

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 14 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21500350

研究課題名（和文） 神経細胞のインスリン受容体シグナル制御機構の解明：インスリン抵抗性改善を目指して

研究課題名（英文） Investigation of the regulatory mechanism of neuronal insulin receptor signaling in pursuit of the improvement of insulin resistance.

研究代表者

柳田 俊彦（YANAGITA TOSHIHIKO）

宮崎大学・医学部・准教授

研究者番号：60295227

研究成果の概要（和文）：

神経におけるインスリン抵抗性が、認知症やアルツハイマー病に関与することが明らかとなり、神経のインスリン受容体シグナルが、新たな治療標的として注目されている。本研究では、神経保護作用が報告されている薬物（ニコチン、エストラジオール、クルクミン、ドコサヘキサエン酸など）が、インスリン受容体のシグナルを増強させる一方、神経毒性が報告されている薬物（免疫抑制薬、アルコールなど）では、シグナルの減弱が見られることを見出し、その細胞内メカニズムを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

Dysregulated insulin receptor signaling (insulin resistance) may be involved in dementia and neurodegenerative disease (e.g. Alzheimer's disease), thus insulin receptor signaling being the major molecular targets of neuroprotective drugs. In the present study, we have demonstrated that the insulin receptor signaling was up- and down-modulated by several therapeutic drugs and bioactive agents (e.g. nicotine, crucmin, docosahexaenoic acid, immunosuppressants and alcohol) via multiple intracellular mechanisms.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・(神経化学・神経薬理学)

キーワード：細胞内情報伝達、インスリン受容体シグナル、神経変性疾患、認知症、神経保護、神経障害

1. 研究開始当初の背景

脳・神経系において、インスリン受容体シグナルが、神経新生、神経突起の伸長、神経回路網の形成・維持・修復、記憶・学習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)、インスリン受容体とその下流のシグナル伝達分子の発現量や機能の異常が、痴呆、神経変性疾患 (アルツハイマー病など) の病態に関与していることが明らかとなってきた (Trend Pharmacol Sci. 23:288-293. 2002; J Pharmacol Sci 99:128-143. 2005)。さらに、糖尿病患者においてアルツハイマー病の発症が有意に増加するという臨床報告 (Neurology 53. 1937-1942. 1999、Lancet Neurology 5. 64-74. 2006) がきっかけとなり、糖尿病やアルツハイマー病モデル実験動物の脳において、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 (Neuroscience 90. 737-745. 1999; Neurosci Biobehav Rev. 25. 311-323. 2001)。それを裏付けるように、インスリンを点鼻投与 (脳内に速やかに移行する) すると、実験動物のみならず、健常成人やアルツハイマー病患者においても、記憶・学習が改善されることが明らかとなった (Lancet Neurol. 3:169-178. 2004; Proc Natl Acad Sci U S A. 101. 3100-3105. 2004; J. Neurol. Sci. 245. 21-33. 2006)。

これらの知見は、認知症や神経変性疾患の予防や治療として、神経系のインスリン受容体シグナル異常を是正することの有効性を示唆している。

2. 研究の目的

本研究では、神経系におけるインスリン抵抗性の改善を目指して、神経系のインスリン受容体シグナルを増強させる薬物・生理活性物質について、作用機序の詳細な解析を行う。

本研究の成果は、神経系のインスリン受容体シグナル分子の発現調節機構を解明するという学術的な意義だけでなく、認知症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。

3. 研究の方法

神経系のインスリン受容体シグナルを増強させる可能性をもつ薬物・生理活性物質・食品中に含まれる成分について、以下の検討を行う。

(1) 発現が変動するインスリン受容体シグナル分子の同定と細胞内機序の解析

培養細胞系 (神経堤由来のウシ副腎髄質細胞、PC12 細胞、海馬培養細胞、グリア細胞) を用いて、インスリン受容体、および、その下流のシグナル分子群の発現の変動とその細胞内機序を詳細に解析する。

(2) 動物実験モデルラットにおける効果解析
インスリン抵抗性の改善が期待されるものについては、動物実験モデルラット (アルツハイマーモデルラット、I型/II型糖尿病モデルラット)、および正常ラットに投与し、インスリン受容体シグナル伝達分子群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。

4. 研究成果

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)-(5) 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 (6)-(8) 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（ニコチン、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 insulin receptor substrate (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) Heat shock protein 90 (Hsp90) のシャペロン活性は、インスリン受容体、IGF-I 受容体、IRS-1/IRS-2 の発現量の制御に大きく関与している。Hsp90 のシャペロン活性を抑制すると、インスリン受容体、IGF-I 受容体の前駆体蛋白の2量体が阻害され、細胞膜発現量が減少する。同時に、IRS-1 蛋白は減少する（転写の抑制と蛋白分解の亢進のため）一方、IRS-2 蛋白は増加する（転写の亢進のため）。

(3) 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、IGF-I 受容体、IRS-1/IRS-2、Akt は、negative-feedback 機構により様々な細胞内機序を介して発現が減少する。

(4) アルコールは、インスリンのインスリン受容体への結合を阻害することにより、インスリンシグナルを減弱させた。

(5) 副腎髄質細胞におけるインスリンの長期処置は、PI3K~mTOR を介して Tau 蛋白合成を増加させ、神経様突起の伸長を促進する。

(6) 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

(7) 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

(8) Insulin-like growth factor-1 は、GSK-3 β の抑制を介して電位依存性 Na チャネルの発現を増加させる。

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 12 件)

1. Yanagita T, Maruta T, Nemoto T, Uezono Y, Matsuo K, Satoh S, Yoshikawa N, Kanai T, Kobayashi H, Wada A.
Chronic lithium treatment up-regulates cell surface Nav1.7 sodium channels via inhibition of glycogen synthase kinase-3 in adrenal chromaffin cells: enhancement of Na⁺ influx, Ca²⁺ influx and catecholamine secretion after lithium withdrawal.
Neuropharmacology 2009; 57: 311-321. 査読有り
2. Kanai T, Nemoto T, Yanagita T, Maruta T, Satoh S, Yoshikawa N, Wada A.
Nav1.7 sodium channel-induced Ca²⁺ influx decreases tau phosphorylation via glycogen synthase kinase-3 β in adrenal chromaffin cells.
Neurochemistry International 2009; 54: 497-505. 査読有り
3. 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 Nav1.7 sodium channel in adrenal chromaffin cells.
Journal of Pharmacological Sciences 2009; 109: 157-161. 査読有り
4. Wada A.
Lithium and neuropsychiatric therapeutics: neuroplasticity via glycogen synthase kinase-3 β , β -catenin, and neurotrophin cascades.
Journal of Pharmacological Science 2009; 110:14-28. 査読有り
5. Yoshikawa N, Nemoto T, Satoh S, Maruta T, Yanagita T, Chosa E, Wada A.
Distinct regulation of insulin receptor

- substrate-1 and -2 by 90-kDa heat-shock protein in adrenal chromaffin cells. *Neurochemistry International* 2010; 54: 497-505. 査読有り
6. Nemoto T, Satoh S, Maruta T, Kanai T, Yoshikawa N, Miyazaki S, Yanagita T, Wada A. Homologous posttranscriptional regulation of insulin-like growth factor-I receptor level via glycogen synthase kinase-3 β and mammalian target of rapamycin in adrenal chromaffin cells: effect on tau phosphorylation. *Neuropharmacology* 2010; 58: 1097-1108. 査読有り
 7. Nemoto T, Miyazaki S, Kanai T, Maruta T, Satoh S, Yoshikawa N, Yanagita T, Wada A. Na_v1.7-Ca²⁺ influx-induced increased phosphorylations of extracellular signal-regulated kinase (ERK) and p38 attenuate tau phosphorylation via glycogen synthase kinase-3 β : priming of Na_v1.7 gating by ERK and p38. *European Journal of Pharmacology* 2010; 640: 20-28. 査読有り
 8. 根本隆行、柳田俊彦、和田明彦. グリコーゲン合成酵素キナーゼ 3 β *日本薬理学雑誌* 2010; 135: 171-172. 査読有り
 9. Maruta T, Nemoto T, Satoh S, Kanai T, Yanagita T, Wada A, Tsuneyoshi I. Dexmedetomidine and clonidine inhibit the function of Na_v1.7 independent of α_2 -adrenoceptor in adrenal chromaffin cells. *Journal of Anesthesia* 2011; 25: 549-557. 査読有り
 10. Yokoyama T, Minami K, Sudo Y, Horishita T, Ogata J, Yanagita T, Uezono Y. Effects of sevoflurane on voltage-gated sodium channel Na_v1.8, Na_v1.7, and Na_v1.4 expressed in *Xenopus oocytes*. *Journal of Anesthesia* 2011; 25: 609-613. 査読有り
 11. Yanagita T, Satoh S, Uezono Y, Matsuo K, Nemoto T, Maruta T, Yoshikawa N, Iwakiri T, Minami K, Murakami M. Transcriptional up-regulation of cell surface Na_v1.7 sodium channels by insulin-like growth factor-1 via inhibition of glycogen synthase kinase-3 β in adrenal chromaffin cells: enhancement of ²²Na⁺ influx, ⁴⁵Ca²⁺ influx and catecholamine secretion. *Neuropharmacology* 2011; 61: 1265-1274. 査読有り
 12. Nemoto T, Yanagita T, Satoh S, Maruta T, Kanai T, Murakami M, Wada A. Insulin-induced neurite-like process outgrowth: Acceleration of tau protein synthesis via a phosphoinositide 3-kinase ~ mammalian target of rapamycin pathway. *Neurochemistry International* 2011; 59: 880-888. 査読有り
- [学会発表] (計 27 件)
- <シンポジウム (招待講演) >
1. 柳田俊彦、根本隆行、宮崎智、和田明彦 神経系のインスリン受容体シグナル分子群の機能・発現調節機構
トランスポーター研究会 第3回九州部会
シンポジウム 「トランスポーター研究 基礎から臨床へ」 2009年11月21日
 2. Yanagita T, Nemoto T, Wada A. Function and cell surface expression of insulin receptor and IGF-I receptor in neuronal cells. *BIT Life Sciences 3rd Annual Protein and Peptide Conference*, 2010年3月22日
 3. 柳田俊彦、根本隆行、佐藤伸矢、吉川教恵、丸田豊明、村上学 神経系のインスリン受容体・IGF-1受容体シグナル分子群の機能・発現調節機構
日光シンポジウム 2011年12月17日

4. Yanagita T, Satoh S, Nemoto T, Yoshikawa N, Murakami M.
Regulation of cell surface expression of insulin receptor and IGF-1 receptor by heat shock protein 90.
BIT Life Sciences 5th Annual Protein and Peptide Conference, 2012年3月24日
- < 一般発表 >
5. 柳田俊彦、丸田豊明、上園保仁、松尾清隆、吉川教恵、根本隆行、和田明彦
抗躁薬リチウムによる電位依存性 Na⁺チャネルの機能・発現調節：GSK-3β非依存性の機能抑制とGSK-3β依存性の細胞膜発現増加
日本分子生物学会 第9回春季シンポジウム 2009年5月11日
6. 根本隆行、柳田俊彦、宮崎智、和田明彦
Insulin-like growth factor-I 受容体発現調節機構の解析
日本分子生物学会 第9回春季シンポジウム 2009年5月11日
7. 宮崎智、根本隆行、金井祐、柳田俊彦、和田明彦
ERK, p38 MAPK による Na_v1.7 Na⁺チャネルの制御
日本分子生物学会 第9回春季シンポジウム 2009年5月11日
8. 根本隆行、柳田俊彦、宮崎智、和田明彦
Insulin/insulin-like growth factor-I (IGF-I) 受容体シグナル分子群発現調節機序の解析
第13回宮崎 Neuroscience 研究会
2009年9月12日
9. 柳田俊彦、根本隆行、宮崎智、和田明彦
エタノールによるインスリン受容体シグナルの抑制
第62回日本薬理学会西南部会
2009年11月21日
10. 根本隆行、柳田俊彦、宮崎智、和田明彦
Glycogen synthase kinase-3βによる insulin/insulin-like growth factor-I 受容体シグナル分子群の発現調節
第62回日本薬理学会西南部会
- 2009年11月21日
11. 宮崎智、根本隆行、柳田俊彦、和田明彦
電位依存性 Na_v1.7 Na⁺チャネルによる tau リン酸化の制御
第62回日本薬理学会西南部会
2009年11月21日
12. 柳田俊彦、根本隆行、宮崎智、和田明彦
アルコールはインスリン受容体シグナルを抑制する
第83回日本薬理学会年会
2012年3月16日
13. 根本隆行、柳田俊彦、宮崎智、和田明彦
インスリンはPI3K/mTOR経路を介して tau 蛋白量を増加させる
第83回日本薬理学会年会
2010年3月16日
14. 宮崎智、根本隆行、金井裕、柳田俊彦、和田明彦
ERK と p38 による tau リン酸化, Na_v1.7 チャネルの制御
第83回日本薬理学会年会
2010年3月16日
15. 根本隆行、柳田俊彦、和田明彦
インスリンによる神経様突起伸長：PI3K/mTOR 経路を介した tau 蛋白合成促進
第63回日本薬理学会西南部会
2010年11月27日
16. Nemoto T, Yanagita T, Wada A.
Posttranscriptional regulation of IGF-I receptor via GSK-3β and mTOR in adrenal chromaffin cells.
20th Japan-Korea Joint Seminar on Pharmacology 2010年11月27日
17. 柳田俊彦、根本隆行、和田明彦、村上学
インスリン受容体発現のHsp90とコシャペロンによる制御
第84回日本薬理学会年会 2011年3月24日
18. 根本隆行、柳田俊彦、和田明彦、村上学
インスリン受容体シグナルにおける正と負の発現調節機構
第84回日本薬理学会年会 2011年3月24日

19. 柳田俊彦、根本隆行、佐藤伸矢、丸田豊明、吉川教恵、村上学
Transcriptional up-regulation of cell surface Nav1.7 sodium channels by insulin-like growth factor-1 via inhibition of glycogen synthase kinase-3 β in adrenal chromaffin cells
第5回トランスポーター研究会九州部会
2011年 9月17日
20. 根本隆行、柳田俊彦、村上学
Insulin-induced neurite-like process outgrowth: acceleration of tau protein synthesis via a PI3K~mTOR pathway
第5回トランスポーター研究会九州部会
2011年 9月17日
21. Nemoto T, Yanagita T, Murakami M.
Positive and negative regulation of insulin receptor signaling in adrenal chromaffin cells.
Neuroscience 2011 2011年 11月 14日
22. 柳田俊彦、根本隆行、佐藤伸矢、吉川教恵、丸田豊明、岩切智美、上園保仁、村上学
Insulin-like growth factor-1はGlycogen synthase kinase 3 β 阻害を介してNav1.7の遺伝子転写ならびに細胞膜発現量を増加させる
第64回日本薬理学会西南部会
2011年 11月20日
23. 根本隆行、柳田俊彦、和田明彦、村上学
単離副腎クロマフィン細胞の神経様分化：インスリンによる tau 蛋白合成促進
第64回日本薬理学会西南部会
2011年 11月20日
24. 柳田俊彦、根本隆行、佐藤伸矢、吉川教恵、丸田豊明、村上学
リチウムによる Na_v1.7Na⁺チャネルの機能・発現調節機序：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
日光シンポジウム 2011年 12月 17日
25. 根本隆行、柳田俊彦、村上学
インスリンによるtau蛋白合成促進：副腎ク

ロマフィン細胞における神経様分化
日光シンポジウム 2011年 12月 17日

26. 根本隆行、柳田俊彦、和田明彦、村上学
インスリンによる神経様突起伸張：PI3K~mTOR経路を介したtau蛋白合成促進
第85回日本薬理学会年会 2012年 3月14日

27. 柳田俊彦、根本隆行、村上学
Insulin-like growth factor-1受容体発現のHsp90とコシヤペロンによる制御
第85回日本薬理学会年会 2012年 3月15日

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等

<http://miyamedyakuri.web.fc2.com/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柳田 俊彦 (YANAGITA TOSHIHIKO)

宮崎大学・医学部・准教授

研究者番号：60295227

(2) 研究分担者

根本 隆行 (NEMOTO TAKAYUKI)

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号：90506833

(2009-2011年)

和田 明彦 (WADA AKIHIKO)

宮崎大学・医学部・教授

研究者番号：30131949

(2009-2010年：退職のため)

村上学 (MURAKAMI MANABU)

宮崎大学・医学部・教授

研究者番号：80302090

(2011年)

(3) 連携研究者

なし