

チロシンホスファターゼによるインスリン抵抗性
の分子機構の解明

研究課題番号 14571088

平成14年度～平成15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16年6月

研究代表者 前川 聡
(滋賀医科大学医学部 講師)

研究組織

研究代表者：前 川 聡（滋賀医科大学医学部 講師）

研究分担者：江川 克哉（滋賀医科大学医学部 助手）

研究経費

平成 14 年度 2,400 千円

平成 15 年度 1,000 千円

計 3,400 千円

研究発表

(1) 学術誌等

Nagai, Y, Nishio, Y, Nakamura T, Maegawa H, Kikkawa R and Kashiwagi A. Amelioration of high fructose-induced metabolic derangements by activation of PPAR- α . **Am J Physiol Endocrinol Metab**, 282: E1180-1190, 2002.

Kojima H, Nakamura T, Yamada S, Kishi A, Fujimiya M, Nishio Y, Maegawa H, Haneda M, Yasuda H, Kojima I, Seno M, Wong N.C.W, Kikkawa R and Kashiwagi A. Combined expression of pdx-1 and ISL-1 induced differentiation of immature enterocytes to produce insulin. **Diabetes**, 51:1398-1408, 2002.

Sekine O, Nishio Y, Egawa K, Nakamura T, Maegawa H and Kashiwagi A. Insulin activates CCAAT/enhancer binding proteins and proinflammatory gene expression through the phosphatidylinositol 3-kinase pathway in vascular smooth muscle cells. **J Biol Chem**, 277: 36631-36639, 2002.

Egawa K , Maegawa H, Shi K, Obata T, Nakamura T, Yoshizaki T, Morino K, Shimizu S, Nishio Y, Suzuki E and Kashiwagi A. Membrane localization of 3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1 stimulates activities of Akt and atypical PKC, but does not stimulate glucose transport and glycogen synthesis in 3T3-L1 adipocytes. **J Biol**

滋賀医科大学附属図書館



2003009123

Chem, 277: 38863-38869, 2002.

Shimizu S, Maegawa H, Egawa K, Shi K, Bryer-Ash M and Kashiwagi A. Mechanism for differential effect of PTP1B on Akt versus MAP kinase in 3T3L1 adipocytes. **Endocrinology**, 143:4563-4569, 2002.

Kishi A, Nakamura T, Nishio Y, Maegawa H and Kashiwagi A. Sumoylation of Pdx1 Is associated with its nuclear localization and insulin gene activation. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, 284: E830-E840, 2003

Shimizu S, Ugi S, Maegawa H, Egawa K, Nishio Y, Yoshizaki T, Shi K, Nagai Y, Morino K, Nemoto K, Nakamura T, Bryer-Ash M, and Kashiwagi A. Protein-Tyrosine Phosphatase 1B as New Activator for Hepatic Lipogenesis via Sterol Regulatory Element-binding Protein-1 Gene Expression. **J Biol Chem**, 278: 43095-43101, 2003

前川 聡 分子糖尿病の進歩 –基礎から臨床まで– PTP1B とメタボリックシンドローム 金原出版 (印刷中)

前川 聡 医学のあゆみ 内分泌・代謝疾患 チロシンホスファターゼとインスリン作用 医歯薬出版 (印刷中)

(2) 口頭発表

Maegawa H, Egawa K, Shi K, Shimizu S, Morino K and Kashiwagi A. Overexpression of 3-Phosphoinositide-Dependent Protein Kinase-1 Stimulates Atypical-PKC Activity, but does not Affect Glucose Transport in 3T3-L1 Adipocytes. Keystone Symposia 2002

Egawa K, Maegawa H, Shi K, Shimizu S, Morino K and Kashiwagi A. Membrane Localization of 3-Phosphoinositide-Dependent Protein Kinase-1 Stimulates Activities of Akt and Atypical PKC, but Does Not Stimulate Glucose Transport and Glycogen Synthesis in 3T3-L1 Adipocytes. 62nd annual meeting of American Diabetes Association, 2002.

Shimizu S, Maegawa H, Egawa K, Shi K and Kashiwagi A. Mechanism for Differential Effect of PTP1B on Akt versus MAP kinase in 3T3L1 adipocytes. The 4th Insulin Action symposium 2002

Ugi S, Maegawa H, Olefsky JM and Kashiwagi A. Protein phosphatase 2A Negatively Regulates the Metabolic Pathway of Insulin in 3T3L1 adipocytes .The 4th Insulin Action symposium 2002

Maegawa H, Shimizu S, Ugi S, Yoshizaki T, Egawa K, Nishio Y, Ohta T, Iwasaka T, Bryer-Ash M, Kashiwagi A, Protein-Tyrosine Phosphatase 1B as New Activator for Hepatic lipogenesis via Sterol Regulatory Element-Binding Protein-1 Gene Expression 63rd Annual meeting of American Diabetes Association 2003.

Shi K, Maegawa H, Egawa K, Nakamura T, Ugi S, Shimizu S, Yoshizaki T, Kashiwagi A. Membrane Localization of Protein Tyrosine Phosphatase 1B Markedly Inhibits Insulin Signaling, but with Loss of Signal Specificity. 63rd Annual meeting of American Diabetes Association 2003.

Ugi S, Imamura T, Maegawa H, Egawa K, Kashiwagi A, Olefsky JM. PP2A negatively regulates both glucose uptake and glycogen synthesis by inhibiting Akt and PKC λ in 3T3-L1 adipocytes. 63rd Annual meeting of American Diabetes Association 2003.

Yoshizaki T, Maegawa H, Egawa K, Ugi S, Shimizu S, Shi K, Kobayashi T, Tamura S, Kashiwagi A. Protein Phosphatase 2C Alpha as Positive Regulator of Insulin Signaling through PI 3-Kinase in 3T3-L1 Adipocytes. 63rd Annual meeting of American Diabetes Association 2003.

Yoshizaki T, Maegawa H, Egawa K, Ugi S, Shi K, and Kashiwagi A. Protein Phosphatase 2C positively regulates the insulin signaling at the insulin resistant state in 3T3-L1 adipocytes. The 5th Insulin Action symposium 2003

Egawa K, Maegawa H, Shi K, Nakamura T, Ugi S, Nishio Y and Kashiwagi A. Protein tyrosine phosphatase 1B negatively regulates insulin signaling by different mechanism from PDGF signaling. The 5th Insulin Action symposium 2003

Maegawa H, Ugi S, Yoshizaki T, Egawa K, Kashiwagi A. Protein Phosphatases Positively and Negatively Regulate Insulin Sensitivity Downstream of IRS-1. Keystone Symposia 2004

研究の概要

インスリン抵抗性は糖尿病のみでなく循環器疾患など広く動脈硬化性疾患発症の背景となる病態であり、その発症機構の解明とともに軽減の対策が求められる。我々は高血糖状態下のインスリン抵抗性発症に細胞質型チロシンホスファターゼの1つである PTP1B が関与することを報告した(Maegawa H. et al. *J. Biol. Chem.* 1995)。さらに、近年 PTP1B のノックアウトマウスが誕生し、同マウスがインスリン感受性の増強、高脂肪食による肥満誘発に対し抵抗性であることが報告され、PTP1B はインスリン抵抗性軽減の新しいターゲット分子として注目されている。

我々はアデノウイルスを用いる遺伝子導入法により PTP1B を L6 筋細胞および Fao 肝細胞に発現させ、インスリン情報伝達、特に IRS-1 のチロシンリン酸化の変化および糖輸送、グリコ-ゲン合成への影響を検討し、PTP1B が、インスリン情報伝達の negative regulator として働くことを見出した(Egawa K. et al. *J. Biol. Chem.* 2001)。しかし、3T3L1 脂肪細胞では、その効果が異なると報告されていることから、今回その分子機構の詳細について検討した。

正常および酵素活性欠損PTP1Bを3T3L1脂肪細胞に発現させ、インスリン情報伝達系の変化および糖輸送への影響を検討し、L6筋細胞およびFao肝細胞と比較した。脂肪細胞においては、PI3キナーゼ系とMAPキナーゼ系のPTP1Bに対する感受性が大きく異なることを見出し、Shcのチロシンリン酸化が関与することが判明した。さらに、PI3キナーゼ系に対するPTP1B作用の細胞特異性は、インスリンシグナル関連分子の発現量に依存し、比較的インスリン受容体やIRSの発現の多い細胞ではPI3キナーゼ系の障害が軽度であることが判明した(Shimizu S et al. *Endocrinology* 2002)。このPTP1B作用の細胞・シグナル経路特異性の存在は、PTP1Bをターゲットとしたインスリン抵抗性治療を考える上で極めて重要な点であると考えられる。

さらに、高果糖食負荷にて作成したメタボリックシンドロームモデルラットの肝臓において、PTP1Bの発現が増加すること、培養肝細胞においても高インスリン、高ブドウ糖および高果糖培養がPTP1Bの遺伝子発現を増加させること、さらにアデノウイルスベクターにてPTP1Bを過剰発現するとインスリンシグナル伝達が障害され、インスリン抵抗性が誘導されることを証明した。これらの成績はメタボリックシンドロームにおけるインスリン抵抗性、高インスリン血症の悪循環がPTP1B発現亢進を介して形成されていることを示唆している。さらに我々はPTP1Bが、肝細胞において、インスリンシグナル障害とは独立して、プロテインホスファターゼ2 A(PP2A)の活性化を介して脂肪合成系酵素の重要な転写因子であるSterol regulatory element binding protein (SREBP)-1の遺伝子発現を増加させることを見出し、PTP1B発現亢進が高中性脂肪血症の一因となることを証明した(Shimizu S. et al. *J. Biol. Chem.* 2003)。

以上の成績により、PTP1B が肝臓において、メタボリックシンドロームの病態形成に重要な役割を果たしていることが明らかになった。