

新たな脂肪分化制御メカニズムを解明

～糖尿病の新たな治療薬開発への応用に期待～

ポイント

- ・インスリン受容体信号伝達における STAP-2 と呼ばれるタンパク質の新たな役割を発見。
- ・STAP-2 は脂肪前駆細胞の脂肪分化を促進。
- ・STAP-2 欠損マウスでは高脂肪食給餌による体重増加量が低下。

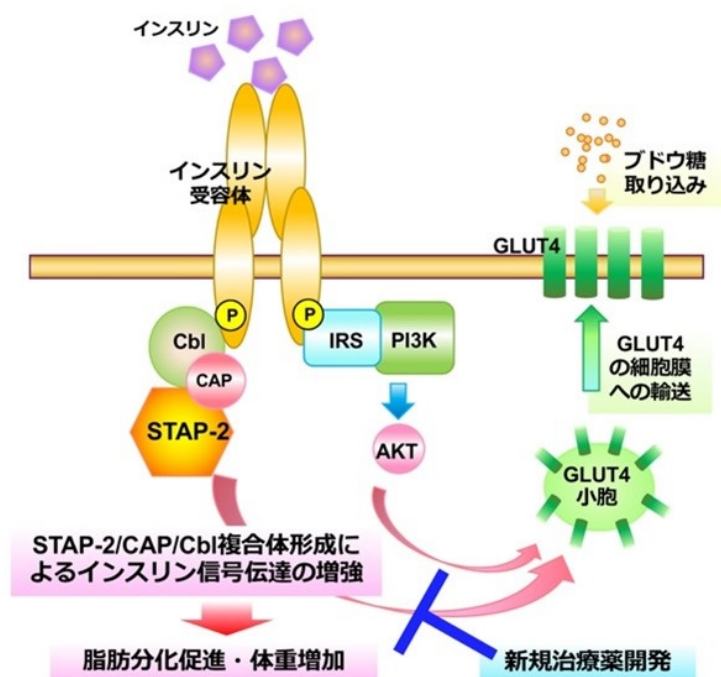
概要

北海道大学大学院薬学研究院の松田 正教授及び京都薬科大学の関根勇一講師らの研究グループは、アダプター分子*1である STAP-2 が、インスリンの働きに作用し、脂肪細胞分化と高脂肪食による体重増加に関与することを見出しました。

インスリンは細胞表面のインスリン受容体に結合し、血中ブドウ糖濃度の調節や脂肪分化を担い、肥満による糖尿病発症にも深く関与しています。

細胞内信号伝達において、リン酸化酵素を始めとする酵素群や転写因子の活性化を制御するアダプター分子の一つである Signal-transducing adaptor protein-2 (STAP-2) は、インスリン信号伝達経路を構成するタンパク質と直接結合してその働きを強めることにより、脂肪細胞分化を促進しました。また、STAP-2 の発現量により高脂肪食による体重増加が左右されたことが分かりました。そのため、STAP-2 の発現量や働きを制御することにより、糖尿病の新しい薬の開発が期待できます。

なお、本研究成果は、2024年3月9日(土)公開の Scientific Reports にオンライン掲載されました。



本研究成果により期待される、新たな糖尿病治療戦略

【背景】

生活習慣病の一つである肥満は、糖尿病（インスリン抵抗性糖尿病）、高血圧、脂質異常症など、多くの生活習慣病の原因となっています。我が国の糖尿病有病者数は約1,000万人と推計されていますが、特にインスリン抵抗性糖尿病の患者数は、増加の一途をたどっており、肥満の予防・解消は喫緊の課題となっています。そのため、インスリン受容体信号経路の制御機構の解明による、新規の治療戦略開発が期待されています。

インスリンは細胞膜上のインスリン受容体と結合し、多様な生理活性を発現します。肝臓ではグリコーゲン合成の亢進や分解の抑制、筋肉ではブドウ糖の取り込み及びグリコーゲン合成の亢進作用、脂肪細胞ではブドウ糖の取り込みの亢進と脂肪分解の抑制作用を示し、血糖値の低下をもたらす一方、脂肪細胞の脂肪関連遺伝子の発現調節や細胞増殖、分化促進を誘導します。インスリンはインスリン受容体に結合して、そのチロシンキナーゼを活性化し、IRS (insulin receptor substrate) などの基質タンパク質をリン酸化します。これらの基質タンパク質を足場に、代謝作用に関与するPI (phosphatidylinositol)-3キナーゼ経路などの信号経路が活性化されます。IRSタンパク質と結合し活性化されたPI-3キナーゼは下流のAKT (プロテインキナーゼBとも呼ばれる) キナーゼを活性化し、AKTキナーゼは細胞内に存在するグルコース輸送体タンパク質GLUT4を含む小胞に作用し、小胞の細胞膜への移行を促進します。その結果、細胞膜上のGLUT4が増加し、ブドウ糖の細胞内取り込みが促進されます。また、インスリン受容体に結合するCbl (Casitas B-lineage lymphoma) とその結合タンパク質CAP (Cbl-associated protein) を介したGLUT4小胞の細胞膜への移行促進信号伝達経路の存在も知られています。

研究グループは細胞内信号伝達において、リン酸化酵素を始めとする酵素群や転写因子の活性化を制御するアダプター分子の一つである、STAP-2タンパク質の働きについて研究してきました。本研究では、STAP-2が糖尿病発症につながるインスリン受容体信号伝達経路やインスリンによる脂肪細胞分化においてどのように働くかを検討しました。

【研究手法】

酵母ツーハイブリッド法^{*2}により新規STAP-2結合タンパク質としてCAPを同定しました。そこで、STAP-2発現を人工的に操作したヒト胎性腎癌細胞HEK293T（実験によってはGLUT4-Myc-GFPを過剰発現）やマウス線維芽細胞3T3-L1を用いて、STAP-2のインスリン作用に及ぼす影響を解析しました。まず、STAP-2とCAPの結合を始め種々の蛋白-蛋白相互作用を免疫沈降法^{*3}により検討しました。インスリン刺激後のGLUT4細胞膜移動はフローサイトメトリー法^{*4}で、細胞内信号伝達はウエスタンブロット (WB) 法^{*5}にて検討しました。さらに、インスリン刺激による3T3-L1細胞の脂肪細胞分化に及ぼすSTAP-2の影響を以下の手技にて解析しました。脂肪分化マーカーであるaP2、CEBP α 、PPAR γ などのmRNA発現はRT-qPCR法^{*6}で、脂肪分化確認は脂肪滴をオイルレッドO染色法^{*7}で評価しました。最後に、生体内でのSTAP-2のインスリン信号伝達と脂肪分化への影響を示すために、野生型及びSTAP-2欠損マウス^{*8}に高脂肪食を給餌し、体重増加量や内臓白色脂肪組織重量、肝臓重量を比較検討しました。

【研究成果】

ヒト胎性腎癌細胞のHEK293T細胞内やマウス線維芽細胞の3T3-L1細胞内で、STAP-2とCAPは特異的に結合しました。CAPはその結合タンパク質であるCblと共にインスリン信号経路において働き、グルコース輸送体GLUT4の細胞膜輸送に係わることが知られています。そのCAPとCblの相互作用は

STAP-2 存在下で増強されました。細胞膜上に発現する GLUT4 は、ブドウ糖の細胞内取り込みを促進します。STAP-2 を過剰発現させたヒト肝癌細胞株 Hep3B を用いた実験では、インスリン処理によって GLUT4 の細胞膜輸送の増強が観察されました。また、STAP-2 発現はインスリン受容体キナーゼ自身には影響しないものの、下流の AKT キナーゼの活性化増強が観察されました。脂肪前駆細胞株 3T3-L1 細胞のインスリン処理での脂肪分化誘導の実験では、STAP-2 発現により、脂肪分化マーカーである aP2、CEBP α 、PPAR γ などの mRNA 発現誘導が増強されました。興味深いことに、インスリン処理で 3T3-L1 細胞分化において STAP-2 の mRNA も誘導が観察されました。また、分化 8 日後に STAP-2 を発現させた 3T3-L1 細胞の脂肪滴をオイルレッド O 染色法により染色したところ、染色された脂肪滴は、STAP-2 を発現させなかったものと比較して、顕著に増加していることが確認されました。

最後に、野生型及び STAP-2 欠損マウスに高脂肪食を給餌し、体重増加量や内臓白色脂肪組織重量、肝臓重量を比較検討しました。STAP-2 欠損マウスの体重増加量が野生型マウスに比べて減少していること、内臓白色脂肪組織重量や肝臓重量も STAP-2 欠損マウスにおいて減少していることが確認されました。

【今後への期待】

STAP-2 が、インスリン受容体信号伝達経路を構成する CAP-Cbl 複合体形成の足場タンパク質として脂肪細胞分化に作用することが新しく示されました。肥満による糖尿病には STAP-2 を標的とした新規治療薬が有効である可能性が示唆されたことから、STAP-2 を標的とした新規治療薬の開発が進むことが期待されます。

論文情報

論文名 STAP-2 facilitates insulin signaling through binding to CAP/c-Cbl and regulates adipocyte differentiation (STAP-2 は CAP/c-Cbl との会合することにより、インスリン受容体シグナル伝達を促進し、脂肪細胞分化を制御する)

著者名 関根勇一¹、吉川和菜¹、本田祥恵¹、佐々木悠斗²、河原生知²、水嶋明宏²、碓 澄仁³、藤室雅弘¹、織谷健司⁴、松田 正² (¹京都薬科大学、²北海道大学大学院薬学研究院、³金沢医科大学総合医学研究所、⁴国際医療福祉大学医学部)

雑誌名 Scientific Reports (自然科学の国際的専門誌)

DOI 10.1038/s41598-024-56533-0

公表日 2024 年 3 月 9 日 (土) (オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院薬学研究院 教授 松田 正 (まつただし)

T E L 011-706-3243 F A X 011-706-4990 メール tmatsuda@pharm.hokudai.ac.jp

U R L <http://www.pharm.hokudai.ac.jp/eisei/index.html>

京都薬科大学薬学部 講師 関根勇一 (せきねゆういち)

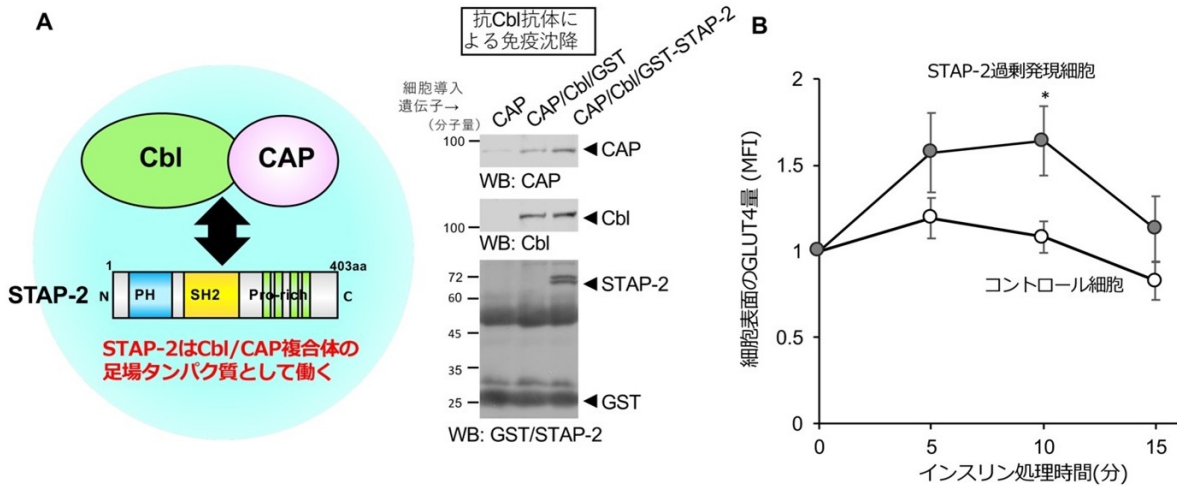
T E L 075-595-4795 メール sekine@mb.kyoto-phu.ac.jp

配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

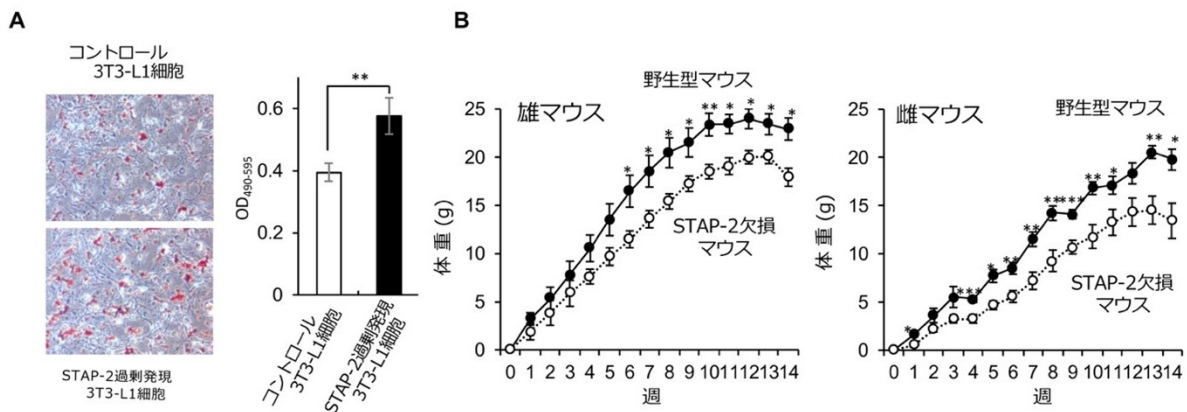
T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】



(A) STAP-2/CAP/Cbl複合体形成の検出 (免疫沈降及びWB法) (B) インスリン処理での細胞表面へのGLUT4発現誘導 * $p < 0.05$

図 1. STAP-2 は CAP-Cbl と複合体を形成し、インスリン受容体信号伝達経路を正に調節する。



(A) STAP-2による脂肪分化への影響 (オイルレッドO染色法) (B) 高脂肪食を給餌でのマウス体重変化 * $p < 0.05$ * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.005$

図 2. STAP-2 は脂肪分化を促進し、高脂肪食給餌での体重増加に関与する。

【用語解説】

- *1 アダプター分子 … 細胞内に存在するタンパク質の一種。複数のタンパク質に同時に結合する足場タンパク質として、細胞内信号伝達に関わる。
- *2 酵母ツーハイブリッド法 … 細胞内におけるタンパク質 - タンパク質の相互作用を調べる手法の一つ。酵母細胞を使用する系として開発された方法。
- *3 免疫沈降法 … 抗体を用いて分子間相互作用を解析する方法。
- *4 フローサイトメトリー法 … 蛍光標識した抗体を細胞に結合させ、細胞一つずつ解析する方法。タンパク質発現を解析することができる。
- *5 ウェスタンブロット (WB) 法 … 抗体を用いてタンパク質を検出する方法。分子量などを解析することができる。
- *6 RT-qPCR 法 … 特定の遺伝子の発現レベル検出可能な定量法。
- *7 オイルレッド O 染色法 … 細胞内の脂肪球を染色する親油性の赤色素を利用した染色方法。
- *8 STAP-2 欠損マウス … STAP-2 遺伝子がある場所を壊すことで、STAP-2 遺伝子発現を欠失しているマウス。