

令和 4 年 6 月 18 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09027

研究課題名(和文) インスリン受容体切断機構による糖尿病関連疾患群の共通基盤の解明

研究課題名(英文) Clarification of common mechanism in diabetes-related diseases by insulin receptor cleavage

研究代表者

湯浅 智之 (YUASA, Tomoyuki)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・特任准教授

研究者番号：50304556

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：可溶性インスリン受容体(sIR)はインスリン受容体をカルパイン2が細胞外で切断することにより産生され、セクレターゼによる連続的な切断がインスリンシグナルを抑制することから血中sIRレベルはインスリン抵抗性に相関する。妊婦sIR値はエストロゲン値と正に相関し、*in vitro*系ではエストロゲンによるインスリン受容体の切断がインスリン抵抗性を招く。その分子機構は高グルコースによるものと共通でありエクソソーム系を促進したが、エストロゲンはカルパイン2発現量も増大させた。以上のことから、エストロゲンによるインスリン受容体切断の促進は妊娠期の糖尿病におけるインスリン抵抗性の病態を担う可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトの糖代謝は複数のホルモンにより調節されており、その調整機構が破綻し血糖値の上昇が持続する疾患が糖尿病である。インスリン作用が減弱する病態であるインスリン抵抗性は2型糖尿病において良く知られているが、一方で妊娠やがん、アルツハイマー型認知症など糖尿病との関連が深い疾患群においてもそれぞれの病態に関係があるとされている。しかしながら、これら疾患群に共通する分子機構は明らかになっていない。本研究は我々が提唱する「インスリン受容体2段階切断によるインスリン抵抗性病態モデル」を妊娠期のインスリン抵抗性に拡張し、この成果は本病態モデルがインスリン抵抗性関連疾患群に共有されるものである可能性を示唆した。

研究成果の概要(英文)：Soluble insulin receptor (sIR), which is the ectodomain of insulin receptor (IR), is present in human plasma. Plasma sIR levels are positively correlated with blood glucose levels and negatively correlated with insulin sensitivity. An *in vitro* model of IR cleavage shows that extracellular calpain 2 directly cleaves IR, which generates sIR, and sequential cleavage of the IR subunit by α -secretase impairs insulin signaling. In this study, we showed that sIR levels in pregnant women were positively correlated with estrogen levels. Using an *in vitro* model, estrogen elicited IR cleavage and caused cellular insulin resistance, and those molecular mechanisms were shared with those by high glucose levels. Estrogen upregulated calpain 2 expression and promoted exosome secretion, which significantly increased extracellular calpain2. Therefore, estrogen-induced IR cleavage could be an etiology of insulin resistance in gestational diabetes mellitus and overt diabetes during pregnancy.

研究分野：糖尿病学

キーワード：可溶性インスリン受容体 インスリン抵抗性 妊娠糖尿病 女性ホルモン

1. 研究開始当初の背景

インスリン受容体に起因するインスリンシグナルは、下等な生物から高等生物に至るまで保存されており生体の恒常性維持に不可欠なシグナル伝達経路の一つである。臨床医学的にはインスリンシグナルが阻害される病態としてインスリン抵抗性が良く知られている。

我々は、インスリン受容体の細胞外ドメインが可溶性インスリン受容体 (soluble insulin receptor; sIR) としてヒト血中に存在していることを報告し、この分子の ELISA 測定法を確立することにより健常者群と比較して糖尿病患者群において sIR が有意に増加していることを見出した (*Diabetes*, 2007)。さらにヒト培養細胞株を用いて本事象を再現する *in vitro* 系を構築 (*Yuasa et al., BBRC*, 2014) し、インスリン受容体はカルパイン 2 と セクレターゼにより 2 段階の切断を受けていること、切断によりインスリンシグナルが抑制されインスリン抵抗性を招くこと、さらに、切断の抑制はインスリン抵抗性を改善することを示した。臨床医学的には、2 型糖尿病患者の血中 sIR 値がインスリンクランプ法によるインスリン感受性と負に相関することからインスリン抵抗性の一因でありうることを示してきた (*Yuasa et al.*, 2016)。このように血中 sIR 値は生体のインスリン抵抗性と相関し、細胞レベルで明らかとなった分子機構によりその因果関係が証明されている。

インスリン抵抗性は 2 型糖尿病の病態としてよく知られているが、妊娠や癌、アルツハイマー病などにおいてもそれぞれの病態を担うとされる。インスリン抵抗性を担う分子機構として様々な報告がなされている一方で、その基盤となる共通の分子機構は明らかになっていない。インスリン抵抗性が関わる疾患群を横断する分子機構の存在を証明することは、これらの疾患に対する共通の治療標的を提示することにも繋がり当該研究領域において最も重要な課題の一つであると言える。

2. 研究の目的

妊娠糖尿病は妊娠時にはじめて指摘される糖代謝異常であり、胎盤性ホルモンにより惹起されるインスリン抵抗性がその主因とされるがその詳細な分子機構は明らかとなっていない。本研究によりインスリン受容体切断機構が妊娠期のインスリン抵抗性に関わることを実証し、インスリン抵抗性に関連する疾患群に共有される病態モデルであることを示すことを目的とする。

3. 研究の方法

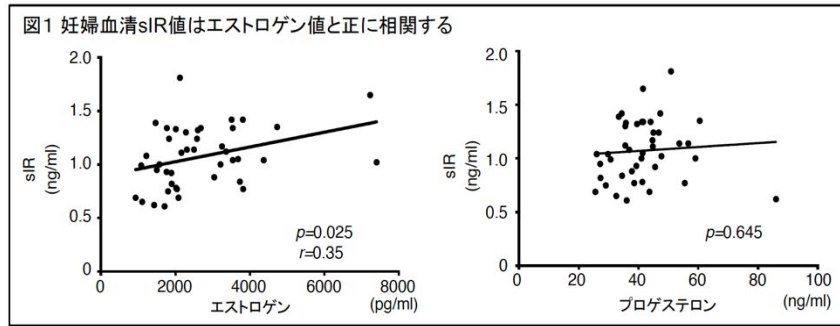
(1) 正常妊娠の経過における血中 sIR 値の変動を調査する。

(2) インスリン受容体切断を再現する *in vitro* 系を用いて妊娠期のインスリン受容体切断の分子機構を明らかにする。

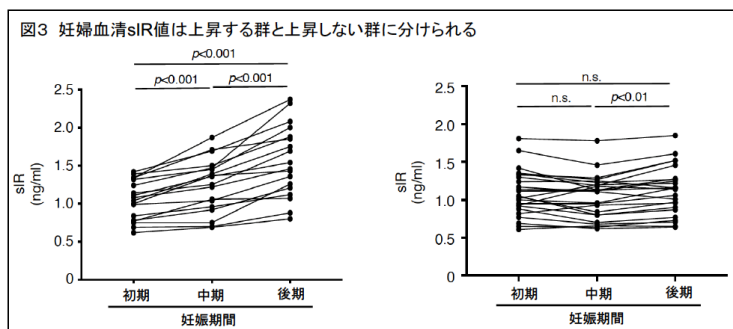
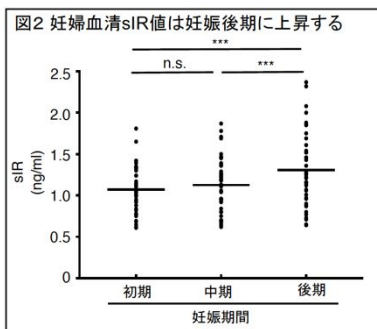
(3) 妊娠期のインスリン受容体切断に対し妊娠糖尿病の治療に使用されるメトホルミンの効果を検証する。

4. 研究成果

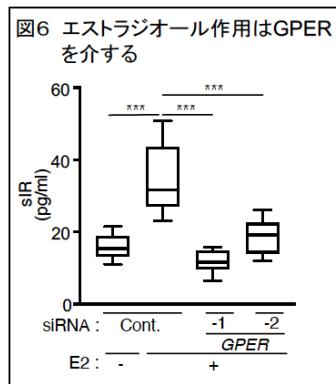
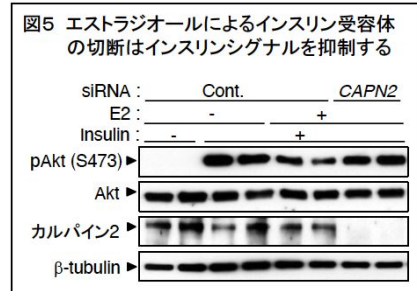
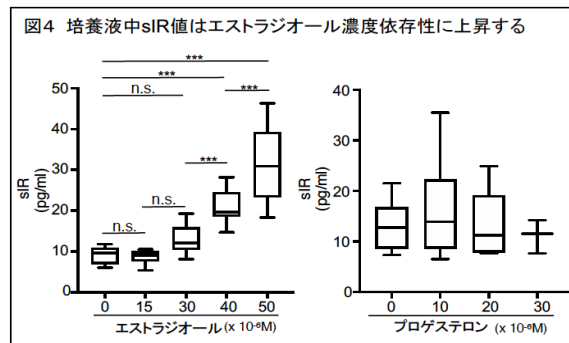
(1) 妊婦血清中の sIR 値はエストロゲンと正に相関し、プロゲステロンとは相関を認めなかった(図1)。また、妊娠経過を通じて妊婦血清 sIR 値は上昇し、妊娠後期には前



期・中期と比較して有意に高値を示した(図2)。さらに、妊娠期間中に血中 sIR 値が上昇する群と上昇しない群に分けることが可能性あり前者においては妊娠期間を通じて有意に sIR 値が上昇した(図3)。両者を分ける要因については明らかにできなかったがエストロゲン受容体の遺伝子多型による作用機序の違いによる可能性が考察された。

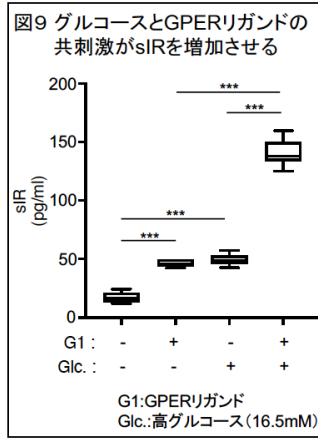
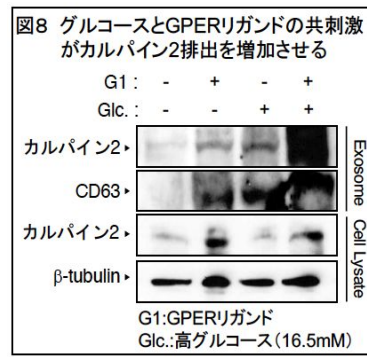
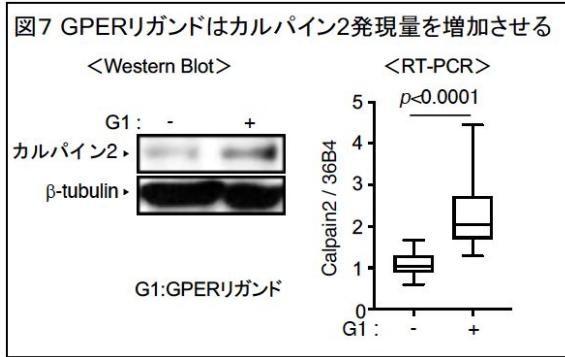


(2) *in vitro*系を用いた検討では、上記の臨床研究の結果に一致するようにエストラジオール(E2)が培養液中sIRを増加させる一方でプロゲステロンは反応を示さなかった(図4)。エストラジオール(E2)によるインスリン受容体切断分子機構については、先の報告(Yuasa *et al.*, 2016)と同様に第1段階としてカルパイン2がインスリン受容体細胞外ドメインを切断し、第2段階としてセクレターゼが細胞膜通過ドメインを切断していることが明らかとなった。さらに、エストラジオール(E2)によるインスリン受容体切断の促進はインスリンシグナル(リン酸化Akt; pAkt)を抑制し、切断の抑制はインスリン抵抗性を回復した(図5)。エストラジオール(E2)はその受容体の一つであるGタンパク共役エストロゲン受容体(GPER)を介してその切断促進作用を発揮しているが(図6)高グルコースによる切断促進の際に明らかとなったエクソソーム経路の活性化によるカルパイン2細胞外放出の促進とともにカルパイン2の細胞内発現そのものを活性化していることも明らかとなった(図7)。このため高グルコースとGPERリガンド(G1)による共刺激ではエクソソーム系を介するカルパイン2排出(図8)とsIR産生(図9)が相乗的に増加した。この結果は、糖尿病患者



の一方、高グルコースとGPERリガンド(G1)による共刺激ではエクソソーム系を介するカルパイン2排出(図8)とsIR産生(図9)が相乗的に増加した。この結果は、糖尿病患者

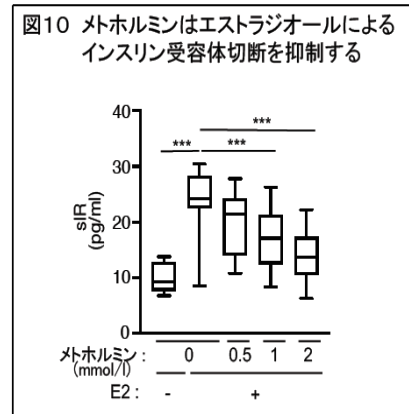
における妊娠が著しいインスリン抵抗性を招く病態を説明しうるものであった。



(3) メトホルミンはエクソソーム系の抑制によりカルパイン2の細胞外排出を抑制しインスリン受容体の切断も抑制する (Yuasa *et al.*, 2016)。本研究において明らかとなったエストラジオール (E2) によるインスリン受容体の切断 (sIR産生) もメトホルミンにより抑制された (図10)。これにより妊娠糖尿病に対するメトホルミンの治療効果を説明する分子機構の一端が解明された。

以上の成果は、エストロゲンによりインスリン受容

体が切断される分子機構の詳細を明らかにし、我々が提唱する「インスリン受容体2段階切断によるインスリン抵抗性病態モデル」を妊娠期のインスリン抵抗性に拡張するものとなった。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yuasa Tomoyuki, Takata Yasunori, Aki Nanako, Kunimi Kotaro, Satoh Miki, Nii Mari, Izumi Yoshihiko, Otsuda Toshiki, Hashida Seiichi, Osawa Haruhiko, Aihara Ken-ichi	4. 巻 9
2. 論文標題 Insulin receptor cleavage induced by estrogen impairs insulin signaling	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMJ Open Diabetes Research & Care	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1136/bmjdr-2021-002467	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 湯浅智之 安藝菜奈子 國見幸太郎 佐藤美紀 新居真里 和泉佳彦 高田康徳 乙田敏城 大澤春彦 橋田誠一 栗飯原賢一
2. 発表標題 インスリン受容体切断が妊娠期に果たすインスリン作用調節機構の可能性
3. 学会等名 第62回糖尿病学会総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------