

トランスジェニックマウスを用いたインスリン抵抗性  
発症の臓器特異性の解析

研究課題番号 10671062

平成10年度～平成12年度科学研究費補助金  
基盤研究 (C)(2) 研究成果報告書

平成13年3月

研究代表者 前 川 聡  
(滋賀医科大学医学部 助手)

## 研究組織

研究代表者： 前川 聡（滋賀医科大学医学部助手）  
研究分担者： なし

滋賀医科大学附属図書館



2000018481

## 研究経費

平成10年度	1,600	千円
平成11年度	800	千円
平成12年度	900	千円

計 3,300 千円

## 研究発表

### (1) 学会誌等

Obata T, Maegawa H, Kashiwagi A, Pillay TS and Kikkawa R. High-glucose-induced abnormal Epidermal growth factor signaling. **J. Biochem. Tokyo** 123: 813-820, 1998.

Fujita T, Maegawa H, Kashiwagi A, Hirai H and Kikkawa R. Opposite regulation of tyrosine-phosphorylation of p130cas by insulin and insulin-like growth factor I. **J. Biochem. Tokyo** 123: 1111-1116, 1998.

Maegawa H, Obata T, Shibata T, Fujita T, Ugi S, Morino K, Nishio Y, Kojima H, Hidaka H, Haneda M, Yasuda H, Kikkawa R and Kashiwagi A. A new antidiabetic agent (JTT-501) acutely stimulates glucose disposal rates by enhancing insulin signal transduction in skeletal muscle. **Diabetologia** 42: 151-159, 1999.

Maegawa H, Shi K, Hidaka H, Iwai N, Nishio Y, Egawa K, Kojima H, Haneda M, Yasuda H, Nakamura Y, Kinoshita M, Kikkawa R and Kashiwagi A. The 3'-untranslated region polymorphism of the gene for skeletal muscle-specific glycogen-targeting subunit of protein phosphatase 1 in Japanese Type 2 diabetes mellitus. **Diabetes** 48: 1469-1472, 1999.

Maegawa H, Hasegawa M, Sugai S, Ugi S, Obata T, Morino K, Egawa K, Fujita T, Sakamoto T, Nishio Y, Kojima H, Haneda M, Yasuda H, Kikkawa R and Kashiwagi A. Expression of a dominant negative SHP-2 in transgenic mice induces insulin resistance. **J. Biol. Chem.** 274: 30236-43, 1999

Egawa K, Nagashima N, Shurma PM, Maegawa H, Nagai Y, Kashiwagi A, Kikkawa R, and Olefsky JM. Persistent activation of phosphatidylinositol 3-kinase cause insulin resistance due to accelerated insulin-induced IRS-1 degradation in 3T3-L1 adipocytes. **Endocrinology** 141: 1930-1935, 2000

Obata T, Yaffe M.B, Leparc G G, Piro E T, Maegawa H, Kashiwagi A, Kikkawa R, and Cantley L C. Use of peptide and protein library screening to define optimal substrate motifs for AKT/PKB **J. Biol. Chem.** 275, 36108-36115, 2000

Shinozaki K, Nishio Y, Okamura T, Yoshida Y, Maegawa H, Kojima H, Masada M, Toda N, Kikkawa R, and Kashiwagi A. Oral administration of tetrahydrobiopterin prevents endothelial dysfunction and vascular oxidative stress in the aortas of insulin-resistant rats. **Circulation Research**, 87: 566-573, 2000

Egawa K, Maegawa H, Shimizu S, Morino K, Nishio Y, Bryer-Ash, M, Cheung AT, Kolls JK, Kikkawa R and Kashiwagi A. Protein Tyrosine Phosphatase-1B Negatively Regulates Insulin Signaling in L6 Myocytes and Fao Hepatoma Cells. **J. Biol. Chem.** (in press)

Morino K, Maegawa H, Fujita T, Takahara N, Egawa K, Kashiwagi A. and Kikkawa R. Insulin-induced JNK activation is negatively regulated by protein kinase C delta **Endocrinology** (in press)

前川 聡 インスリン作用とチロシンホスファターゼ SHP-2を中心に 専門医のための糖尿病学レビュー-98-99 総合医学社 p57-63, 1998

前川 聡 江川克哉 インスリン作用におけるチロシンホスファターゼの役割 分子糖尿病の進歩 -基礎から臨床まで- 金原出版 p11-16, 2000

## (2) 口頭発表

Maegawa H, Hasegawa M, Kashiwagi A, Kikkawa R. Insulin resistance in transgenic mice expressing mutant SHP-2. The 2nd insulin action symposium 1998

Maegawa H, Kashiwagi A, Hasegawa M, Obata T, Ugi S, and Kikkawa R. Expression of a Dominant negative SHP-2 in transgenic mice induces insulin resistance. 59th Annual meeting of American Diabetes Association, 1999

Fujita T, Maegawa H, Egawa K, Morino K, Kashiwagi A, and Kikkawa R. Insulin-induced JNK activation is Negatively regulated by Protein Kinase C. 59th annual meeting of American Diabetes Association, 1999

Egawa K, Nakashima N, Sharma PM Maegawa H, Olefsky JM. Expression of membrane targeted PI-3 kinase enhances insulin-induced IRS-1 degradation in 3T3-L1 adipocytes. 59th annual meeting of American Diabetes Association, 1999

Egawa K, Maegawa H, Morino K, Obata T, Shimizu S, Kashiwagi A, Kikkawa R. Phosphoinositide dependent protein kinase-1(PDK-1) plays an different role on insulin signaling among FAO cells, 3T3L1 adipocytes and L6 myocytes. 60th annual meeting of American Diabetes Association, 2000.

Egawa K, Maegawa H, Shimizu S, Morino K, Kashiwagi A, and Kikkawa R. Protein tyrosine phosphatase-1B regulates insulin signaling differently among 3T3-L1 adipocytes, Fao cells, and L6 myocytes. The 3rd insulin action symposium 2000

前川 聡 柏木厚典 吉川隆一 SHP2発現トランスジェニックマウスにおけるインスリン抵抗性の分子機構 第41回日本糖尿病学会総会 平成10年 (1998)

# インスリン作用におけるチロシンホスファターゼの役割

## はじめに

インスリン抵抗性は、Syndrome Xと呼ばれる糖尿病、高血圧、高脂血症、冠動脈疾患等、動脈硬化性病変を伴う生活習慣病を形成する疾病の根幹をなす病態と考えられる。インスリン感受性改善の試みは、糖尿病の発症予防は言うに及ばず、動脈硬化性疾患の発症進展予防の面からも重要である。しかしインスリン抵抗性の発症の分子機構の詳細は未だ解明されておらずインスリンのシグナル伝達機構の解明とともに重要な研究課題である。

近年、ピマインディアンのインスリン抵抗性を呈する症例で、インスリンの主要な標的組織である骨格筋において、インスリン受容体キナーゼの逆反応を触媒する酵素であるチロシンホスファターゼ(Protein-tyrosine phosphatase, PTPase)の活性異常が報告された。興味深いことにこのPTPaseの活性異常はインスリン受容体キナーゼの障害に先だって出現するようであり、そのためインスリン抵抗性の発症に大きく関与することが想定されている<sup>1)</sup>。

また、インスリン非依存型糖尿病患者においても骨格筋PTPase活性の障害が報告されていることから<sup>2)</sup>、肥満症や高血糖に伴う2次的な糖代謝異常もPTPase異常を惹起する可能性が示唆され<sup>3,4)</sup>、インスリン抵抗性及び高血糖状態におけるPTPase活性異常の病態を明らかにすることは、臨床上重要な課題であると考えられる。

## インスリンシグナルを調節するPTPase

インスリン受容体をはじめとするチロシンキナーゼファミリーのチロシンリン酸化状態は、受容体チロシンキナーゼ活性とチロシン残基の脱リン酸化を行うPTPaseの2つの酵素活性のバランスにより調節されている。すなわちチロシンキナーゼのシグナルの強度は、リガンド刺激前のリン酸化状態が刺激後どの程度増加するかによって規定される。PTPaseに注目すれば、一般的にPTPase活性の低下は刺激前の受容体チロシンリン酸化の増加を来し、リガンド刺激後のリン酸化の増加反応を減弱させる。一方、PTPase活性の亢進は基礎状態のチロシンリン酸化の低下をきたすだけでなく刺激後の受容体チロシンリン酸化の増加も減弱する。このようにPTPaseの活性異常はいずれの場合においてもチロシンキナーゼ系のシグナル強度の低下をもたらすと考えられる。

チロシンホスファターゼは大きな遺伝子ファミリーを形成し、70数種類のアイソザイムが報告されているが、インスリンのシグナル伝達機構との関連を特に注目されているPTPaseは、受容体型のPTPaseとして、LAR (Leukocyte common antigen-related protein-tyrosine phosphatase)およびPTP $\alpha$  (LAR-related phosphatase, LRP)が、また細胞質型のPTPaseとしては、PTP1B (protein-tyrosine phosphatase 1B)およびN端に2つのSrc homology 2領域を有するSHP-2などが想定されている<sup>5,6)</sup>。

## インスリンの標的臓器におけるPTPaseの発現

インスリンの標的臓器におけるPTPaseのmRNAや蛋白の発現に関しては<sup>7-10)</sup>、細胞質型としてPTP1B、SHP-2の発現が骨格筋、脂肪組織、肝臓において確認されている。一方、受容体型のPTPaseとしてLARは骨格筋に多いという報告から逆に少ないとの報告もあり一定しない。同様にPTP $\alpha$ に関しても、遺伝子発現は認めるが蛋白としては検出しないとの報告やLARに比して多いとの報告が一定した成績は得られていない。一方、脂肪組織においてはPTP $\alpha$ がもっとも発現の多いPTPaseであると報告されている。このように、PTPaseのアイソザイムの発現パターンには臓器特異性が認められている。

## PTPaseによるインスリンシグナル伝達の調節機構 培養細胞での検討

PTP1Bの中和抗体を浸透圧を利用してラットhepatoma細胞に導入すると、インスリン受容体やIRS-1のチロシンリン酸化が増加し、PI3キナーゼの活性やDNA合成が増加する<sup>11)</sup>や、ラットhepatoma細胞にLARのアンチセンスを導入し、LARの発現を低下させると同様にインスリンシグナルが増強すること<sup>12)</sup>、さらにPTP1BをL6筋細胞に過剰発現させると、インスリン受容体のチロシンリン酸化やその作用が低下することが報告されている<sup>13)</sup>。しかし、PTPaseの基質特異性は一般的にチロシンキナーゼに比し低いため、種々のPTPaseを細胞への過剰発現させるとインスリンシグナルは減弱するものの、インスリン以外のシグナル伝達も同様に障害され、これらの所見が必ずしもインスリンに特異的なPTPaseであるという証明にはならなかった。しかし、PTP1BやLARが直接インスリン受容体と結合することが見いだされ<sup>14-16)</sup>、現在、PTP1BやLARがインスリンシグナルに特異的なPTPase

であると考えられている。さらに、PTP1B作用には組織特異性が存在することが報告されている<sup>17-18)</sup>。PTP1BやLARなど多くのPTPaseは、チロシンリン酸化を減弱することでチロシンキナーゼのシグナルをオフに導く、つまりチロシンキナーゼ系シグナルのnegative regulatorであると考えられる。

一方 SHP-2はN端に2つのSrc homology 2 (SH2) 領域を有する細胞質型のPTPaseであり、このSH2領域は特異的なリン酸化チロシンモチーフを認識して結合することができ、チロシンキナーゼファミリーのシグナル伝達において重要な役割を担っていると報告されている。SHP-2の特異的抗体やdominant negative mutantの細胞への導入などにより内因性のSHP-2の機能を障害するとチロシンキナーゼ系のシグナル、特にMitogen-activated protein (MAP) キナーゼ経路が減弱することから、SHP-2はチロシンキナーゼ系のシグナルを正に調節するpositive regulatorであると考えられている<sup>19)</sup>。

## インスリン抵抗性状態におけるPTPase活性の変化 モデル動物での検討<sup>20, 21)</sup>

動物を用いた現在までの検討より肥満をはじめとするインスリン抵抗性や糖尿病状態では、これらのチロシンキナーゼの活性異常が認められる。Zucker Fatty ratを用いたインスリン抵抗性状態や糖尿病病態において、各PTPaseの発現量や活性が変化することが報告されている。高インスリン血症状態では、LAR、PTP1Bなどの抑制性のPTPaseの蛋白発現量およびPTPase活性の亢進が認められ、また促進性のPTPaseであるSHP-2も高インスリン血症状態では同様に発現量が増加することが報告されている。ストレプトゾシンやアロキササン糖尿病においてもPTPase活性が検討されている。しかし、その成績は報告によりまちまちであり、それらのPTPase活性の測定に関してもリン酸化基質としてなにを用いるか、また細胞分画の方法の相違で測定成績が異なること可能性もあり、その解釈に注意を要する。

## 肥満および糖尿病患者における検討

肥満患者の生検脂肪組織を用いてLAR、PTP1BやSHP-2の発現量およびその活性が検討されているが、ラットの成績と同様にインスリン抵抗性状態ではそれら発現量は増加していた<sup>22)</sup>。さらに減量により亢進していたPTPaseの発現は正常化しインスリン感受性も改

善したと報告されている<sup>23)</sup>。一方、生検骨格筋での検討では、PTPaseの上昇はインスリン抵抗性を示す肥満状態でのみ認められ、糖尿病患者では逆にこれらのPTPaseの発現が低下していた<sup>24)</sup>。これは以前、糖尿病患者の骨格筋での報告と一致する<sup>2)</sup>。最近糖尿病患者の生検組織の検討より、必ずしもPTPaseの発現量とその活性が相関しないことが報告され<sup>25)</sup>、今後の検討が必要であると考えられる。

### インスリンシグナルに関わるPTPaseの発現調節機構

Hepatoma細胞を用いた検討では、インスリンによりPTP1Bの遺伝子発現が増加すること<sup>24)</sup>、同様にL6筋細胞においてもインスリンやinsulin-like growth factor 1により、PTP1Bの発現が増加すること<sup>26)</sup>、またホルボールエステルにてその遺伝子発現が増加することが報告されており<sup>27)</sup>、プロテインキナーゼCの関与が示唆される。我々は高ブドウ糖培養にて、PTP1B、LARおよびPTP $\alpha$ の遺伝子発現が増加することを認めている<sup>28)</sup>。さらにPTP1Bに関しては、その細胞内局在が変化し、インスリン受容体やIRS-1のチロシンリン酸化を減少し、インスリン抵抗性を誘導することを報告している<sup>3)</sup>。培養肝細胞を用いた検討ではTNF $\alpha$ の孵置にてIRS-1やEGF受容体のリン酸化状態が減少する際に、LARは減少するものの、SHP-2は逆に増加すること、また細胞密度が高まるとLARやPTP1Bは減少するものの、SHP-2は逆に増加することが報告され、各PTPaseの発現調節機構が同一でなく、異なった調節を受けていることが示唆されている。

### PTPaseのインスリン作用および糖代謝における役割

より生理的な細胞におけるPTPaseの糖代謝への影響を検討するため、ラット単離脂肪細胞にエレクトロポレーション法を用いて、各種のPTPaseを過剰発現させ、インスリン作用の糖代謝の上で最も重要な糖輸送担体GLUT4のトランスローケイションに対する影響を検討されている。PTP1Bのwild-typeの導入では、GLUT4のトランスローケイションは障害され、PTPase活性欠損mutantでは効果が認められなかったことから、PTP1Bの発現の上昇が糖輸送の障害をもたらすことが証明され、最近、PTP $\alpha$ でも同様にGLUT4のトランス

ローケイションが障害されることが認められている<sup>29, 30)</sup>。

前述のようにSHP-2はインスリンのMAPキナーゼ系へのシグナルを増強する役割を果たしているとの考えが主流であるため、糖代謝への関与は少ないと考えられていた。例えば、3T3L1培養脂肪細胞を用いた検討では、SHP-2はMAPキナーゼ系を介して糖輸送担体 GLUT1の発現に関わるが、GLUT4の発現やトランスローケイションには影響しないと報告されている。しかし、単離脂肪細胞にエレクトロポレーション法により、dominant negative mutant SHP-2を過剰発現させたところ、僅かではあるが有意なGLUT4のトランスローケイションの障害が認められた。しかしこの低下の程度が前述のPTP1Bの導入場合に比し僅かであったことより、脂肪細胞の糖輸送担体(GLUT4)のトランスローケイションに対しては、SHP-2は生理的には大きな影響を持たないのではと考えられている<sup>29)</sup>。

### 発生工学的手法によるPTPaseの機能解析

前述のように、肥満などのインスリン抵抗性状態では、PTP1BなどのPTPaseの発現は上昇しているが、糖尿病状態では逆にその発現が低下していること、またPTP1B自身がインスリンによってその発現が調節されていることから、インスリン抵抗性状態でのPTP1Bの発現の上昇は、高インスリン血症による二次的なもので、インスリン抵抗性発症の1次的な原因ではないのではとの考えがある。しかし最近、PTP1Bのノックアウトマウスでインスリン感受性が増強し、また高脂肪食に対して肥満抵抗性となることが報告されたことから、この酵素がインスリン抵抗性の発症に重要であることが証明され、この酵素がインスリン抵抗性改善の1つのターゲットとなることが示唆されている<sup>31,32)</sup>。このマウスでは高脂肪食負荷にても高中性脂肪血症をきたしにくく、インスリン感受性と高中性脂肪血症発症の関連が興味深い。一方、LAR欠損マウスの検討では、空腹時血糖値、インスリン値の低下、および肝糖新生の低下などのインスリン感受性の亢進を示唆する所見が認められる。しかし、グルコースクランプ法を用いた検討では、PI3キナーゼの活性障害が認められ、インスリン受容体以降に新たに異常が生じていると想定されている<sup>33)</sup>。

SHP-2に関して、2つの研究室よりノックアウトマウスの報告があり、ともにこの遺伝



子のノックアウトは致死的であることが示されている。糖代謝に対する影響に関しては、SHP-2ヘテロ欠損マウスでは明かな耐糖能異常やインスリン抵抗性は認められなかったことからSHP-2蛋白量の50%の低下では、糖代謝調節に有意な変化を来さないと考えられている<sup>34)</sup>。

我々は、dominant negative mutant を過剰発現するトランスジェニックマウス(Tg)を作成し、内因性のSypの機能を障害することで、どのような変化がインスリン作用や糖代謝に起きるかを検討した。早朝食餌中止4時間後の血糖値はTgマウス群、対照群間に差異を認めなかったが、Tgマウスにおいて血清インスリン値が2～3倍高値を示し、Tg群においてインスリン抵抗性の存在が示唆された。腹腔内ブドウ糖負荷試験においてもTgマウスでは30分後より血糖値は対照群に比し有意に高く120分後においても対照群の1.5倍高値を示し耐糖能障害の存在を認めた。さらにソマトスタチンを用いた恒常血糖値法にても有意な恒常血糖値の高値を認め、骨格筋におけるインスリン抵抗性の存在が明らかとなった。このマウス骨格筋におけるインスリン抵抗性の分子機構については、IRS-1のリン酸化レベルの調節の異常によると想定している<sup>35)</sup>。

### **PTPaseをターゲットとした新しい薬剤の開発**

以前、PTPaseの阻害剤としてバナジン酸が報告されインスリン抵抗性改善効果も認められているが、インスリンシグナルに特異的なものでないため一般化していなかった。最近、インスリン抵抗性を惹起するPTPaseとしてPTP1Bが注目されていることから、PTP1B特定な薬剤の開発が行われており今後の発展が期待される<sup>36-38)</sup>。

### **終わりに**

このようにPTPaseの役割などが解明されつつあるが、インスリンシグナル、特に糖代謝調節における役割は今後さらに検討すべき課題であると考えられる。

### **参考文献**

1. McGuire MC et al.: Abnormal regulation of protein tyrosine phosphatase activities in skeletal muscle of insulin-resistant humans. *Diabetes* 40: 939-42, 1991
2. Kusari J et al. Skeletal muscle protein tyrosine phosphatase activity and tyrosine phosphatase 1B protein content are associated with insulin action and resistance. *J Clin Invest* 93: 1156-62,

1994

3. Maegawa H et al. Thiazolidine derivatives ameliorate high glucose-induced insulin resistance via the normalization of protein-tyrosine phosphatase activities. *J Biol Chem* 270: 7724-30, 1995
4. Kroder G et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$ - and hyperglycemia-induced insulin resistance. Evidence for different mechanisms and different effects on insulin signaling. *J Clin Invest* 97: 1471-7, 1996
5. Goldstein BJ et al. Regulation of the insulin signalling pathway by cellular protein- tyrosine phosphatases. *Mol Cell Biochem* 182: 91-9, 1998
6. Byon JC et al. Protein-tyrosine phosphatase-1B acts as a negative regulator of insulin signal transduction. *Mol Cell Biochem* 182: 101-8, 1998
7. Zhang WR et al. Identification of skeletal muscle protein-tyrosine phosphatases by amplification of conserved cDNA sequences. *Biochem Biophys Res Commun* 178: 1291-7, 1991
8. Ahmad F et al. Purification, identification and subcellular distribution of three predominant protein-tyrosine phosphatase enzymes in skeletal muscle tissue. *Biochim Biophys Acta* 1248: 57-69, 1995
9. Ding W et al. Identification of protein-tyrosine phosphatases prevalent in adipocytes by molecular cloning. *Biochem Biophys Res Commun* 202: 902-7, 1994
10. Norris K et al. Expression of protein-tyrosine phosphatases in the major insulin target tissues. *Febs Lett* 415: 243-8, 1997
11. Ahmad F et al. Osmotic loading of neutralizing antibodies demonstrates a role for protein-tyrosine phosphatase 1B in negative regulation of the insulin action pathway. *J Biol Chem* 270: 20503-8, 1995
12. Kulas DT et al. Insulin receptor signaling is augmented by antisense inhibition of the protein tyrosine phosphatase LAR. *J Biol Chem* 270: 2435-8, 1995
13. Kenner KA et al. Protein-tyrosine phosphatase 1B is a negative regulator of insulin- and insulin-like growth factor-I-stimulated signaling. *J Biol Chem* 271: 19810-6, 1996
14. Bandyopadhyay D et al. Protein-tyrosine phosphatase 1B complexes with the insulin receptor in vivo and is tyrosine-phosphorylated in the presence of insulin. *J Biol Chem* 272: 1639-45, 1997
15. Seely BL et al. Protein tyrosine phosphatase 1B interacts with the activated insulin receptor. *Diabetes* 45: 1379-85, 1996
16. Ahmad F et al. Functional association between the insulin receptor and the transmembrane protein-tyrosine phosphatase LAR in intact cells. *J Biol Chem* 272: 448-57, 1997
17. Venable CL et al. Overexpression of protein-tyrosine phosphatase-1B in adipocytes inhibits insulin-stimulated phosphoinositide 3-kinase activity without altering glucose transport or Akt/protein kinase B activation. *J. Biol. Chem.* 275, 18318-18326, 2000.
18. Egawa K et al. Protein Tyrosine Phosphatase-1B Negatively Regulates Insulin Signaling in L6 Myocytes and Fao Hepatoma Cells. *J. Biol. Chem.* (in press)
19. Ugi S et al. Expression of dominant negative mutant SHPTP2 attenuates phosphatidylinositol 3'-kinase activity via modulation of phosphorylation of insulin receptor substrate-1. *J Biol Chem*, 271: 12595-12602, 1996.
20. Ahmad F et al. Increased abundance of specific skeletal muscle protein-tyrosine phosphatases in a genetic model of insulin-resistant obesity and diabetes mellitus. *Metabolism* 44: 1175-84, 1995
21. Ahmad F et al. Alterations in specific protein-tyrosine phosphatases accompany insulin resistance of streptozotocin diabetes. *Am J Physiol* E932-40, 1995
22. Ahmad F et al. Increased abundance of the receptor-type protein-tyrosine phosphatase LAR accounts for the elevated insulin receptor dephosphorylating activity in adipose tissue of obese

- human subjects. *J Clin Invest* 95: 2806-12, 1995
23. Ahmad F et al. Improved sensitivity to insulin in obese subjects following weight loss is accompanied by reduced protein-tyrosine phosphatases in adipose tissue. *Metabolism* 46: 1140-5, 1997
  24. Ahmad F et al. Alterations in skeletal muscle protein-tyrosine phosphatase activity and expression in insulin-resistant human obesity and diabetes. *J Clin Invest* 100: 449-58, 1997
  25. Cheung A et al. Marked impairment of protein tyrosine phosphatase 1B activity in adipose tissue of obese subjects with and without type 2 diabetes mellitus. *J Lab Clin Med* 134: 115-23, 1999
  26. Hashimoto N et al. Differential regulation of mRNAs encoding three protein-tyrosine phosphatases by insulin and activation of protein kinase C. *Biochem Biophys Res Commun* 188: 1305-11, 1992
  27. Kenner KA et al. Regulation of protein tyrosine phosphatases by insulin and insulin-like growth factor I. *J Biol Chem* 268: 25455-62, 1993
  28. Obata T et al. High glucose-induced abnormal epidermal growth factor signaling. *J Biochem (Tokyo)* 123: 813-20, 1998
  29. Chen H et al. Protein-tyrosine phosphatases PTP1B and syp are modulators of insulin-stimulated translocation of GLUT4 in transfected rat adipose cells. *J Biol Chem* 272: 8026-31, 1997
  30. Cong LN et al. Overexpression of protein tyrosine phosphatase-alpha (PTP-alpha) but not PTP-kappa inhibits translocation of GLUT4 in rat adipose cells. *Biochem Biophys Res Commun* 255: 200-7, 1999
  31. Elchebly M et al. Increased insulin sensitivity and obesity resistance in mice lacking the protein tyrosine phosphatase-1B gene *Science* 283: 1544-8, 1999
  32. Klamann LD et al. Increased energy expenditure, decreased adiposity, and tissue-specific insulin sensitivity in protein-tyrosine 1B-deficient mice. *Mol. Cell. Biol.* 20, 5479-5489, 2000
  33. Ren JM et al. Transgenic mice deficient in the LAR protein-tyrosine phosphatase exhibit profound defects in glucose homeostasis. *Diabetes* 47: 493-7, 1998
  34. Arrandale JM et al. Insulin signaling in mice expressing reduced levels of Syp. *J Biol Chem* 271: 21353-8, 1996
  35. Maegawa H et al. Expression of a dominant negative SHP-2 in transgenic mice induces insulin resistance. *J Biol Chem* 274: 30236-43, 1999
  36. Chen H et al. A phosphotyrosyl mimetic peptide reverses impairment of insulin-stimulated translocation of GLUT4 caused by overexpression of PTP1B in rat adipose cells. *Biochemistry* 38: 384-9, 1999
  37. Taing M et al. Potent and highly selective inhibitors of the protein tyrosine phosphatase 1B. *Biochemistry* 38: 3793-803, 1999
  38. Inversen LF et al. Structure-based design of a low molecular weight, nonphosphorus, nonpeptide, and highly selective inhibitor of protein-tyrosine phosphatase 1B. *J. Biol. Chem.* 275: 10300-10307, 2000