

## 論文の内容の要旨

論文題目	中枢におけるインスリン受容体基質(IRS) - 1 の 役割の解明
氏名	林 高則

糖尿病の患者数は全世界的に急増しており、その制御が社会的にも重要な課題であると認識されている。急増する糖尿病の大部分は 2 型糖尿病と考えられ、その原因としては高脂肪食や運動不足といったライフスタイルの変容、欧米化とそれに伴う肥満人口の増加が第一に考えられる。そのため、適切なエネルギー摂取により肥満の予防し、または是正することは、糖尿病の予防や治療にとっても重要である。

このような摂食行動が脳、特に視床下部で調節されていることは、1950 年代に視床下部神経核破壊により満腹中枢ならびに摂食中枢が発見されたことなどから明らかとなったが、当時はその詳細なメカニズムは不明であった。1979 年にオナガザルの脳室内へインスリン投与することで食事摂取量と体重が減少することが報告され、中枢でのインスリン作用が摂食を制御している可能性が初めて示唆された。その後 1990 年までに脳内のインスリン受容体の局在が明らかとなった。さらに中枢でのインスリン作用の研究は 2000 年代に入り、発生工学的手法を用いた遺伝子改変動物の研究が広く普及することで大きく進歩を遂げた。

2000 年に脳特異的インスリン受容体欠損マウスの研究が報告され、その後の研究から、中枢でのインスリンによる摂食調節は視床下部弓状核ニューロンでの摂食促進ペプチドである NPY 発現の減弱、及び摂食抑制ペプチドである POMC 発現の増加によるものであることが明らかとなった。さらに最近の研究により、中枢におけるインスリン作用が肝臓での糖産生を制御していることも明らかとなり、中枢におけるインスリン作用の重要性はますます注目されてきている。

インスリン受容体(IR)はインスリンシグナルの最上流に位置している。インスリンが細胞膜上の IR に結合すると、内在性チロシンキナーゼ活性により受容体がリン酸化され、さらにインスリン受容体基質(IRS : Insulin receptor substrate)が受容体に結合しリン酸化され、そのシグナルをさらに下流へ伝達する。IRS は現在までに IRS-1~6 の存在が報告されている。その中でも IRS-1,2 は広く組織に発現していることが知られているが、臓器特異的遺伝子改変動物を用いた研究から、各臓器において IRS-1 と IRS-2 が異なる役割を担っていることも報告されている。脳特異的 IRS-2 欠損マウスが、脳特異的 IR 欠損マウス

と同様に食事摂取量増加に伴う体重増加を来すことから、中枢でのインスリンシグナルによる摂食調節は IR - IRS-2 を介していることが推測される。一方中枢における IRS-1 の役割は不明であった。

全身における IRS-1 の役割は、1994 年に全身 IRS-1 欠損マウスが誕生し、その解析の中で明らかとなってきた。全身 IRS-1 欠損マウスは成長障害に伴う低体重を呈し、またインスリン及びインスリン様成長因子 (IGF) -1 抵抗性を示した。このことは IRS-1 がインスリンシグナルのみならず IGF-1 シグナルにも重要であり、成長に関与する可能性を示唆した。その後各臓器での臓器特異的 IRS-1 欠損マウスの研究から、肝臓、骨格筋、血管内皮細胞などでの IRS-1 の役割が検討されたが、いずれも成長に関与するという報告はされていない。

一方で、中枢における IGF-1 シグナルの役割を解明するために、2008 年に脳特異的 IGF-1 受容体欠損マウスが作成された。このマウスは成長障害を来すことが報告されており、中枢での IGF-1 シグナルが個体の成長に関与していることが示唆された。

インスリンシグナルと IGF-1 シグナルの両者は、受容体への親和性の違いはあるもののオーバーラップしており、IRS-1 は IGF-1 シグナルの伝達分子としても重要である。そこで本研究では、これまでの研究結果を踏まえ、中枢での IRS-1 は主に IGF-1 シグナルを伝達する分子としての役割を担い個体の成長に関与しているのではないかとの仮説を立て、中枢における IRS-1 の役割を解明することを目的とし、脳特異的 IRS-1 欠損マウスを作製しその解析を行った。

本研究において解析を行った脳特異的 IRS-1 欠損マウスは、摂餌量の差は認めず、また若週齢マウスでは脂肪量の割合などの体組成の差も認めなかった。この表現型は、脳特異的 IR 欠損マウス及び脳特異的 IRS-2 欠損マウスと異なっており、中枢でのインスリンシグナルにおける摂食調節機構は、IR の下流ではやはり主に IRS-2 を介していると考えられた。このことは同時に、中枢でのインスリンシグナルにおいて IRS-1 と IRS-2 が異なる役割を担っていることを強く示唆した。

脳特異的 IRS-1 欠損マウスは、コントロールマウスと比べて生後より体重が少なく、また全長や骨長が短かった。摂餌量に差が認めないことも加味すると、成長障害を呈している可能性が考えられた。実際に成長ホルモン(GH)及び GH の刺激により肝臓で産生される IGF-1 の血中濃度を測定すると、有意に低下していることが分かった。GH は下垂体前葉で分泌されるホルモンであるが、脳特異的 IRS-1 欠損マウスではプロラクチン(PRL)や副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)といった下垂体前葉ホルモンの血中濃度低下は認められず、また甲状腺ホルモン異常も認めず、GH 系単独の障害であることが分かった。脳特異的 IRS-1 欠損マウスでは下垂体での IRS-1 発現は保たれていることを考えると、GH 分泌

低下は恐らく視床下部での **GHRH** 分泌低下による可能性が示唆されるが、このことは今後さらなる検討が必要である。これまでに中枢における **IRS-1** の役割を報告した研究はなく、本研究では中枢における **IRS-1** が **GH** の分泌調節を介して、個体の成長に影響を与えることを初めて明らかとした。そしてすでに報告されている脳特異的 **IGF-1** 受容体欠損マウスの研究結果を踏まえると、中枢における **IRS-1** の **GH** 分泌調節のメカニズムとしては、その上流のシグナルとして **IGF-1** シグナルが重要である可能性が考えられた。

**GH** はインスリン拮抗作用を有することが知られている。**GH** を過剰に発現させたマウスではインスリン抵抗性を呈し、ヒトにおいても **GH** が過剰に分泌される先端巨大症は糖尿病の原因の一つとして知られている。一方、成長ホルモン分泌不全を来すマウスであるドwarfマウスや、成長ホルモンに抵抗性である成長ホルモン受容体欠損マウスは寿命の延長が認められ、その 1 つの要因としてこれらのマウスがインスリン感受性(による低インスリン血症)を呈していることなどが考えられている。

実際に本研究で解析した脳特異的 **IRS-1** 欠損マウスは、コントロールマウスと比べ低インスリン血症を呈しており、またインスリン負荷試験においてもインスリン感受性を示した。さらに加齢によるインスリン感受性の悪化がコントロールマウスと比べ軽度であり、高齢マウスでもインスリン感受性が比較的保たれていた。

**GH** がインスリン抵抗性に働くメカニズムとしては、**GH** が骨格筋などにおいて **PI-3 kinase** の作用を減弱させることでインスリンシグナルを阻害することなどが報告されている。また、ドwarfマウスではアディポネクチン濃度が上昇しており、このこともインスリン感受性の 1 つの要因と考えられている。そこで脳特異的 **IRS-1** 欠損マウスでも同様にアディポネクチン濃度を測定してみると、実際に血中アディポネクチン濃度の上昇が認められた。

**GH** は脂質分解作用を有する。**GH** 受容体欠損マウスは **GH** 作用の低下により体脂肪率の増加を認めることが報告されており、実際に脳特異的 **IRS-1** 欠損マウスにおいても若週齢の時点では体組成に変化を認めなかったものの、成長したマウスでは脂肪量の割合が増加していた。そこで高齢の脳特異的 **IRS-1** 欠損マウスの白色脂肪組織量の分布を見てみると、脂肪量の割合の増加は主に皮下脂肪量の割合の増加によるものであり、内臓脂肪である腸間膜脂肪量の割合はむしろ低下していることが分かった。これまでのヒトを対象とした研究では、アディポネクチン濃度は内臓脂肪と負の相関を示す一方、皮下脂肪とは正の相関を示すことも報告されている。本マウスにおいて血中アディポネクチン濃度が上昇している理由としては、この脂肪分布の変化による可能性も考えられた。一方、この脂肪分布の変化が生じるメカニズムに関しては、マウスにおいて **GH**

の脂質分解作用が皮下脂肪を中心に作用するという報告はなく、そのメカニズムは不明であるが、脳特異的 IRS-1 欠損マウスでは活動量の亢進を認めており、そのことが内臓脂肪減少に働いた可能性も考えられた。また、インスリンは脂肪細胞への直接作用の他に、視床下部へ作用し交感神経を抑制することで脂肪分解抑制、脂肪合成促進に働くメカニズムも知られている。もしこのシグナルが視床下部において IRS-1 を介しているとすれば、脳特異的 IRS-1 欠損マウスではそのシグナルが阻害されているため、内臓脂肪の割合が低下することは矛盾しない結果となる。このことは今後さらなる検討が必要である。

本研究は脳特異的 IRS-1 欠損マウスの解析を行うことで、中枢における IRS-1 が GH 分泌を介して個体の成長に影響を与えることを初めて明らかとした。また、GH 分泌が低下した脳特異的 IRS-1 欠損マウスは加齢によるインスリン感受性の悪化が軽度であり、糖代謝における GH 作用の重要性も再度認識された。今後、中枢の IRS-1 が GH 分泌を調節する詳細なメカニズムなどを明らかとし、中枢における IRS-1 の役割をさらに詳しく解明していきたい。