

平成 21年 5月 29日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19500326

研究課題名 (和文) 神経細胞のインスリン受容体シグナル：薬物による発現調節と新たな神経保護薬の探索

研究課題名 (英文) Insulin signaling in the neuronal cells: regulation of its expression by therapeutic drugs and search for novel neuroprotective drugs

研究代表者：柳田俊彦

宮崎大学・医学部・准教授

研究者番号：60295227

研究成果の概要：

神経のインスリン受容体シグナルが、神経新生や神経機能の維持・修復、学習・記憶に重要な役割を果たすこと、アルツハイマー病などの神経変性疾患において脳におけるインスリン抵抗性が起こっていることが明らかになってきた。本研究では、臨床で用いられている様々な薬物や生理活性物質、食事に含まれている成分などが、神経系のインスリン受容体シグナルに及ぼす影響について、詳細な解析を行い、以下 (1-4) の研究成果を得た。また、インスリン受容体シグナルに伴う細胞機能の変動の一つとして、電位依存性 Na チャネルの機能、細胞膜発現量の変動を解析し、派生的に (5-6) の研究成果を得た。

- (1) 神経保護作用が報告されている薬物や生理活性物質 (エストラジオール、クルクミン、ドコサヘキサエン酸、レスヴェラトロール など) は、インスリン受容体の下流のシグナル分子である IRS-1/ IRS-2 の発現増加を介してインスリン受容体シグナルを増強させた。
- (2) ニコチンの長期処置は、Protein kinase C- α -Extracellular signal-regulated kinase を順次活性化させ、インスリン受容体の下流のシグナル分子である IRS-1/IRS-2 を増加させる。
- (3) 免疫抑制薬であるサイクロスポリンや FK506 は、糖尿病や神経毒性などの副作用を有するが、これらは、カルシニューリン抑制を介して、IRS-2 の発現のみを選択的に低下させ、インスリンシグナルを著しく減弱させた。
- (4) インスリンやリチウムにより、Glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β) が抑制されると、インスリン受容体、IRS-1/IRS-2、Akt は、negative-feedback 機構により発現が減少する。
- (5) リチウムは、GSK-3 β 非依存的に Nav1.7 電位依存性 Na チャネルを抑制する一方で、GSK-3 β 依存的に電位依存性 Na チャネルの発現を増加させる。
- (6) Nav1.7 電位依存性 Na チャネルの活性化は、GSK-3 β の活性を抑制し、タウのリン酸化が減少する。

以上の研究成果は、英文原著論文 5 報、英文総説 3 報、日本語総説 1 報の合計 9 編の論文で報告した。

本申請テーマで得られた一連の研究成果は、神経系のインスリンシグナル分子群の発現調節機構を明らかにするだけでなく、痴呆や神経変性疾患の発症を未然に防ぐ、あるいは、その進行を遅らせるような、新たな予防法・治療法に関する重要な基礎情報を提供しうるものであり、今後の展開が期待される。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2100000	630000	2730000
2008年度	1950000	585000	2535000
年度			
年度			
年度			
総計	4050000	1215000	5265000

研究分野：神経科学

科研費の分科・細目：神経化学・神経薬理学

キーワード：中枢・末梢神経薬理学 インスリン受容体シグナル

科学研究費補助金研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

脳・神経系において、(1)インスリン受容体の細胞内シグナリングが、細胞生存・細胞死のシグナル伝達系を統合しており、神経新生、神経突起の伸長、axon pathfinding、神経回路網の形成・維持・修復、学習・記憶などを促進すること (J Pharmacol Exp Ther. 299:401-407. 2001、Science 300:502-503. 2003、Neuron 42:877-879. 2004)、(2)インスリン受容体とその細胞内シグナル伝達分子の発現量や機能の異常が、加齢、痴呆、神経変性疾患 (アルツハイマー病など) の病態に関与しており、インスリン投与により、ヒト健常ボランティアやアルツハイマー病患者の学習・記憶能力が回復すること (Trend Pharmacol Sci. 23:288-293. 2002、Lancet Neurol. 3:169-178. 2004) などが相次いで報告され、インスリン受容体シグナルの神経機能維持・神経保護における役割が注目されている。

私たちは、神経機能維持・神経保護に重要な役割を担うインスリンの長期処置が、電位依存性 Na⁺チャネルの細胞膜発現を著しく増加させることを見出した (J. Neurochem. 67:1401-1408, 1996)。この研究をきっかけとして、神経系のインスリン受容体シグナルの調節機構に着目し、インスリン受容体、ならびに、その下流のシグナル分子 Insulin receptor substrate (IRS)-1/-2 の発現が、様々な細胞内外の因子によって、多彩に調節されていることを明らかにしてきた。

2. 研究の目的

臨床で用いられる薬物や、食品に含まれる天然界の成分、生理活性物質などについて、インスリン受容体シグナルに対する影響を幅広くスクリーニングし、インスリン受容体シグナルを増強、あるいは、是正しうる薬物の探索と、その作用機序の解明を目指す。

インスリン受容体とその下流のシグナル伝達分子群の発現量を正しく保持することは、脳・神経系の高次機能の維持に重要であり、その発現量を薬物により制御できれば、神経変性疾患の治療に結びつく。特に、食品に含まれる天然界の成分によって、インスリンシグナル分子の発現を調節、あるいは、発現異常を是正出来れば、日常の食生活を改善することで、脳、神経系の高次機能を維持し、疾患を予防しうる。しかも、その臨床応用も容易であるというメリットをもつ。痴呆や神経変性疾患の発症を未然に防ぐ、あるいは、その進行を遅らせるような、新たな予防法・治療法に関する重要な基礎情報を提供できる可能性を秘めている。

は、その進行を遅らせるような、新たな予防法・治療法に関する重要な基礎情報を提供できる可能性を秘めている。

3. 研究の方法

(1) 臨床で用いられる薬物や、食品に含まれる天然界の成分、生理活性物質などについて、インスリン受容体シグナルに対する影響を神経堤由来の培養ウシ副腎髄質クロマフィン細胞を用いて、幅広くスクリーニングする。

アディポサイトカイン、
ポリフェノール類、
ω3系必須脂肪酸 (αリノレン酸、エイコサペンタエン酸、(ドコサヘキサエン酸))、
ω6系必須脂肪酸 (リノール酸、γ-リノレン酸、アラキドン酸)、
神経保護作用が報告されている種々の薬物 (シクロオキシゲナーゼ阻害薬、リルゾール) など

(2) スクリーニングにおいて、インスリン受容体シグナルに対する影響を認めた薬物、食品に含まれる天然界の成分、生理活性物質などについて、その細胞内機序を詳細に解析する。

免疫抑制薬 (サイクロスポリン A、FK506)、
デキサメサゾン、
エストラジオール、
プロゲステロン
Heat shock protein 90 阻害薬、
クルクミン など

(3) 細胞内機序の解析結果をベースにして、インスリン受容体シグナルに対する作用を認めた薬物、天然界の成分、生理活性物質をラット、マウスに投与 (経口、静脈内、脳室内投与) し、インスリンシグナル伝達分子の脳内における発現量、局在の変化について解析する。さらに、学習・記憶・行動の変化について、解析を行い、インスリンシグナル伝達分子の発現の変化との相関を検討する。

ニコチン、リチウム など

4. 研究成果

臨床で用いられている様々な薬物や生理活性物質、食事に含まれている成分などが、神経系のインスリン受容体シグナルに及ぼす影響について、詳細な解析を行い、以下(1-4)の研究成果を得た。また、インスリン受容体シグナルに伴う細胞機能の変動の一つとして、電位依存性Naチャンネルの機能、細胞膜発現量の変動を解析し、派生的に(5-6)の研究成果を得た。

- (1) 神経保護作用が報告されている薬物や生理活性物質(エストラジオール、クルクミン、ドコサヘキサエン酸、レスヴェラトロールなど)は、インスリン受容体の下流のシグナル分子であるIRS-1/IRS-2の発現増加を介してインスリン受容体シグナルを増強させた。
- (2) ニコチンの長期処置は、Protein kinase C- α -Extracellular signal-regulated kinaseを順次活性化させ、インスリン受容体の下流のシグナル分子であるIRS-1/IRS-2を増加させる。
- (3) 免疫抑制薬であるサイクロスポリンやFK506は、糖尿病や神経毒性などの副作用を有するが、これらは、カルシニューリン抑制を介して、IRS-2の発現のみを選択的に低下させ、インスリンシグナルを著しく減弱させた。
- (4) インスリンやリチウムにより、Glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β)が抑制されると、インスリン受容体、IRS-1/IRS-2、Aktは、negative-feedback機構により発現が減少する。
- (5) リチウムは、GSK-3 β 非依存的にNav1.7電位依存性Naチャンネルを抑制する一方で、GSK-3 β 依存的に電位依存性Naチャンネルの発現を増加させる。
- (6) Nav1.7電位依存性Naチャンネルの活性化は、GSK-3 β の活性を抑制し、タウのリン酸化が減少する

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 9件)

(1) Yanagita T, Maruta T, Uezono Y, Satoh S, Yoshikawa N, Nemoto T, Kobayashi H, Wada A.

Lithium inhibits function of voltage-dependent sodium channels and catecholamine secretion independent of glycogen synthase kinase-3 in adrenal chromaffin cells.

Neuropharmacology. 2007 537:881-889.

(2) Yokoo H, Nemoto T, Yanagita T, Satoh S, Yoshikawa N, Maruta T, Wada A.

Glycogen synthase kinase-3 β : homologous regulation of cell surface insulin receptor level via controlling insulin receptor mRNA stability in adrenal chromaffin cells.

J Neurochem. 2007 103:1883-1896.

(3) Wada A, Wanke E, Gullo F, Schiavon E.

Voltage-dependent Na(v)1.7 sodium channels: multiple roles in adrenal chromaffin cells and peripheral nervous system.

Acta Physiol (Oxf). 2008. 192:221-231.

(4) Maruta T, Yanagita T, Matsuo K, Uezono Y, Satoh S, Nemoto T, Yoshikawa N, Kobayashi H, Takasaki M, Wada A.

Lysophosphatidic acid-LPA₁ receptor-Rho-Rho kinase-induced up-regulation of Nav1.7 sodium channel mRNA and protein in adrenal chromaffin cells: enhancement of ²²Na⁺ influx, ⁴⁵Ca²⁺ influx and catecholamine secretion.

J Neurochem. 2008 105:401-412.

(5) Nemoto T, Kanai T, Yanagita T, Satoh S, Maruta T, Yoshikawa N, Kobayashi H, Wada A.

Regulation of Akt mRNA and protein levels by glycogen synthase kinase-3 β in adrenal chromaffin cells: effects of LiCl and SB216763.

Eur J Pharmacol. 2008 586:82-89.

(6) Satoh S, Yanagita T, Maruta T, Nemoto T, Yoshikawa N, Kobayashi H, Tono T, Wada A.

Proteasomal degradation of IRS-2, but not IRS-1 by calcineurin inhibition: attenuation of insulin-like growth factor-I-induced GSK-3 β and ERK pathways in adrenal chromaffin cells.

Neuropharmacology. 2008 55:71-79.

(7) Nemoto T, Yanagita T, Kanai T, Wada A.

Drug development targeting the glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β)-mediated signal transduction pathway: the role of GSK-3 β in the maintenance of steady-state levels of insulin receptor signaling molecules and Na(v)1.7 sodium channel in adrenal chromaffin cells.
J Pharmacol Sci. 2009 109:157-161.

(8) Wada A.

GSK-3 inhibitors and insulin receptor signaling in health, disease, and therapeutics.
Front Biosci. 2009 14:1558-1570.

(9) 柳田俊彦、根本隆行、和田明彦

疾患と神経新生：糖尿病
Clinical Neuroscience, 2008 26 : 884-886.

[学会発表] (計 26 件)

(1) 丸田豊明、柳田俊彦、松尾清隆、上園保仁、和田明彦、高崎真弓
リゾフォスファチジン酸による電位依存性 Na⁺チャンネル機能と細胞膜発現量の変化。
日本麻酔科学会第 54 回学術集会。
札幌市。2007 年 5 月

(2) 吉川教恵、柳田俊彦、佐藤伸矢、根本隆行、丸田豊明、金井祐、横尾宏毅、小林英幸、和田明彦
Heat Shock Protein 90 (Hsp90)によるインスリン受容体シグナル分子の発現調節。
第 11 回宮崎 Neuroscience 研究会。
宮崎市。2007 年 9 月

(3) 丸田豊明、柳田俊彦、佐藤伸矢、吉川教恵、根本隆行、金井祐、横尾宏毅、小林英幸、和田明彦
リゾフォスファチジン酸 (LPA) による電位依存性 Na⁺チャンネル・Na_v1.7 の細胞膜発現量増加。
第 11 回宮崎 Neuroscience 研究会。
宮崎市。2007 年 9 月

(4) 丸田豊明、柳田俊彦、松尾清隆、上園保仁、佐藤伸矢、根本隆行、吉川教恵、小林英幸、和田明彦
リゾフォスファチジン酸による Nav1.7Na⁺チャンネルの細胞膜発現量の増加とカテコールアミン開口分泌増強。
第 35 回薬物活性シンポジウム。
広島市。2007 年 11 月

(5) 丸田豊明、柳田俊彦、松尾清隆、上園保仁、佐藤伸矢、根本隆行、吉川教恵、小林英

幸、和田明彦

リゾフォスファチジン酸による Nav1.7Na⁺チャンネルの細胞膜発現量増加。
第 60 回日本薬理学会西南部会。
宮崎市。2007 年 11 月

(6) 根本隆行、金井祐、柳田俊彦、佐藤伸矢、丸田豊明、吉川教恵、小林英幸、和田明彦
Glycogen synthase kinase-3 β 活性変動による protein kinase B/Akt の発現調節。
第 60 回日本薬理学会西南部会。
宮崎市。2007 年 11 月

(7) 丸田豊明、柳田俊彦、松尾清隆、上園保仁、佐藤伸矢、根本隆行、吉川教恵、金井祐、小林英幸、和田明彦
リゾフォスファチジン酸による電位依存性 Na⁺チャンネル機能と細胞膜発現量の変化。
第 1 回トランスポーター研究会。
熊本市。2007 年 11 月

(8) 柳田俊彦、丸田豊明、上園保仁、松尾清隆、吉川教恵、根本隆行、金井祐、小林英幸、和田明彦
抗躁薬リチウムによる電位依存性 Na⁺チャンネルの抑制と細胞膜発現量の増加
第 1 回トランスポーター研究会。
熊本市。2007 年 11 月

(9) 根本隆行、柳田俊彦、佐藤伸矢、丸田豊明、吉川教恵、金井祐、小林英幸、和田明彦
インスリンシグナルにおける GSK-3 β の役割。
第 81 回日本薬理学会年会。
横浜市。2008 年 3 月

(10) 丸田豊明、柳田俊彦、松尾清隆、上園保仁、佐藤伸矢、根本隆行、吉川教恵、金井祐、小林英幸、和田明彦
リゾフォスファチジン酸は LPA₁ 受容体-Rho-Rho kinase を介して電位依存性 Na_v1.7 Na⁺チャンネルの細胞膜発現量と ⁴⁵Ca²⁺ influx・カテコールアミン開口分泌を増加させる。
第 81 回日本薬理学会年会。
横浜市。2008 年 3 月

(11) 柳田俊彦、金井祐、丸田豊明、根本隆行、吉川教恵、小林英幸、和田明彦
Glycogen synthase kinase-3 β を介する電位依存性 Na⁺チャンネル細胞膜発現の positive-feedback regulation。
第 81 回日本薬理学会年会。
横浜市。2008 年 3 月

(12) 吉川教恵、柳田俊彦、丸田豊明、根本隆行、金井祐、小林英幸、和田明彦
Heat shock protein 90 によるインスリン受容体シグナル分子の発現調節。

第 81 回日本薬理学会年会.
横浜市. 2008 年 3 月

(13) 小林英幸, 丸田豊明, 吉川教恵, 根本隆行, 金井祐, 柳田俊彦, 和田明彦
ラット脳微小血管に発現しているアグリンの生理機能.

第 81 回日本薬理学会年会.
横浜市. 2008 年 3 月

(14) 金井祐, 柳田俊彦, 根本隆行, 丸田豊明, 吉川教恵, 小林英幸, 和田明彦
Na⁺チャネル活性は glycogen synthase kinase 3 β の Ser⁹リン酸化を制御する: 培養副腎髄質細胞における検討.

第 81 回日本薬理学会年会.
横浜市. 2008 年 3 月

(15) 柳田俊彦, 丸田豊明, 上園保仁, 松尾清隆, 吉川教恵, 根本隆行, 金井祐, 和田明彦

抗躁薬リチウムの電位依存性 Na⁺チャネルに及ぼす影響: GSK-3 β 非依存性の機能抑制と GSK-3 β 依存性の細胞膜発現増加.

第 3 回トランスポーター研究会年会.
京都市. 2008 年 6 月

(16) 金井祐, 柳田俊彦, 根本隆行, 丸田豊明, 吉川教恵, 和田明彦

Na⁺チャネル活性による glycogen synthase kinase 3 β の Ser⁹リン酸化の制御.

第 3 回トランスポーター研究会年会.
京都市. 2008 年 6 月

(17) 柳田俊彦, 丸田豊明, 根本隆行, 上園保仁, 松尾清隆, 金井祐, 宮崎智, 和田明彦

リチウムの電位依存性 Na⁺チャネルに及ぼす影響: GSK-3 β 非依存性の機能抑制と GSK-3 β 依存性の細胞膜発現増加.

第 12 回宮崎 Neuroscience 研究会.
宮崎市. 2008 年 8 月

(18) 根本隆行

Glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β) による insulin/insulin-like growth factor-I (IGF-I) 受容体シグナル分子群の発現調節.

第 12 回宮崎 Neuroscience 研究会.
宮崎市. 2008 年 8 月

(19) Maruta T., Yanagita T., Nemoto T., Wada A., Tsuneyoshi I.

Lysophosphatidic acid up-regulated cell surface Na_v1.7 sodium channels in adrenal chromaffin cells.

American Society of Anesthesiologists.
2008 Annual Meeting.

Orlando, FL., USA. 2008 年 10 月

(20) 金井祐, 柳田俊彦, 根本隆行, 宮崎智, 和田明彦

電位依存性 Na_v1.7 Na⁺チャネルは glycogen synthase kinase-3 β を抑制し, tau のリン酸化量を減少させる.

第 61 回日本薬理学会西南部会.
米子市. 2008 年 11 月

(21) 根本隆行, 柳田俊彦, 金井祐, 宮崎智, 和田明彦

Insulin-like growth factor-I 受容体発現調節機構の解明.

第 61 回日本薬理学会西南部会.
米子市. 2008 年 11 月

(22) 金井祐, 根本隆行, 宮崎智, 柳田俊彦, 和田明彦: 電位依存性 Na_v1.7 Na⁺チャネル活性による glycogen synthase kinase-3 β の抑制と, tau のリン酸化量の減少.

日本薬学会九州支部大会.
延岡市. 2008 年 12 月

(23) 柳田俊彦, 根本隆行, 和田明彦

インスリン受容体と IGF-I 受容体の細胞膜発現調節機序

第 81 回日本薬理学会年会.
横浜市. 2009 年 3 月

(24) 根本隆行, 柳田俊彦, 金井祐, 宮崎智, 和田明彦

インスリン様成長因子受容体の発現調節機構

第 81 回日本薬理学会年会.
横浜市. 2009 年 3 月

(25) 金井祐, 柳田俊彦, 根本隆行, 宮崎智, 和田明彦

Na_v1.7 Na⁺チャネル活性は glycogen synthase kinase-3 β を介して tau リン酸化を抑制する

第 81 回日本薬理学会年会.
横浜市. 2009 年 3 月

(26) 宮崎智, 根本隆行, 金井祐, 柳田俊彦, 和田明彦

Na_v1.7 Na⁺チャネルの活性化は ERK と p38 のリン酸化を増加する

第 81 回日本薬理学会年会.
横浜市. 2009 年 3 月

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況（計0件）

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柳田俊彦

(2) 研究分担者

和田明彦

根本隆行

(3) 連携研究者