、GKAP42 はインスリン依存的な IRS のチロシンリン酸化および下流の PI3K 経路のシグナルを維持することで糖取り込み能を発揮していると結論している。

第二章では、GKAP42 と IRS-1 との相互作用がインスリンシグナル伝達および GLUT4 の細胞膜移行に及ぼす影響を明らかにしている。IRS-1 が結合する GKAP42 の領域を過剰発現し、IRS-1 と GKAP42 の結合を阻害した細胞では、IRS-1 のインスリン依存的なチロシンリン酸化が増加し、インスリン依存的な GLUT4 の細胞膜への移行が阻害された。これら一連の結果は、GKAP42 が IRS-1 との相互作用により、IRS-1 のインスリン依存的なチロシンリン酸化および GLUT4 の細胞膜移行が維持されることを示唆していた。

第三章では、TNF- $\alpha$  によるインスリン抵抗性発生への GKAP42 の関与を検討している。解析の結果、3T3-L1 脂肪細胞においては、TNF- $\alpha$  は cGK-I $\alpha$  を活性化し、この活性の増加は GKAP42 の分解を促進する。これにより IRS-1 を介したインスリンシグナル伝達が抑制され、インスリン依

存的な糖取り込みが阻害されるという新しいインスリン抵抗性発生病機構が稼働していると結論した。また、GKAP42 の発現が、インスリンシグナルの維持活性とは独立して、GLUT4 の細胞膜移行を阻害することも明らかとした。

第四章では、サイトカインによるインスリン抵抗性発生病モデル動物における GKAP42 タンパク量の変動を検討している。高脂肪食給餌マウス及びリポ多糖（LPS）投与ラットの脂肪組織における GKAP42 のタンパク質レベルを解析した結果、これらのモデル動物の脂肪組織では、予想に反して GKAP42 のタンパク量が増加していた。これらの結果は、個体レベルではサイトカインによりインスリン抵抗性が誘導される過程で、GKAP42 のタンパク量を増加させ、インスリンシグナルを維持することによって物質代謝の恒常性を維持する仕組みが存在している可能性を示した。

これらの結果をもとに、終章では、本研究の成果がインスリン抵抗性発生病機構の解明に、どのように寄与しているかを総合的に討論している。

このように、本論文は、IRS に結合する GKAP42 が、インスリンシグナルの維持や GLUT4 の細胞膜移行の調節に重要な役割を果たしていることをはじめて明らかにしたもので、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）の学位論文として価値あるものと認めた。