インスリン様活性と 高齢化社会で克服すべき疾病

高橋伸一郎^{*1}, 伯野史彦^{*1}, 亀井宏泰^{*1}, Leonard Girnita^{*2},
Ignacio Torres-Aleman^{*3}, 東 祐輔^{*4}, 福嶋俊明^{*5},
柴野卓志^{*1}, 尾添淳文^{*1}, 山中大介^{*6}

インスリン様活性 (insulin-like activity; ILA) は、インスリンやインスリン様成長因子 (insulin-like growth factor; IGF) により誘導される生理活性の総称で、動物の一生の多くの生命現象に関与している。ILA は、いろいろな細胞外因子や生理状態によって調節され、正常な発生、発達・成長、成熟、代謝制御が可能となっている。最近になり、ILA は老化の調節にも関連していることが明らかとなり、ILA の制御法の開発は、高齢化社会で克服すべき疾病の予防や治療の新しい戦略となる可能性がある。本稿では、最初にインスリンと IGF の性質や細胞内シグナル伝達機構を概説した後、ILA が、がん、脳神経疾患、動脈硬化、糖尿病の発症に果たす役割について説明し、最後に、われわれが進めている ILA の新しい制御法の開発の試みについて紹介する。

インスリン様成長因子とインスリン

IGF とプロインスリンはともに単鎖のポリペプチドであり、一次構造に高い相同性を有している。しかし、IGF とインスリンでは、産生・分泌の制御、血中動態、受容体などには、異なる点も多い (表1)。IGF には、IGF-I と II の2つの分子種が存在するが、IGF-I は出生後すぐに肝臓を中心とした広範な臓器で産生され、一生を通じて良い栄養状態、成長ホルモン (GH) やインスリンなどによって産生が高く維持される。一方、IGF-II の血中濃度は胎児期に最も高く、出生後徐々に低下する。両 IGF とも分泌は構成的で大きな日内変動はない。これに対してインスリンは、膵臓β細胞でプロインスリンから二本鎖ペプチドとして成熟して分泌顆粒に貯蔵され、グルコースやアミノ酸といった栄養素の刺激により一過的に分泌される。分泌後体液中で、インスリンは遊離型だが、IGF は6種類の IGF 結合タンパク質 (IGF binding protein; IGFBP) と結合して存在する。このため、インスリンに比べて IGF の血中の半減期は長く濃度も高い。IGFBP は、それぞれ異なる様式で、IGF のクリアランスや標的細胞への IGF の輸送、細胞近傍での

Diseases in the Aging Society Caused by Modulation of Insulin-Like Activities

Shin-Ichiro TAKAHASHI, Fumihiko HAKUNO, Hiroyasu KAMEI, Leonard GIRNITA, Ignacio TORRES-ALEMAN, Yusuke HIGASHI, Toshiaki FUKUSHIMA, Takashi SHIBANO, Atsufumi OZOE, Daisuke YAMANAKA, ^{*1}東京大学大学院農学生命科学研究科, ^{*2}カロリンスカ研究所がんセンター, ^{*3}スペイン科学研究高等会議カハール研究所, ^{*4}チューレーン大学医学部, ^{*5}広島大学医歯薬保健学研究院, ^{*6}日本医科大学老人病研究所

表1 ■ インスリンとインスリン様成長因子の性質の比較

	インスリン	インスリン様成長因子-I (IGF-I)	インスリン様成長因子-II (IGF-II)
分子量	5734 (ヒト)	7649 (ヒト)	7471 (ヒト)
産生器官・細胞	膵臓ランゲルハンス島 β 細胞	主に肝臓, その他広範	主に肝臓, その他広範
分泌促進因子	グルコース・ロイシン・アル ギニン等の基質やインクレチ ン等のホルモン	成長ホルモン・インスリン等 のホルモンやバランスのとれ た栄養摂取	組織の発達
血中での存在形態	遊離型	数種類の結合タンパク質と結 合して存在	数種類の結合タンパク質と結 合して存在
成人血中濃度	0.5 ~ 5 ng/mL (35 ~ 170 pmol/L)	200 ng/mL (30 nmol/L)	700 ng/mL (85 nmol/L)
血中寿命	10 分	12 ~ 15 時間	15時間
受容体に対する親和性	インスリン受容体 > IGF-I受容体	IGF-I受容体 > IGF-II受容体 > インスリン受容体	IGF-II受容体 > IGF-I受容体 > インスリン受容体
作用形式	エンドクリン様式	エンドクリン様式 パラクリン様式 オートクリン様式	エンドクリン様式 パラクリン様式 オートクリン様式

Thissen *et al.*: *Endocr. Rev.*, **15**, 80 (1994) の表を改変した。

IGF 活性の促進や抑制などにかかわっている。標的細胞には、IGF、インスリンそれぞれに結合する受容体、IGF-I 受容体 (IGF-IR) とインスリン受容体 (IR) が存在するが、これらも構造が類似している。IGF-IR は、胎児期にはほとんどすべての細胞で高発現しているが、出生後肝臓や脂肪組織では発現が低下する。このため肝臓や脂肪細胞で産生される IGF は血流に乗ってほかの臓器に働くエンドクリン形式で作用すると考えられているが、ほかの細胞で産生した IGF は自身あるいは近傍の細胞で作用を発揮するオートクリン／パラクリン形式でも作用を発揮する特徴を有する。一方、インスリンはエンドクリン形式で作用する^(1~4)。

この IGF／インスリンシステムは、動物界の進化の過程で多様化しながらも高度に保存されてきた。旧口動物の線虫では 38 種類、ショウジョウバエでは 8 種類のインスリン様ペプチドの遺伝子が存在し、神経や脂肪組織、器官原基など、限られた組織で発現が認められている。またショウジョウバエでは 2 種類の IGFBP の存在が報告されている。これらの生物には IGF-IR/IR に相同性の高い受容体が 1 種類だけ存在し、受容体以降の細胞内シグナル伝達系は哺乳類のそれとよく類似している。一方、新口動物を眺めてみると、原索動物ではインスリン様ペプチドは 1 種類である。脊椎動物では数種のインスリン様活性を担う分子 (IGF-I/II とインスリン) とそれぞれ固有の受容体 (IGF-I 受容体とインスリン受容体) が出現し、これらはほぼすべての細胞で発現している。また、IGF-I は下垂体から分泌される GH により分泌が制御されるようになった。つまり、動物の進化に伴って

ILA の制御を担う分子が多様化し、機能が分業されるようになったことがうかがえ、生体内外の環境変化に応答して ILA が微妙に調節できるように進化してきたと考えることができる^(5,6)。

インスリン様活性を発現する仕組み

先にも述べたように IGF-I/II は標的細胞の細胞膜上の IGF-IR に結合し、インスリンは IR に結合することによって細胞内にシグナルを伝達する。IGF-IR と IR は互いに構造が類似したチロシンキナーゼ内蔵型受容体である。これらの受容体は、それぞれのホルモンと結合する細胞外ドメイン (α サブユニット) と、チロシンキナーゼ触媒ドメインをもつ細胞内ドメイン (β サブユニット) が S-S 結合で結合したものが、二量体を形成したヘテロ四量体である (図 1)。IGF は IGF-IR と高親和性で結合するが、構造の類似した IR とは低親和性ながら結合する。同様な現象は、インスリンと IGF-IR の間でも観察される。さらに、筋肉など IR と IGF-IR の発現量が同程度に高い組織では、IR の α/β サブユニットの二量体と IGF-IR の α/β サブユニットの二量体が四量体化したハイブリッド受容体の存在が報告されている。このハイブリッド受容体は IGF-I との親和性が高い特徴をもつ。また、IR には α サブユニットの末端の約 10 アミノ酸の存在の有無で IR-A と IR-B の 2 つの分子種が存在し、IR-B はインスリンに高親和性を示すが、IR-A はインスリンではなく IGF-II との親和性が高い。IR-A と IR-B は選択的スプライシングによって生成するが、特にがん化

図1 ■ インスリン様成長因子とインスリンの細胞内情報伝達機構

IGFとインスリンの生理活性には差異が認められるのにもかかわらず、細胞内情報伝達機構には、大きな差異は報告されていない。それぞれの組織にどのような受容体が発現しているかが、標的組織で発現するインスリン様活性を決定していると考えられる。基本的には、リガンドと結合した受容体に内蔵されたチロシンキナーゼが活性化され、細胞内基質をチロシンリン酸化、これを認識してシグナル分子が膜近傍に移行することが引き金となって情報経路下流にシグナルが伝達される。

した細胞や組織においてIR-Aの発現が高いことから、IR-Aとがん化との関係が最近示唆されている^(2, 7, 8)。

ホルモンが受容体に結合し内蔵されたチロシンキナーゼが活性化すると、まず受容体自身のチロシン残基をリン酸化し（自己リン酸化）、さらに活性は上昇する。このチロシンキナーゼによりリン酸化される代表的な細胞内基質として、インスリン受容体基質（insulin receptor substrate; IRS）が知られている。ILAの発現の仲介に重要な役割を果たしているIRSにはIRS-1からIRS-4の4つの分子種が存在し、特にIRS-1, IRS-2が糖代謝制御や成長促進に必須である。IRSはN末端側にリン脂質に親和性がある pleckstrin homology (PH) ドメインと、自己リン酸化した受容体を認識して相互作用する phosphotyrosine-binding (PTB) ドメインを有する。このドメインを介して膜付近で、活性化した受容体とIRSが相互作用する。一方、IRSはC末端側にリン酸化されうるチロシン残基が多数存在し、これらが受容体チロシンキナーゼによってリン酸化される。つづいて、チロシンリン酸化されたモチーフを認識して結合する Src homology (SH) 2ドメインを有するシグナル分子が相互作用する。その一つはPI 3-kinase (PI3K) で、この酵素が膜の近くに移動する結果、膜中のPIをリン酸化する。これを引き金としてセリン／スレオニンキナーゼであるAktが活性化され、Aktが多くの基質をリン酸化することにより情報経路下流にシグナルを伝達し（PI3K経路）、広範な生理機能を発現する。リン酸化IRSを認識して結合するもう一つのシグナル分子はGrb2で、SH3ドメインを介してRasを活性化する分子SOSと相互作用しており、細胞膜にアンカリングしているRasの活性

化にかかわっていると考えられている。活性化されたRasはリン酸化カスケードを介して mitogen-activated protein kinase (MAPK) 経路を活性化し、経路下流のセリン／スレオニンキナーゼであるErkなどが細胞増殖をはじめとした生理作用を誘導する⁽⁹⁾。

インスリン様活性

IGFとインスリンは、主に同化を促進し異化を抑制する生理活性を有する（表2）。特にIGFは細胞増殖・分化の誘導、細胞死の抑制、細胞機能の維持、細胞運動など細胞の運命を決定するような長期活性が強く、これらの活性を介して動物の発生、発達・成長、生殖機能の発達（成熟）、タンパク質代謝の制御などを担っている。一方、インスリンは、糖やアミノ酸の取り込みの増加、糖利用の促進、糖産生の抑制など短期的な代謝制御活性が強い点が特徴である^(10, 11)。これは、産生・分泌が構成的で体液中濃度が常に比較的高いIGFと、栄養素の摂取に応答して一過的に分泌されるインスリンの特徴とも一致する。IGFとインスリンの役割分担は脊椎動物の進化の過程でより明確になっていくことから、この分業化により体内外環境の変化に応じた速やかな代謝調節が可能になるなどのメリットがあると考えられる。

これまでに、種々のノックアウトマウスを用いて、IGFやインスリンの生理的意義が検討されてきた。その結果、IGF-Iは、主にIGF-IRを介して、胎児期・出生後の動物の成長に重要な役割を果たしており、一方、IGF-IIは、胎児期にわたりIGF-IRを介して、さらに出生直前にはIRも介して、胎児期の動物の成長に必須な役割

表2 ■ 代表的なインスリンとインスリン様成長因子の生理活性

インスリン		インスリン様成長因子	
培養細胞系	<i>in vivo</i> 系	培養細胞系	<i>in vivo</i> 系
糖・アミノ酸の膜透過促進	血糖降下	細胞増殖誘導	成長促進
グリコーゲン合成促進	同化促進	細胞死抑制	血糖降下
糖新生抑制	成長促進	細胞分化誘導	同化促進
脂肪合成促進		細胞機能維持	骨形成促進
タンパク質合成促進		細胞がん化誘導	細胞増殖促進
タンパク質分解抑制		細胞運動促進	神経細胞保護
RNA合成促進		RNA合成促進	赤血球産生促進
細胞増殖誘導（弱い）		タンパク質合成促進	子宮内発育促進
		タンパク質分解抑制	腎血流増加・腎細胞保護
		糖・アミノ酸の膜透過促進（弱い）	免疫増強
			創傷治癒

を果たしていることが明らかとなった。また、出生後・成熟後の動物では、IGF-IはIGF-IRを介して主にタンパク質代謝を、インスリンはIRを介して糖代謝を制御している。さらに、特定の臓器のみでIGF-I遺伝子をノックアウトしたマウスやIGF-I遺伝子を発現しているマウスなども開発され、これらの比較解析によりエンドクリン型IGF-Iは骨の成熟などに重要で、末梢で産生されているパラクリン／オートクリン型IGF-Iはそれぞれの組織を構成している細胞の増殖やサイズの増加に重要であることが示唆されている^(12, 13)。

最近になり、インスリン様活性が抑制された線虫、ショウジョウバエ、マウスなどでは寿命が延長することも報告されており、老化の制御にILAが重要な役割を果たしていることが示されている^(14, 15)。ILAに関する研究は、これまで発達・成長や代謝を中心に研究が進められてきたが、高齢化社会で克服すべき多くの疾病と

ILAの関連が急速に注目されるようになってきた。

インスリン様活性とがん

疫学的な研究から、血中IGF濃度が高いヒトは種々のがん罹患するリスクが高いことが報告されている^(16, 17)。さらに、種々のがん細胞のIGFの産生量が多い、IGF活性を抑制するIGFBPの産生が低い、IGFBPを分解する酵素の産生量が多い、IGF-IRやハイブリッド受容体の発現量が高い、IGF-IIと結合するIR-Aの発現量が高いなどの報告があり⁽¹⁸⁾、過剰なILAは正常細胞のがん化やがんの悪性化に寄与している可能性が指摘されている（図2）。

一方、受容体型チロシンキナーゼ（receptor tyrosine kinase; RTK）は、細胞内領域にチロシンキナーゼドメインを有するタンパク質と定義され、60近くの遺伝子

図2 ■ インスリン様活性とがん

体液中でIGFは通常IGF結合タンパク質（IGFBP）と結合して存在し、その量や活性は緻密に制御されている。これに対して、何らかの原因で、エンドクリン型のIGF量やオートクリン／パラクリン型のIGF量が増加、IGF活性を抑制するIGFBPが減少、IGFBPを分解するプロテアーゼが増加、IGFIRの増加などが起こると、IGF活性が過剰となり、正常細胞のがん化やがんの悪性化が誘導されると考えられている。

からなるファミリーを構成している。RTKは細胞機能の重要な調節因子というだけでなく、がん化の重要因子として注目を集めてきた。特に、RTK遺伝子の重複や変異、過剰発現、またオートクリン型増殖因子によるループ形成などは、発がん能の原因の一つであることが明らかにされている⁽¹⁹⁾。数あるRTKのなかでIGF-IRは、がん化において特に重要な因子の一つである。IGF-IRが細胞のがん化に深く関与することを示す最も重要な発見は、IGF-IRを欠損したマウスの細胞では、さまざまながん遺伝子、ウイルス、ほかのRTKの過剰発現によってがん化しなくなることである⁽²⁰⁾。IGF-IRは、細胞増殖・生存、足場非依存性増殖、細胞運動・浸潤・転移、血管新生などといったがんの悪性化に重要なさまざまな細胞機能を制御しており⁽²¹⁾、IGF-IRの阻害はがん治療にとっても効果的であることが示されている⁽²²⁾。さらにIGF-IRに対する抗体、内蔵チロシンキナーゼ低分子阻害剤、遺伝子発現を抑制するアンチセンス技術などを用いた *in vivo* や *in vitro* の研究から、IGF-IRはすべてではないが、ほとんどのがん細胞の増殖や肥大に不可欠ということがわかっている⁽²²⁾。

現在IGF-IR分子を標的とした治療は、悪性度の高いがんの治療に効果的な手法と考えられている。IGF-IRに対する中和抗体は治療薬の候補として多くの研究者や製薬会社が開発を進めてきた。われわれは、その一つであるfigitumumabがIGF-IRの機能を抑制する機構を検討してきた⁽²³⁾。figitumumabはIGFとIGF-IRの結合を阻害する抗体として作られたが、われわれはfigitumumabがIGF-IRの細胞外ドメインへ結合することでIGF-IRの細胞内ドメインと β -arrestinの相互作用を誘導すること、そのとき β -arrestinがユビキチンリガーゼであるMdm2をIGF-IRヘリクルートしIGF-IRのユビキチン化が進むことを明らかにした。 β -arrestinはGタンパク質共役型受容体の細胞内シグナルの情報伝達の調節に重要な働きをもつ分子だが、たいへん興味深いことに、上記の仕組みのなかで β -arrestinが何らかの機構でIGF-IRに依存するMAPK経路を活性化し、がん細胞の増殖を誘導することも見いだした。すなわちfigitumumabはIGFとIGF-IRの結合を阻害するだけでなく、IGF-IRの細胞内シグナル伝達を部分的に活性化させるアゴニストとしても機能し、それを仲介する β -arrestinはIGF-IR-MAPK経路を偏重的に増強させうる新規のIGF-IRの機能調節分子だと言える。これらの結果は、抗体のIGF-IRに対する作用機序の精査、そして β -arrestinなどがかわるIGF-IRの未知の細胞内シグナル伝達の調節機構も考慮することがIGF-IRを標的とした薬剤を開発する

うえで非常に重要な要素となることを示している。がんに限らず、成長、分化、老化などIGF-IRを標的とした治療を成功させるためには、さまざまな組織におけるILAの調節機構に関するさらなる知見の収集が必要不可欠である。

インスリン様活性と脳神経疾患

現在、IGF-Iは神経保護因子の一つと考えられている。そのため、さまざまな神経疾患の治療を目的としたIGF-Iの利用が提案され、すでに臨床試験も行われている。一連の基礎研究や臨床試験の結果、IGF-Iは広範な神経保護効果を示すが、十分な効果を発揮するかは神経細胞に伝わるIGFシグナルの強度によって決まることがわかってきた⁽²⁴⁾。

神経変性疾患の発症機序はさまざまだが、いずれの場合でも神経細胞の「IGF抵抗性」(IGFが細胞の周りに十分あっても生理活性が発揮できない状態)が引き起こされる。その原因の一つが「酸化ストレス」である⁽²⁵⁾。酸化ストレスの原因物質である活性酸素種(reactive oxygen species; ROS)は、正常な範囲では種々の代謝反応を調節しており、生理的に意義のあるシグナル伝達を担っていることから、適度の量のROSは正常な細胞機能の維持に重要と考えられる。一方、過剰なROSが発生した際には、ROSという高反応性の化学物質による非特異的なダメージから細胞を保護するためにROSを除去する仕組みが稼働するが、ROSの産生と除去のバランスが破綻し過剰なROSが蓄積すると、DNAや脂質、タンパク質の酸化を介して細胞障害が引き起こされる。事実、過剰な酸化ストレスは、加齢に伴って起こるいろいろな生命現象を最もよく説明でき、脳虚血やアルツハイマー型認知症、筋萎縮性側索硬化症、そのほかの神経変性疾患における神経損傷に関与することが示唆されている。酸化ストレスによって種々の組織で「インスリン抵抗性」が誘導されることがすでに知られており、同様の抵抗性が神経細胞のIGF-Iシグナルにも起こる可能性を強く示している。われわれは、神経細胞においてROSがp38 MAPKの活性化を介してIGF-IRによるIRSのチロシンリン酸化を減弱させ、同時に転写因子 forkhead transcription factor (FOX) O3 の活性化を誘導する(IGFはFOXOの転写活性を抑制する)ことを見いだしている。この結果は、過剰な酸化ストレスがIGF-I抵抗性を誘導し、神経細胞がダメージを受けやすくなることを示している。やや間接的な証拠だが、脳虚血を起こしやすい糖尿病ラットでは神経細胞におけるインスリ

図3 ■ インスリン様活性と脳神経細胞

アストロサイトは、神経細胞に栄養性因子を提供し、古典的な抗酸化反応を介して酸化ストレスによるダメージから神経細胞を守っている。すなわち、酸化ストレス（たとえば H_2O_2 ）存在下では、神経細胞単独ではIGFの作用は抑制されているが、アストロサイトと共培養すると、アストロサイトのIGFの細胞内シグナルが促進され、これが未知の機構を介して神経細胞の抗酸化作用・神経保護作用を増強、細胞死を抑制している。

ン抵抗性が発生することも最近報告されており、IGF抵抗性も誘導されている可能性を示している⁽²⁶⁾。

一方、脳神経系における酸化ストレスとIGFの意義は、細胞のおかれた状態や細胞の種類に応じて異なることも明らかになりつつある⁽²⁷⁾。先にも述べたように、過剰な酸化ストレスは神経細胞にIGF抵抗性を誘導するが、アストロサイトではこれとは逆にIGFシグナルの下流分子の応答が増強されることをわれわれは発見した。ほかの結果も併せると、酸化ストレスに暴露されたアストロサイトは、IGF-I刺激に応答して神経保護シグナル（たとえばある種のリガンド）を放出し、これが神経細胞を保護するという新しい機構の存在を示唆している（図3）。

このように、脳神経系では神経細胞だけでなくアストロサイトも含めてIGFに対する応答性が制御されていると考えられ、これらの分子機構の解明がIGFの脳神経保護作用の解明やその臨床応用に役立つものと期待している。

インスリン様活性と動脈硬化

動脈は、内側（血流側）から内膜、中膜、外膜の3層構造を有している。内膜は単層の内皮細胞と細胞外基質からなるいわば「内貼り」である。中膜は多層の平滑筋細胞からなり血管に収縮・拡張の機能を与える。外膜は繊維性の細胞外組織と繊維芽細胞が構成し栄養血管や神経叢が分布する。粥状（アテローム性）動脈硬化について、現在広く受け入れられている発症の機構は以下のようである。まず内膜下に脂質が沈着し、それに伴って、

内皮細胞、平滑筋細胞が接着因子やケモカインを発現して炎症性細胞（T細胞やマクロファージ）を動員する。内膜下に入り込んだマクロファージは沈着した脂質を貪食するとともにサイトカイン・ケモカインを分泌して炎症を確立する。炎症には酸化ストレスの上昇が伴い、周囲の細胞が障害を受けるため、その修復機構として中膜の平滑筋細胞が脱分化・障害部位に移動・分裂する。脂質を取り込んだマクロファージは運動性を失い、また取り込んだ脂質を処理できないため、細胞死を起こす。細胞死は新たなマクロファージの動員を促し、炎症を悪化させ、移動してきた平滑筋細胞も高酸化ストレスや炎症環境下で細胞死に至る。この悪循環により、内膜は分裂した平滑筋細胞のために厚みを増し、その中心には死細胞や脂質が蓄積した壊死組織が形成される。これが粥状動脈硬化の病巣である^(28, 29)。

内皮細胞、平滑筋細胞ともにIGF-Iを産生し、IGF-IRも発現している。IGF-Iはこれらの細胞の分裂を促進する。このほか、内皮細胞では、一酸化窒素の産生を増加させ（血管拡張、血圧降下作用）、グルタチオンオキシダーゼの発現・活性を上昇させる（抗酸化作用）。また、平滑筋細胞では細胞運動性の促進、細胞死の抑制、分化形質の維持といった作用が知られている^(30~32)。

動脈硬化病巣の特徴であり、病的な症状を起こす原因である血管壁の肥厚（その結果、血流が阻害される）が、平滑筋細胞の移動と分裂によって引き起こされることから、その両方を促進するIGF-Iは動脈硬化を促進すると考えられてきた^(30, 33)。実験動物でカテーテルを用いて動脈の内皮をこすりはがすと、中膜の平滑筋細胞が移動・分裂し、血管壁が肥厚する。これを平滑筋細胞に

図4 ■ インスリン様活性と動脈硬化

粥状動脈硬化は、細胞内および細胞間の機能調節が複雑に絡みあって発症する。この系を構成するそれぞれの細胞に対するIGF-Iの作用は多岐にわたっているが、どの作用が中心的に関与しているかを見極めていく必要がある。

IGF-Iを過剰発現した遺伝子改変マウスで行うと、血管壁の肥厚が著しく促進されたので、IGF-Iが平滑筋細胞による血管壁の肥厚を促す証拠とされてきた^(30, 33)。われわれは、粥状動脈硬化症のモデル動物であるアポリポタンパク質E欠損マウス(ApoE^{-/-}マウス)に、平滑筋細胞特異的なIGF-I過剰発現を導入したところ、驚いたことに病巣の大きさに変化は認められなかった。さらに、ApoE^{-/-}マウスにIGF-Iを皮下投与すると、動脈硬化病巣の形成は逆に阻害された。つまり動物全身にIGF-Iを作用させると、平滑筋細胞以外に作用して動脈硬化病巣の形成を抑制するらしい^(31, 32)(図4)。現在、病巣形成に関与する平滑筋以外の細胞、すなわち内皮細胞とマクロファージについてIGF-Iの作用を検討中である。

ヒトにIGF-Iを投与する研究は現時点で実施が困難なため、ヒトでIGF-Iが動脈硬化にどのように影響するかについては疫学的研究の結果を引用するほかない。しかし動脈硬化症のような多因子疾患は、一つの要因のみについて影響を評価するのは難しく、血中IGF-I濃度と心筋梗塞発症頻度の関連などに関して、確定的な知見は得られていない。まずは疾患モデル動物を用いた研究を進め、動脈硬化の複雑な発症機序と、IGF-I作用の分子機序を関連づけ、知見を確立することが今後の課題である。

インスリン様活性と糖尿病

IIAの異常によって起こる疾病として最も想起しやすい

いものは糖尿病である。糖尿病は、「インスリン作用の不足に基づく慢性の高血糖を主徴とする代謝疾患群」と定義され⁽³⁴⁾、その患者数は世界各国で増加の一途をたどっている。患者の大多数を占めるのは生活習慣の悪化が引き金となって発症する「2型糖尿病」である。2型糖尿病では高血圧や脂質異常も合併して発症しやすく、これらは高血糖とともに動脈硬化症の主要なリスクファクターである。

2型糖尿病の発症メカニズムとしては次のような機序が受け入れられている。すなわち、①過食・運動不足などにより肥満が生じる、②肥満状態では脂肪組織などで慢性炎症が惹起され各種のサイトカインの分泌量が変動する、③遊離脂肪酸などの栄養因子や炎症性サイトカインに応答して肝臓・骨格筋・脂肪組織などのインスリン標的組織がインスリン抵抗性状態になる、④インスリン抵抗性を代償するために膵β細胞のインスリン分泌が一定期間は促進されるが、最終的には膵β細胞の機能不全によりインスリン分泌が低下し、糖尿病が発症する(図5)。このような基本的な機序に加え、近年、肥満による慢性炎症はさまざまな免疫担当細胞の種類や量の変動を介して起きること、肥満に伴って腸内細菌に由来する代謝物やリポ多糖などのエンドトキシンが血中に流入して慢性炎症やインスリン抵抗性を悪化させることなど、新しい知見が加えられている^(35, 36)。

過剰量の栄養・炎症性サイトカイン・エンドトキシンなどに応答してインスリン標的細胞がインスリン抵抗性状態になり、これを介して2型糖尿病が発症すると考えられている。これらの因子が細胞のインスリン抵抗性を引き起こす仕組みとしてこれまでにさまざまな分子機構が報告されているが、その多くに共通するメカニズムとして「IRSのセリン/スレオニンリン酸化を介してインスリンシグナルが抑制される機構」が挙げられる^(35, 36)(図5)。たとえば、過栄養により増加した遊離脂肪酸が細胞内で代謝されるとジアシルグリセロールが産生され、これに応じて活性化したPKC(protein kinase C)がIRSをセリンリン酸化し、セリンリン酸化を受けたIRSはインスリン受容体によってチロシンリン酸化されにくくなり、インスリンシグナルが抑制される。ほかにも、遊離脂肪酸やリポ多糖などのエンドトキシン、TNFαなどの炎症性サイトカインは、細胞膜上に存在するToll様受容体(TLR)-4やTNF受容体などを活性化し、これらの下流に存在するIκB kinase(IKK)-βやc-Jun N-terminal kinase(JNK)の活性化を誘導するが、これらのセリン/スレオニンキナーゼもIRSをリン酸化し、インスリンシグナルの抑制に寄与している。生体内

図5 ■ 2型糖尿病の発症機序とインスリン抵抗性発生の分子機構

2型糖尿病は肥満によって起こるインスリン抵抗性を主因として発症する。このインスリン抵抗性の分子メカニズムとして、肥満に伴って増加するさまざまな液性因子がインスリン標的細胞に作用し、これにตอบสนองして細胞内でIRSを基質とするセリン・スレオニンキナーゼが活性化、IRSのセリン・スレオニンリン酸化を介してインスリンシグナルが抑制される機構が知られている。

では多くのセリン／スレオニンキナーゼによって、IRS内の多くの部位のセリン／スレオニンリン酸化が起こり、これを介してインスリンシグナルの強度が緻密に調節されていると考えられるが⁽⁹⁾、その詳細な分子機構の解明は今後の課題である。

2型糖尿病の治療にはインスリン感受性を回復する薬剤が有効と考えられる。現在、インスリン感受性剤として処方されている主な薬剤はチアゾリジン誘導体だが、作用機序が不明で薬効が低いなどの問題があるが汎用されている。新しい機序でインスリンシグナルを強める薬剤の開発が期待されている。

高齡化社会で克服すべき疾病を予防あるいは治療するための新しい手法の開発

ここまで述べたように、過剰なILAの抑制は細胞のがん化やがん細胞の不死化・転移などを阻害することになり、一方、ILAの増強は脳神経疾患、動脈硬化、糖尿病などの予防や治療に有効であることが明らかになりつつある。

ILAは、IGF・インスリン以外のホルモンや成長因子などの細胞外因子、酸化ストレスなどの環境要因によって増強あるいは抑制される特徴を有している⁽³⁷⁾。われわれはこの分子機構を検討してきたが、それらの多くの因子がIGF-IRやIRによるIRSのチロシンリン酸化を増強あるいは抑制することにより、ILAを調節することを

見いだした^(38, 39)。すなわちIRSは受容体からのシグナルを仲介するだけでなく、ほかの因子のシグナルが合流する調節点としても機能している。実際、IRSは、受容体チロシンキナーゼによりリン酸化を受ける前から多くのタンパク質と相互作用し、巨大なシグナル複合体を形成していることをわれわれは発見している⁽⁴⁰⁾。さらにIRSと複合体を形成するタンパク質を網羅的に同定したところ、少なくとも50種類以上のタンパク質の同定に成功したが、このなかには、①IRSの細胞内局在を制御するタンパク質、②IRSの寿命や品質を管理するタンパク質、③IRSのチロシンリン酸化のされやすさを調節するタンパク質、④それ自身が新しい機構でILAを発現している、あるいは新しい活性を仲介している可能性が考えられるタンパク質などが含まれていた^(41~45) (図6)。現在、同定したIRSと相互作用するタンパク質のなかから、高発現や発現抑制でILAの増強あるいは抑制が観察されたタンパク質について、当該タンパク質とIRSの相互作用を阻害あるいは促進するような低分子化合物をスクリーニングし、これらを用いてILAを制御する手法の開発を進めている。このような手法は、これまで全く試みられなかった機構でILAを特異的に調節する可能性があり、がん、脳神経疾患、動脈硬化、糖尿病などの予防や治療に役立つものと考えている。

高齡化社会に突入した現在、加齢に関連した疾病の治療は、今後の社会が抱えている大きな課題の一つであ

図6 ■ IRSと複合体を形成するタンパク質群を介したインスリン様活性の新しい修飾機構

IRSは、少なくとも50種類以上の異なる機能を有したタンパク質と巨大なシグナル複合体を形成している(このタンパク質をIRS-associated protein; IRSAPと表記した)。われわれの研究成果から、IRSAPを介したILAの新しい誘導機構や調節機構が明らかになりつつある。

る。先にも述べたように、線虫、ショウジョウバエ、マウスなどのモデル動物では、インスリン様シグナルの抑制が寿命の延長につながる。これは過剰なインスリン様シグナルが、がんなどの疾病を誘導することで説明ができる。一方、脳神経疾患、心血管疾患や糖尿病をはじめとした代謝病などインスリン様活性が低下しすぎると引き起こされる疾病は、比較的長寿命なヒトに特徴的に発症する。これらの疾病を予防あるいは治療するにはILAの増加が有効と考えられる。このように、われわれが健康年齢を延伸するためには、適度なILAの発現が有効で、これらを指標あるいは標的とした食事条件や薬剤の開発が今後の新しい研究対象になると期待している。

謝辞: 本研究は、日本学術振興会の科学研究費補助金、研究拠点形成事業およびこの事業に対するマッチングファンド、生研センター生研センターイノベーション創出事業などによって助成された。

文献

- 1) J.-P. Thissen, J.-M. Ketelslegers & L. E. Underwood: *Endocr. Rev.*, **15**, 80 (1994).
- 2) D. LeRoith, H. Werner, D. Beitner-Johnson & C. T. Roberts Jr.: *Endocr. Rev.*, **16**, 143 (1995).
- 3) J. Nakae, Y. Kido & D. Accili: *Endocr. Rev.*, **22**, 818 (2001).
- 4) S. M. Firth & R. C. Baxter: *Endocr. Rev.*, **23**, 824 (2002).
- 5) M. Tatar, A. Bartke & A. Antebi: *Science*, **299**, 1326 (2003).
- 6) A. W. Wood, C. Duan & H. A. Bern: *Int. Rev. Cytol.*, **243**, 215 (2005).
- 7) R. Malaguarnera & A. Belfiore: *Front. Endocrinol.*, **2**, 93 (2011).
- 8) A. Belfiore, F. Frasca, G. Pandini, L. Sciacca & R. Vigneri: *Endocr. Rev.*, **30**, 586 (2009).
- 9) K. D. Copps & M. F. White: *Diabetologia*, **55**, 2565 (2012).
- 10) D. R. Clemmons: *Endocr. Rev.*, **16**, 3 (1995).
- 11) B. Cheatham & C. R. Kahn: *Endocr. Rev.*, **16**, 117 (1995).
- 12) D. LeRoith, C. Bondy, S. Yakar, J. L. Liu & A. Butler: *Endocr. Rev.*, **22**, 53 (2001).
- 13) S. Yakar, C. J. Rosen, W. G. Beamer, C. L. Ackert-Bicknell, Y. Wu, J. L. Liu, G. T. Ooi, J. Setser, J. Frystyk, Y. R. Boisclair *et al.*: *J. Clin. Invest.*, **110**, 771 (2002).
- 14) V. D. Longo & C. E. Finch: *Science*, **299**, 1342 (2003).
- 15) J. B. Allard & C. Duan: *Front. Endocrinol.*, **2**, 75 (2011).
- 16) D. Yee: *Growth Horm. IGF Res.*, **11**, 339 (2001).
- 17) M. Pollak: *Curr. Opin. Pharmacol.*, **8**, 384 (2008).
- 18) A. Belfiore: *Curr. Pharm. Des.*, **13**, 671 (2007).
- 19) P. J. Roberts & C. J. Der: *Oncogene*, **26**, 3291 (2007).
- 20) C. Sell, G. Dumenil, C. Deveaud, M. Miura, D. Coppola, T. DeAngelis, R. Rubin, A. Efstratiadis & R. Baserga: *Mol. Cell Biol.*, **14**, 3604 (1994).
- 21) R. Baserga, F. Peruzzi & K. Reiss: *Int. J. Cancer*, **107**, 873 (2003).
- 22) R. Baserga: *Expert Opin. Ther. Targets*, **9**, 753 (2005).
- 23) H. Zheng, H. Shen, I. Oprea, C. Worrall, R. Stefanescu, A. Girnita & L. Girnita: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 20620 (2012).
- 24) E. Carro & I. Torres-Aleman: *Eur. J. Pharmacol.*, **490**, 127 (2004).
- 25) D. Davilaand & I. Torres-Aleman: *Mol. Biol. Cell*, **19**, 2014 (2008).
- 26) B. Kim, K. A. Sullivan, C. Backus & E. L. Feldman: *Antioxid. Redox. Signal.*, **14**, 1829 (2011).
- 27) C. Franco, S. Fernandez & I. Torres-Aleman: *Mol. Neurodegener.*, **7**, 51, 2012.
- 28) C. Weber & H. Noels: *Nat. Med.*, **17**, 1410 (2011).
- 29) R. Stocker & J. F. Keaney Jr.: *Physiol. Rev.*, **84**, 1381 (2004).
- 30) P. Delafontaine, Y. H. Song & Y. Li: *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **24**, 435 (2004).
- 31) Y. Higashi, S. Sukhanov, A. Anwar, S. Y. Shai & P. Delafontaine: *Trends Endocrinol. Metab.*, **21**, 245 (2010).
- 32) Y. Higashi, S. Sukhanov, A. Anwar, S. Y. Shai & P. Delafontaine: *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.*, **67**, 626 (2012).
- 33) A. Bayes-Genis, C. A. Conover & R. S. Schwartz: *Circ. Res.*, **86**, 125 (2000).

- 34) 日本糖尿病学会：糖尿病，**53**, 450 (2010).
- 35) A. M. Johnson & J. M. Olefsky : *Cell*, **152**, 673 (2013).
- 36) J. I. Odegaard & A. Chawla : *Science*, **339**, 172 (2013).
- 37) 福嶋俊明, 伯野史彦, 高橋伸一郎：ホルモンと臨床，**55**, 259 (2007).
- 38) S.-I. Takahashi, M. Conti, C. Prokop, J. J. Van Wyk & H. S. Earp : *J. Biol. Chem.*, **266**, 7834 (1991).
- 39) N. Sasaki-Suzuki, K. Arai, T. Ogata, K. Kasahara, H. Sakoda, K. Chida, T. Asano, J. E. Pessin, F. Hakuno & S.-I. Takahashi : *J. Biol. Chem.*, **284**, 6061 (2009).
- 40) T. Fukushima, T. Arai, M. Ariga, H. Okajima, Y. Ooi, Y. Iijima, M. Sone, Y. Cho, Y. Ando, K. Kasahara, A. Ozoe, H. Yoshihara, K. Chida, S. Okada, J. J. Kopchick, F. Hakuno & S.-I. Takahashi : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **404**, 767 (2011).
- 41) F. Hakuno, S. Kurihara, R. T. Watson, J. E. Pessin & S.-I. Takahashi : *J. Biol. Chem.*, **282**, 37747 (2007).
- 42) T. Kabuta, F. Hakuno, Y. Cho, D. Yamanaka, K. Chida, T. Asano, K. Wada & S.-I. Takahashi : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **394**, 697 (2010).
- 43) T. Fukushima, H. Okajima, D. Yamanaka, M. Ariga-Nedachi, S. Nagata, A. Ito, M. Yoshida, T. Asano, S. Minami, K. Chida, F. Hakuno & S.-I. Takahashi : *Mol. Cell. Endocrinol.*, **344**, 81 (2011).
- 44) H. Yoshihara, T. Fukushima, F. Hakuno, Y. Saeki, K. Tanaka, A. Ito, M. Yoshida, S. Iemura, T. Natsume, T. Asano, K. Chida, L. Girnita & S.-I. Takahashi : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **423**, 122 (2012).
- 45) Y. Yoneyama, M. Matsuo, K. Take, T. Kabuta, K. Chida, F. Hakuno & S.-I. Takahashi : *Mol. Cell Biol.*, in press.

プロフィール

高橋伸一郎 (Shin-Ichiro TAKAHASHI)
 <略歴>1982年東京農工大学農学部農芸化学科卒業／1987年東京大学大学院農学系研究科農芸化学専門課程博士課程修了／同年農学博士（東京大学）の学位授与／同年東京農工大学農学部農芸化学科生物化学講座助手／1988年アメリカ合衆国ノースキャロライナ大学医学部小児内分泌研究室客員研究員／1990年東京大学農学部農芸化学科栄養化学研究室助教授／1994年東京大学大学院農学生命科学研究科応用動物科学専攻動物細胞制御学研究室助教授／2001年～2003年文部科学省研究振興局学術調査官／2007年東京大学大学院農学生命科学研究科応用動物科学専攻動物細胞制御学研究室准教授，現在に至る<研究テーマと抱負>インスリン様活性が，動物の一生でどのように調節され生命を維持しているのか，そして，進化過程でこの調節がどのような意義を有しているのかに興味があります<趣味>読書，最近あまり時間がありませんが，球技一般，ピアノや書道

伯野 史彦 (Fumihiko HAKUNO)
 <略歴>1991年東京大学理学部生物化学科卒業／1993年同大学大学院理学系研究科生物化学専攻修士課程修了／1997年同博士課程修了／同年東京大学大学院農学生命科学研究科応用動物科学専攻助手／2007年同助教<研究テーマと抱負>インスリン受容体基質を介した未知のシグナル伝達を明らかにする<趣味>競泳

亀井 宏泰 (Hiroyasu KAMEI)

<略歴>2005年東京大学大学院農学生命科学研究科水圏生物科学専攻博士課程修了／同年ミシガン大学分子細胞発生生物学研究科リサーチフェロー／2011年1月から東京大学大学院農学生命科学研究科動物細胞制御学研究室特任研究員。Ph.D.<研究テーマと抱負>インスリン・IGFシグナリング関連分子と胚の品質管理機構の関連を探りたい<趣味>コーヒー

Leonard Girnita

<略歴>2002年 Karolinska Institutet (Stockholm, Sweden) にて博士号取得／2002～2006年 Karolinska Institutet (Stockholm, Sweden) にてPostdoctoral fellow／2005年laboratory of receptor biology (PI: Robert J. Lefkowitz), HHMI, Duke University, (Durham, USA) にてPostdoctoral fellow／2008年 Karolinska Institutet (Stockholm, Sweden) にてAssociate professor. M.D., Ph.D.<研究テーマと抱負>がん細胞におけるインスリン・IGFシグナリングとGPCRシグナリングのクロストーク<趣味>世界の料理の食べ歩き（特に日本食），旅行，バスケットボール，ブリッジ

Ignacio Torres-Aleman

<略歴>1980～1981年 Pontificia University School of Nursing (Madrid, Spain) にて Assistant professor／1982年 Complutense University (Madrid, Spain) にて博士号取得／1984年までTulane University School of Medicine (New Orleans, USA) にてResearch instructor／1987～1989年Yale University School of Medicine (New Haven, USA) にて Research associate／1989年Cajal Institute, National Research Council (Madrid, Spain) Assistant professor (1993年からAssociate Professor, 2003年からProfessor). Ph.D.<研究テーマと抱負>インスリン・IGFシグナリングが脳機能に果たす役割の解明<趣味>読書，歴史探訪

東 祐輔 (Yusuke HIGASHI)

<略歴>1996年東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻博士課程修了／同年帝京大学薬学部助手／2002年Postdoctoral Fellow, Kansas University School of Medicine／2003年Postdoctoral Fellow, Tulane University School of Medicine／2006年 Assistant Professor, Tulane University School of Medicine<研究テーマと抱負>血管生物学，動脈硬化症発症機序の解明と治療アプローチの開発<趣味>音楽鑑賞 釣り

福島 俊明 (Toshiaki Fukushima)

＜略歴＞2005年東京大学大学院農学生命科学研究科応用動物科学専攻博士課程修了／2005年東京大学大学院農学生命科学研究科動物細胞制御学研究室リサーチフェロー／2010年広島大学医歯薬保健学研究院医化学研究室助教＜研究テーマと抱負＞IRSを含むシグナル分子複合体の解析から新しい糖尿病治療薬の開発へつなげたい＜趣味＞水泳（遊泳）

柴野 卓志 (Takashi SHIBANO)

＜略歴＞2005年新潟大学理学部生物学科卒業／2011年東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻博士課程修了／同年東京大学大学院農学生命科学研究科動物細胞制御学研究室研究員＜研究テーマと抱負＞インスリン様成長因子受容体のトラフィックとシグナルの関係の解明＜趣味＞読書

尾添 淳文 (Atsufumi OZOE)

＜略歴＞2007年広島大学生物生産学部生物生産学科卒業／2012年東京大学大学院農学生命科学研究科応用動物科学専攻博士課程修了／2013年日本学術振興会特別研究員PD／同年東京大学大学院農学生命科学研究科ポストドクター＜研究テーマと抱負＞インスリン受容体基質によるRNA代謝制御がインスリン／IGFの生理活性に果たす役割の解明＜趣味＞トライアスロン、ボルダリング

山中 大介 (Daisuke YAMANAKA)

＜略歴＞2004年東京大学農学部生命工学専修 卒業／2009年同大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻博士課程修了／同年日本医科大学老人病研究所ポストドクター＜研究テーマと抱負＞インスリン様成長因子の生理活性を増強するメカニズムの解明＜趣味＞バドミントン、トライアスロン