

氏名(本籍)	い で とも ひろ 井 出 智 広 (茨 城 県)		
学位の種類	博 士 (医 学)		
学位記番号	博 乙 第 2136 号		
学位授与年月日	平成 17 年 6 月 30 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Sterol regulatory element-binding proteins suppress insulin receptor substrate-2-mediated insulin signalling in the liver. (Sterol regulatory element-binding proteins は肝臓のインスリン受容体基質-2 を介したインスリンシグナルを抑制する)		
主査	筑波大学教授	医学博士	高 橋 智
副査	筑波大学教授	医学博士	二 宮 治 彦
副査	筑波大学教授	医学博士	宮 内 卓
副査	筑波大学助教授	博士(医学)	本 橋 ほづみ

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

2 型糖尿病とメタボリックシンドロームにおいて肝臓のインスリン抵抗性は重要な病態生理学的性質である。2 型糖尿病モデルである *ob/ob* マウスや Zucker fatty ラットの肝臓では肝インスリン作用に主要な役割を果たすインスリン受容体基質-2 (IRS-2) の低下, そして Sterol regulatory element-binding protein (SREBP) の増加に伴う肝脂質合成の亢進が認められている。このことから, 肝インスリン抵抗性病態への関与が考えられる SREBP と IRS-2 との関連を検討した。

(対象と方法)

24 時間絶食した後, 12 時間高シクロース食を負荷して絶食-再摂食を施した C57BL6 マウス, レプチン欠損 *ob/ob* マウス, *SREBP-1* 欠損マウス, *ob/ob SREBP-1* ダブル-欠損マウス, PEPCK プロモーターの下流に転写活性化型 SREBP-1c と SREBP-1a の遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを用いた。それぞれの肝臓の IRS-2 mRNA と蛋白量をノーザンブロットとウエスタンブロット法で解析した。IRS-2 プロモーター領域を用いて SREBP-1 と Forkhead protein の影響をゲルシフトアッセイ, レポーターアッセイおよびクロマチン免疫沈降法にて解析した。ラット初代肝細胞でインスリンシグナルに対するアデノウイルスによる SREBP-1c と SREBP-1a 過剰発現の影響は IRS-2 チロシンリン酸化, Akt リン酸化 (Ser 473), グリコーゲン合成活性を指標として評価した。

(結果)

絶食時で肝臓の SREBP-1 mRNA 量はノーザンブロット法での検出限界以下のレベルであったが, 再摂食で顕著に増加した。逆に, IRS-2 mRNA は絶食時で顕著に高いレベルであったが, 再摂食で顕著に低下した。*SREBP-1c* と *SREBP-1a* トランスジェニックマウスの肝臓では野生型に比べて IRS-2 mRNA の低下,

SREBP-1 欠損マウスでは増加が認められた。ラット初代肝細胞で *SREBP-1c* と *-1a* の高発現は脂肪酸合成酵素 (FAS) mRNA とインスリン添加および無添加時の脂肪酸合成活性を亢進させた。*SREBP-1c* と *SREBP-1a* は *IRS-2* の mRNA とタンパク量を低下させ、インスリン添加時の *IRS-2* チロシンリン酸化, Akt リン酸化, グリコーゲン合成活性を顕著に抑制した。ヒト肝由来培養細胞である Hep G2 とラット初代肝細胞において Forkhead protein である FKHR と FKHL1 は *IRS-2* プロモーター活性を増加させたが、*SREBP-1c* と *SREBP-1a* は低下させ、両者が *IRS-2* プロモーター活性に拮抗的に作用することが示された。さらに *IRS-2* プロモーターにおける新規の *SREBP* 結合部位 (SRE) と Forkhead protein の結合部位 (IRE) を同定したところ、その SRE と IRE は部分的に重複していた。*SREBP-1c* は FKHL1 と *IRS-2*-IRE との結合を蛋白濃度依存的に抑制した。さらに、クロマチン免疫沈降法により再摂食マウスの肝臓で *IRS-2* プロモーターと *SREBP-1* との結合、絶食マウスの肝臓で *IRS-2* プロモーターと FKHR との結合を明らかにした。*ob/ob SREBP-1* ダブル欠損マウスでは *ob/ob* マウスに比べて *IRS-2* 発現が増加していた。すなわち、*SREBP-1* の欠損はインスリン抵抗性による *IRS-2* 発現低下を回復することが示された。

(考察)

本研究で脂質合成系の転写活性化因子として知られている *SREBP*s が肝インスリンシグナルの主要メディエーターである *IRS-2* の発現にも関与することが明らかとなった。*SREBP-1* は再摂食で顕著に増加して脂肪酸合成活性を亢進、さらに *IRS-2* 発現の低下を導くことでインスリンによるグリコーゲン合成活性の亢進を抑制したことからグルコース利用におけるスイッチングに関与することが示された。インスリン抵抗性モデルの肝臓の核には非常に高いレベルで *SREBP-1c* が存在することから *IRS-2* 発現低下の原因の一つであること、肝臓での *IRS-2* 低下により PI3-キナーゼ /Akt 経路を介するインスリンシグナル障害が惹起される可能性が考えられた。*IRS-2* 発現低下の分子メカニズムは *SREBP*s が *IRS-2*-SRE に直接結合することでそのトランス・アクチベーターとして推定される Forkhead proteins と *IRS-2*-IRE との結合を競合的に阻害することであった。

審 査 の 結 果 の 要 旨

肝臓のインスリン抵抗性は、2型糖尿病とメタボリックシンドロームにおいて、最も重要な病態生理学的性質の一つであり、その分子機構は今まで明らかにされていなかった。著者らは、肝臓におけるインスリンシグナル伝達の鍵分子である *IRS-2* に注目し、その発現が、脂質代謝の制御転写因子である *SREBP-1* により負に制御されていることを明らかにした。本研究は、肝臓のインスリン抵抗性の分子メカニズムの一部を明らかにしたものであり、世界的な業績であるといえる。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。