

「糖鎖の生物機能の解明と利用技術」

平成 15 年度採択研究代表者

井ノ口 仁一

東北薬科大学分子生体膜研究所 機能病態分子学教室・教授

マイクロドメイン機能異常にもとづく 2 型糖尿病の病態解明

1. 研究実施の概要

2 型糖尿病におけるインスリン抵抗性の病態にはマイクロドメインの異常, 即ち, インスリン受容体 (IR) のカベオラマイクロドメインへの局在化の消失が関与している可能性を検証した。本 CREST の焦点化課題は GM3 のカベオラマイクロドメインへの過剰集積によるマイクロドメインからの IR の解離機構の解明であったが, GM3 と IR が直接相互作用する証拠を得, その機構として IR の β サブユニットの細胞膜直上のリジン残基と GM3 のシアル酸残基の静電的相互作用の重要性を確認することができた (PNAS 2007)。本研究成果は, 広く新聞, ニュース等に「新たな糖尿病メカニズムの解明」「新しい 2 型糖尿病の治療法に道」などとして報道された。

また, 生活習慣病の新たな病態マーカーの開発を試みた。肥満糖尿病患者で有意な血清 GM3 レベルの上昇が確認され, GM3 はメタボリックシンドロームの新たなバイオマーカーとしての可能性を見いだした。これらの研究によって, 内臓肥満にもとづくインスリン抵抗性の新たな発症機序を提唱している。

2. 研究実施内容

2 型糖尿病におけるインスリン抵抗性の病態にはマイクロドメインの異常, 即ち, インスリン受容体 (IR) のカベオラマイクロドメインへの局在化の消失が関与している可能性を検証した。本 CREST の焦点化課題は GM3 のカベオラマイクロドメインへの過剰集積によるマイクロドメインからの IR の解離機構の解明であったが, GM3 再構成細胞を用いた蛍光標識 IR および caveolin-1 の生細胞イメージング (FRAP 法), 免疫沈降法および放射標識 GM3 のアシル鎖をアジリジン修飾した光感受性 GM3 を用いた架橋実験の結果, GM3 と IR が直接相互作用する証拠を得, その機構として IR の β サブユニットの細胞膜直上のリジン残基と GM3 のシアル酸残基の静電的相互作用の重要性を確認することができた (PNAS 2007)。本研究成果は, 広く新聞, ニュース等に「新たな糖尿病メカニズムの解明」「新しい 2 型糖尿病の治療法に道」などとして報道された (図1)。

GM3の増加は静電的相互作用によってカベオラマイクロドメインからインスリン受容体を解離させ、インスリンの代謝性シグナルを抑制する。 Kabayama et al. PNAS 2007

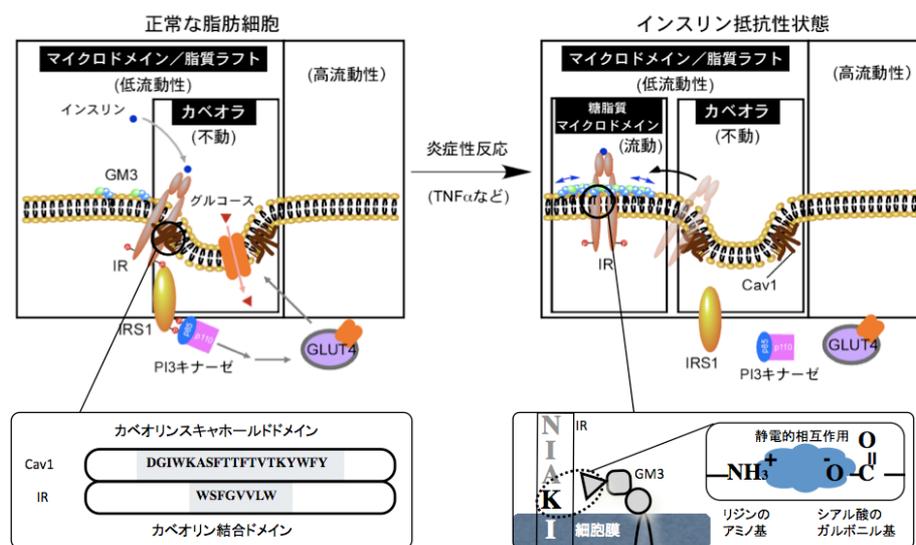
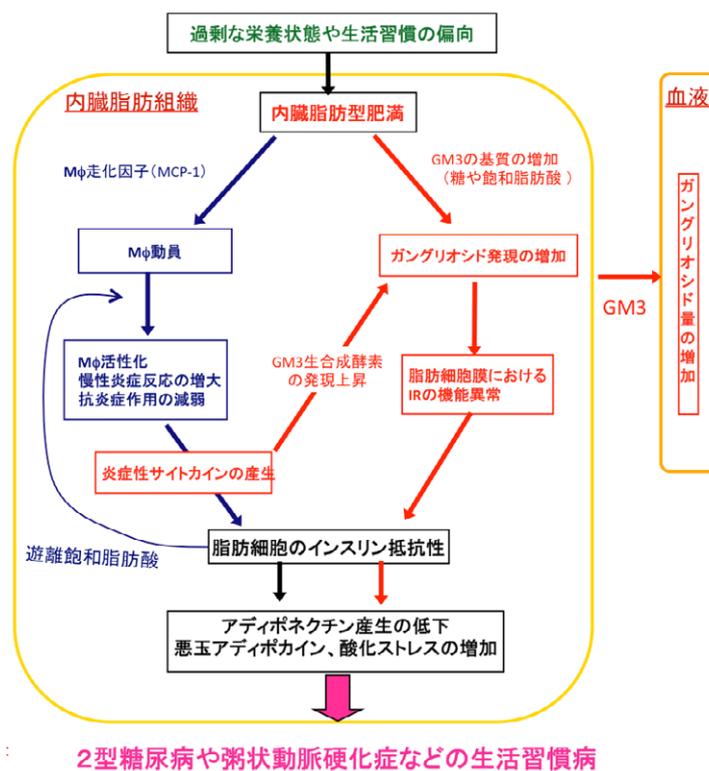


図 1

本研究成果をさらに発展させ、GM3 発現増加によるインスリン抵抗性発症機序を以下に述べる様々な角度から追求している。近年、脂肪組織は生体最大の内分泌器官であることが明らかになり、生活習慣病の成因に深く関わっていることが明らかとなった。特に内臓脂肪の蓄積と肥大化にともなって善玉サイトカインであるアディポネクチンの分泌低下および悪玉サイトカイン TNF の分泌亢進によって、肝臓、筋肉などの全身性のインスリン抵抗性が誘発されることが、2 型糖尿病をはじめとするメタボリックシンドロームの発症原因であることが明らかになっている。そこで、我々が確立したラット腸管膜内臓脂肪細胞初代培養系(論文投稿中)を用いて、インスリン抵抗性状態におけるガングリオシド GM3 とマイクロドメインの機能異常と肥大化脂肪組織におけるアディポネクチン分泌低下との関係を追う。我々は、脂肪組織中には、常在性マクロファージが存在しており、このマクロファージの活性化は前駆脂肪細胞の分化成熟を抑制することを見いだした(論文投稿中)。そこで、脂肪組織マクロファージの病態生理的意義をマクロファージからの炎症性サイトカイン分泌と GM3 発現亢進の観点から検証中である。

ヒト血清を用いた検討により、肥満糖尿病患者で有意な血清 GM3 レベルの上昇が確認され、GM3 はメタボリックシンドロームの新たなバイオマーカーとしての可能性を見いだした。この発見は、JST 平成 18 年度産学共同シーズイノベーション化事業(顕在化ステージ)に「インスリン抵抗性の新たな診断技術の開発」のテーマで採択され(共同研究企業:旭化成, 生化学工業), 複数の病院施設からメタボリックシンドローム患者血清を収集し、GM3 レベルと内臓脂肪面積には正の相関性が認められることなどが判明した(論文投稿中)。これらの研究によって、内臓肥満にもとづくインスリン抵抗性の新たな発症機序を提唱している(図2)。



青字および青矢印：従来のインスリン抵抗性発症機構
 赤字および赤矢印：申請者らが発見し、検証中の新たなインスリン抵抗性発症機構

図 2

3. 研究実施体制

(1)「マイクロドメイン分子病態研究」グループ

① 研究者名:井ノ口 仁一(東北薬科大学)

② 研究項目

- ・ ヒト2型糖尿病の患者の血清中のガングリオシドGM3量の増加は、2型糖尿病をはじめとする複雑なメタボリック症候群の病態を新たな角度から検出することが出来る新規なリスクファクターである可能性を見いだしたことから、臨床との連携を深め、とくに既知のリスクファクターである血中脂質(コレステロール,TG,LDL,VLDL)およびインスリン抵抗性との関連性を追求し、臨床診断の意義を明らかにする(理研 鈴木實博士,旭化成,生化学工業との共同研究)。

- ・ 動物レベルでは、高脂肪食負荷マウスにおけるGM3増加が原因として考えられる病態をSAT-I KOマウスおよびSAT-I トランスジェニックマウスとの比較によって追求する。

- ・ 細胞レベルでは、生理的条件による内臓脂肪分化誘導系を世界で初めて確立出来たことから、この生理的条件に脂肪酸負荷した際のSAT-I上昇に伴う、機能変化を明らかにする。

・ SAT-I 合成酵素のトランスクリプショナルバリエーションのER局在化機構および細胞内プロセスの違いを見出していることから、あらたな細胞内ガングリオシド合成制御機構を解明し、病態との関連についても追求する。

(2)「メタボローム・プロテオーム研究」グループ

① 研究者名: 鈴木 實 (理化学研究所)

② 研究項目

・ マイクロドメインのメタボローム/プロテオーム解析

(3)「構造生物学研究」グループ

① 研究者名: 稲垣 冬彦 (北海道大学)

② 研究項目

・ GM3 合成酵素 (SAT-I) の構造生物学

(4)「ノックアウトマウス解析」グループ

① 研究者名: 藤原 道弘 (福岡大学)

② 研究項目

・ インスリン抵抗性状態における脳の解析

(5)「聴覚機能解析」グループ

① 研究者名: 小宗 静男 (九州大学)

② 研究項目

・ 内耳の電気生理学的研究

4. 研究成果の発表等

(1) 論文発表 (原著論文)

- Kabayama K, Sato T, Saito K, Loberto N, Prinetti A, Sonnino S, Kinjo M, Igarashi Y, Inokuchi JI. (2007) Dissociation of the insulin receptor and caveolin-1 complex by ganglioside GM3 in the state of insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci*. **104**, 13678-13683.
- Noguchi M, Suzuki T, Kabayama K, Takahashi H, Chiba H, Shiratori M, Abe S, Watanabe A, Satoh M, Hasegawa T, Tagami S, Ishii A, Saito M, Kaneko M, Iseki K, Igarashi Y, Inokuchi J. (2007) GM3 synthase gene is a novel biomarker for histological classification and drug sensitivity against epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer. *Cancer Science* **98**, 1625-1632.
- Jin-ichi Inokuchi (2007) Insulin resistance as a membrane microdomain disorder. *YAKUGAKU ZASSHI* **127**(4), 579-586.

(2) 特許出願

平成 19 年度 国内特許出願件数:1件(CREST 研究期間累積件数:4件)