

令和 6 年 5 月 24 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16427

研究課題名（和文）肥満マウス肝臓における選択的インスリン抵抗性の数理モデル解析

研究課題名（英文）Mathematical analysis of selective insulin resistance in the liver of diet induced obesity mice

研究代表者

森下 宗（MORISHITA, So）

九州大学・生体防御医学研究所・助教

研究者番号：50860962

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000 円

研究成果の概要（和文）：健常および肥満マウス肝臓において、インスリン-PI3K-Akt経路の各分子がどのようなタイムコースでインスリン刺激に対して反応するか実験および数理モデル解析を行った。2型糖尿病や肥満では、インスリンの効果が減少するインスリン抵抗性が見られるが、これを特定のタンパク質発現量の減少を数理モデルに組み込むと説明できることを明らかにした。また、2型糖尿病の初期症状として選択的インスリン抵抗性と呼ばれる現象が知られているが、Akt下流分子のswitch-likeな濃度応答を観測しており、これを数理モデルで再現することにより、選択的インスリン抵抗性を一部説明できる結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

システム生物学は、生命システムの持つダイナミクスを、数理モデルやシミュレーションを用いて明らかにする基礎生物学な興味から始まった分野である。本研究では健常及び、疾患の前発症段階とも言える肥満マウスモデルを用いて定量的な時系列データを取得し、システム生物学的解析を行った。疾患の発症過程を生命システムの変容ととらえることで、システム生物学を疾患の理解へと応用したことは学術的に意義深い。また、選択的インスリン抵抗性の一端を数理モデルを用いて解明したことで、将来的にはより効果的なインスリンやインスリン製剤の投与方パターンのデザイン等につなげられる等、社会的な意義もある。

研究成果の概要（英文）：We performed experiments and mathematical modeling to investigate the time course of the insulin-PI3K-Akt pathway in response to insulin stimulation in the liver of control and diet induced obesity mice. We found that insulin resistance, which decreases the effect of insulin, can be explained by a mathematical model in which the expression levels of specific proteins are reduced. We also observed a switch-like concentration response downstream of Akt molecule, and the mathematical model incorporating this response can partially explain selective insulin resistance in early manifestations of type 2 diabetes.

研究分野：システム生物学

キーワード：システム生物学 シグナル伝達 インスリン Akt 2型糖尿病 肥満マウス 数理モデル 選択的インスリン抵抗性

1. 研究開始当初の背景

インスリンは唯一血糖値を減少させるホルモンであり、インスリンの生理機能と糖尿病には密接な関係がある。血中に放出されたインスリンは、標的となる細胞表面のインスリン受容体と結合し、その下流の PI3K-Akt 経路を活性化させる。この活性化によって、血糖の取り込みや糖新生の抑制、また脂質分解の抑制や脂質合成の促進などが、様々なタンパク質分子によってなされる。

2 型糖尿病の初期症状の一つに、選択的インスリン抵抗性と呼ばれる現象がある。これは、血糖値の低下にはインスリンが効きにくくなる(血糖値が下がりにくくなる)一方で、脂質合成にはインスリンが効きにくならない(相対的に脂質合成は多くなる)現象である。肥満や糖尿病のような高血糖条件では、血糖値を下げるために分泌するインスリンを増加させる必要があるが、この現象により、高脂血症や肝臓脂肪症が亢進してしまうジレンマが生じる。

糖尿病や肥満の研究において、特定のタンパク質の発現量を増減や活性の変化を理由として、選択的インスリン抵抗性の原因とする報告はなされている。しかし、選択的インスリン抵抗性は複数のタンパク質が複合的にかかわることで生じる現象と考えられ、その機構が十分に解明されているとは言い難い。

また、生体内にはインスリンの濃度の波が 15 分周期、数時周期(追加分泌)、日単位周期(基礎分泌)で重なって存在している(インスリンパターン)が、我々は健常ラットを用いた実験で、シグナル伝達の各分子がそれらの中から必要な波を選び取って反応していることを明らかにしている。この先行研究の数値モデルを用い、2 型糖尿病の条件でシミュレーションを行ったところ、インスリン濃度を健常ラットより増加させないと各分子(糖新生抑制にかかわる G6Pase を含む)の活性化レベルは十分に上がらない一方で、脂質合成を促すと考えられる日単位周期の情報は必要以上に伝達されるといった、選択的インスリン抵抗性を一部再現する結果が得られている。しかしながら、実際の肥満マウスにおいてインスリンパターンが各分子にどのような影響を与えるかは明らかではない。2 型糖尿病条件では基礎分泌は高くなる一方で、追加分泌は低くなる、15 分周期の分泌は消失するなど、インスリンパターンの 2 型糖尿病への関与も示唆されている。

2. 研究の目的

選択的インスリン抵抗性は、シグナル伝達の面からは次のようにとらえることができる。糖尿病が発症する過程において、インスリン-PI3K-Akt 経路の各分子の発現量や他の分子への影響等のバランスが変化する。このことで、インスリンのシグナルが、血糖値低下にかかわる分子へは弱く、脂質合成にかかわる分子には強く伝わるようになる。

本研究では、健常状態と 2 型糖尿病発症の段階では、シグナル分子の発現量や相互作用がどのように変化することによって、選択的インスリン抵抗性が生じるのか、シリンジポンプを用いた注入実験と、数値モデルを用いた解析により明らかにする。

さらに、インスリンパターンが肥満条件においてどのように各分子へ影響するのか、数値モデルを用いたシミュレーションを行う。これにより、肥満条件におけるインスリンパターンの影響を明らかにする。

3. 研究の方法

I. 肥満マウスおよび健常マウスを飼育し、インスリン-PI3K-Akt 経路の各分子の発現量やリン酸化レベルがどのように変化していくのかを経時的(週~月オーダー)に調べる。II. さらに、肥満マウスおよび健常マウスで、肝臓でのインスリン濃度をシリンジポンプにより厳密にコントロールし、2 時間のタイムコースの中で各タンパク質のリン酸化がどう変化していくのかを経時的(数時間オーダー)に調べる。III. 実験データを再現する数値モデルを作成し、シミュレーションを行うことで、複数の分子の因果関係の中での量的なダイナミクスを明らかにする。

4. 研究成果

まず、高脂肪食給餌により肥満を誘導したマウスを作成し、5~16 週齢で経時的にインスリン負荷試験を行い、さらに肝臓でのインスリン-Akt 経路のタンパク質リン酸化を評価した。肥満亢進に伴い血糖値の上昇、血中インスリン濃度の上昇やインスリン抵抗性の増加が見られる一方で、インスリン受容体のリン酸化に対する Akt のリン酸化比が 1/4 程度になるなど、シグナル伝達経路レベルでもインスリンシグナルの減弱が生じていることを明らかにした。

次に、5 週齢および 14 週齢の健常マウスと、インスリン負荷試験によりインスリン抵抗性が確認された 14 週齢の高脂肪食給餌(DIO)マウスを用い、シリンジポンプによるインスリン注入実験を行った。この実験では、シリンジポンプを用いて肝門脈からインスリンを注入することで、

マウス血中インスリン濃度をコントロールした。肝臓での PI3K-Akt 経路のタンパク質の活性化（インスリン受容体, Akt, GSK3, FoxO1, ACLY, S6K のリン酸化及び 4E-BP1 のバンドシフト）のタイムコースを測定した。常微分方程式を用いた数理モデル解析により, 健常マウスと DIO マウスで, どのように血中インスリンのシグナルが PI3K-Akt 経路の各分子に伝わるのか解析を行った。

DIO マウスではインスリン受容体や IRS2 の発現量が減少していることを確認したが, これを数理モデルに組み込むことで, Akt へのインスリンシグナルの伝達減少を説明できることを明らかにした。Akt 下流分子の活性化レベルを比較したところ, GSK3, S6K, FoxO1 のシグナルも減少しており, ACLY は顕著に減弱していた。ACLY の大幅なリン酸化シグナル減少は, ACLY それ自身の発現量の減少に起因するところが大きいことが, 数理モデルを用いた解析で明らかになった。一方で 4E-BP1 の一過的な活性化のレベルはあまり変化していなかった。4E-BP1 は eIF4E を介してタンパク質翻訳に関わるが, 近年ではこの経路が肥満にも影響する報告が多数されており, Akt までで減弱したインスリンシグナルが, その下流の Switch-like な活性化で回復するという今回の結果は, 部分的に選択的インスリン抵抗性を説明できると言える。また, S6K, 4E-BP1 はインコヒーレント・フィードフォワード・ループで説明できる一過的な活性化を示しており, 特定の周期のインスリンパターンによく応答することを数理モデルで明らかにした。

5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1．発表者名 森下宗，宇田新介，久保田浩行
2．発表標題 肥満マウス肝臓における選択的インスリン抵抗の数理モデル解析
3．学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4．発表年 2022年

1．発表者名 森下宗，宇田新介，久保田浩行
2．発表標題 マウス肝臓においてPI3K-Akt経路の情報伝達は，肥満進行に従いどう変化するか？ シリンジポンプによるインスリン注入実験と，数理モデルシミュレーションを用いた解析
3．学会等名 第46回日本分子生物学会年会
4．発表年 2023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
---------	---------