

## 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25年 1月10日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22700310

研究課題名（和文） インスリン波形の情報処理機構の解明

研究課題名（英文） Analysis of information processing mechanisms of insulin temporal patterns

## 研究代表者

久保田 浩行 (KUBOTA HIROYUKI)

東京大学・大学院理学系研究科・助教

研究者番号：40376603

## 研究成果の概要（和文）：

生体内の血中インスリンパターンは複数のパターンからなり、その時間パターンは代謝制御に重要であることが報告されて理いる。しかしながら、インスリンがどのように下流の複数の代謝を制御しているかは不明のままである。我々は実験とシミュレーションを用いた解析から、AKT 経路がインスリンの異なる時間パターンを多重化し、下流の分子を時間パターン依存的に選択的制御できることを明らかにした。

## 研究成果の概要（英文）：

Blood insulin exhibits several temporal patterns. It is reported that the temporal patterns of insulin are important for regulation of metabolic functions. However, how insulin selectively regulates multiple metabolic functions remains unknown. We demonstrate that the AKT pathway can multiplex distinct patterns of insulin and the downstream molecules selectively decode the temporal patterns of insulin using experiments and simulation.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：生体生命情報学

科研費の分科・細目：生体生命情報学

キーワード：システムズバイオロジー、インスリン、シグナル伝達、時間情報コーディング

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 生物は限られたシグナル伝達経路を用いて外界の数多くの変化に対応している。つまり、シグナル伝達経路の本質の一つは、多彩な入出力の情報を限られた分子、またはそ

のネットワークにコードするシステムにある（時間情報コーディング）。しかし、生体内においてこのシステムが機能しているかどうかは不明のままである。

(2) 生体内における血中インスリンパター

ンは、食後に一過的に分泌される追加分泌や空腹時にも微量に分泌されている基礎分泌、そして 15 分程度の周期的分泌などがあり、血中インスリンパターンは複数の成分からなることが知られている (図)。さらに、インスリンの 15 分程度の周期的刺激は、一定刺激よりも肝臓からの糖新生抑制や筋肉などによる糖の取り込み促進の効果が強いことが報告されている。このように、血中インスリン変動の生理的重要性は複数報告されているが、血中インスリンの時間パターンが選択的に生理作用を制御する分子メカニズムは不明のままであった。

## 2. 研究の目的

生体内の時間波形が詳細に調べられているインスリンとそのシグナル伝達経路に注目し、“時間情報コーディング”の存在とそのメカニズムを実験とシミュレーションを密接に連携させて明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

ラット肝がん由来の Fao 細胞に複数のインスリン濃度を与え、時系列データを取得する。次に、過去の知見を基に実験データを再現する微分方程式モデルを作成する。得られた微分方程式モデルを基に、分子の特徴抽出を行い、この特徴を確認するための検証実験を行う。特に、生体内でのインスリン時間パターンを模した刺激を行い、生体内でのインスリンパターンがどのように下流に伝達されるか検討する。最後に、これらの特徴を Fao 細胞より生体内に近い、ラットの初代培養幹細胞を用いて、生体内でもこの明らかにした応答が保存されている可能性があるか検討する。

## 4. 研究成果

(1) 我々は肝がん由来の Fao 細胞を用いて、インスリンシグナル伝達経路で中心的な分子である AKT と、その下流分子である S6K, GSK3 $\beta$  のリン酸化 (それぞれ pAKT, pS6K, pGSK3 $\beta$ )、同じく AKT の下流分子である G6Pase mRNA の発現量の時間パターンを測定した。その結果、我々は上流に同じ AKT を持つ分子である pS6K, pGSK3 $\beta$ , G6Pase がインスリン刺激に対して異なる時間パターンを示すことを見出した (図 1)。この結果は下流の 3 つの分子が上流分子である pAKT の異なる時間パターンをデコードしていることを意味している。

(2) そこで、実験データを再現する微分方程式モデルを作成し検討を行った (図 2)。その結果、①pS6K は iFFL というネットワーク構造により pAKT の時間変化に応答していること、pGSK3 $\beta$ , G6Pase は pS6K とは異なる

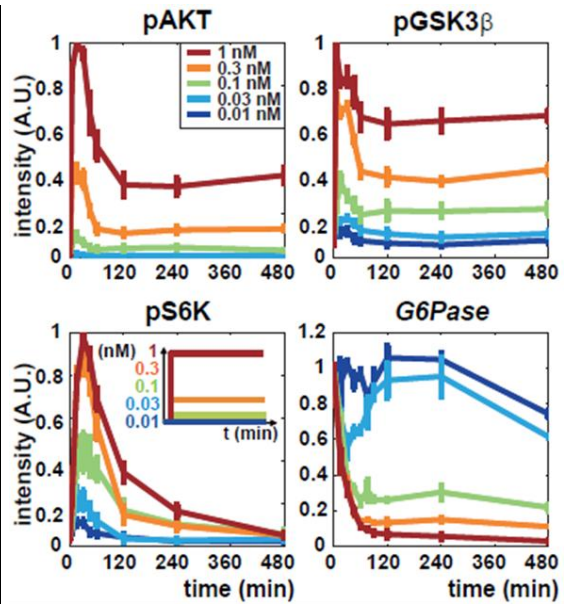


図1 AKT経路分子の時間パターン  
縦軸:各分子の活性、横軸:時間

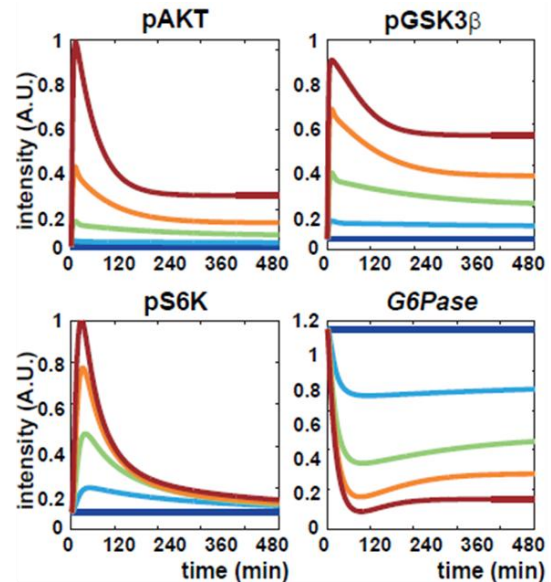


図2 AKT経路分子のシミュレーション結果  
縦軸:各分子の活性、横軸:時間

同じネットワーク構造であるにもかかわらず、②pGSK3 $\beta$  は pAKT に対する時定数 ( $\tau$ ) が小さいため上流分子である pAKT の時間パターンに追従できること、③G6Pase は pAKT に対する時定数が大きいため上流分子である pAKT の一過的な時間パターンに追従できないが、pAKT に対する EC<sub>50</sub> が小さいため低濃度の pAKT の変化には応答できること、が明らかになった。

(3) 次に、血中インスリンの時間パターンを模した刺激を与えたところ (図 3、120 分 (赤) は追加分泌を、15 分 (緑) は 15 分周期の一つの周期を模したもの)、上記の性質により、pS6K は追加分泌様刺激に、G6Pase

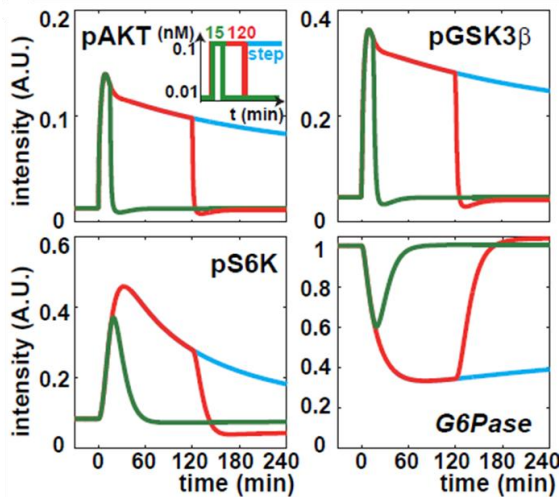


図3 生体内のインスリンパターンを模した刺激の各分子の応答(シミュレーション)  
縦軸:各分子の活性、横軸:時間

は基礎分泌様刺激に特異的に応答し、pGSK3β はいずれの刺激パターンにも応答できることが明らかになった。つまり、AKT 下流の3つの分子は、ネットワークモチーフの違いや、kinetics の違いを用いることでインスリンの特異的な時間パターンに応答していることが明らかになった。

(4) Fao 細胞はガン化細胞であるので、生体内でこれらの応答が保存されている保証はない。そこで、より生体内の状態に近いと思われる初代培養肝細胞を用いて検討をおこなった(図4)。その結果、上記で明らかにした特徴が初代培養肝細胞でも保存されていることを確認した。

(5) 以上の結果から、インスリンの刺激パターンの情報は一旦 pAKT の時間パターンに多重にコードされ、下流の応答を刺激パターン選択的に制御できることが明らかになっ

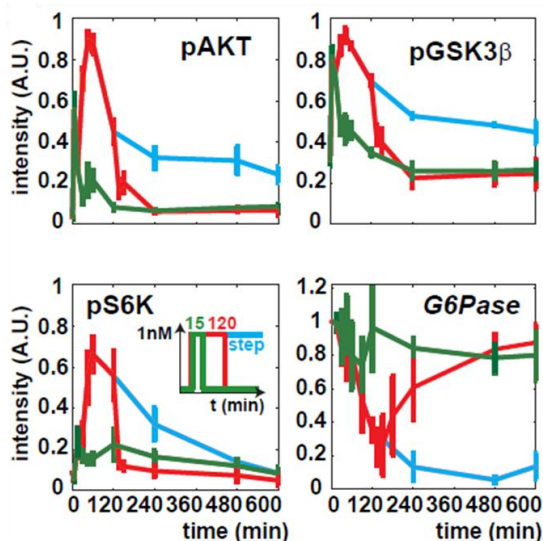


図4 初代培養肝細胞でのAKT経路分子の時間パターン  
縦軸:各分子の活性、横軸:時間

た。この研究により、生体内の血中インスリンの時間パターンがどのように下流の生理応答を制御しているかについての端緒が初めてひらかれた。

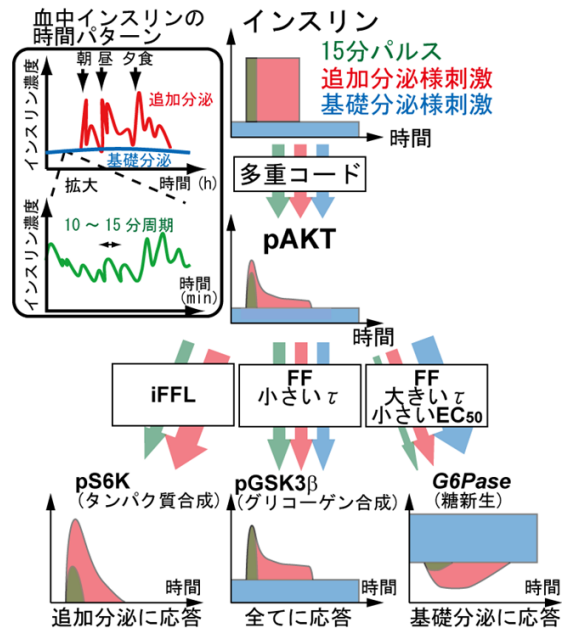


図3 血中インスリンの時間パターンとまとめ

### 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3件)

- ① 久保田 浩行、野口 怜、豊島 有、尾崎 裕一、宇田 新介、渡辺 可奈子、小川 渉、黒田 真也、AKT 経路の情報多重化によるインスリン作用の時間情報コーディング、Molecular Cell、査読あり、46 巻、2012、820-832、DOI: 10.1016/j.molcel.2012.04.018
- ② 久保田 浩行、黒田 真也、AKT 経路の情報多重化によるインスリン作用の時間情報コーディング、実験医学、査読なし、30 巻、2012、2609-2612
- ③ 久保田 浩行、黒田 真也、AKT 経路の情報多重化によるインスリン作用の時間情報コーディング、新着論文レビュー、査読なし、2012、  
<http://first.lifesciencedb.jp/archive/s/5054>

[学会発表] (計4件)

- ① 久保田 浩行、Temporal Coding of Insulin Action through Multiplexing of the AKT Pathway、JSDB&JSCB2012、5/28-5/31、2012、神戸国際会議場
- ② 久保田 浩行、AKT 経路の情報多重化によるインスリン作用の時間情報コード、BMB2011、12/13-12/16、2011、パシフィコ横浜

- ③ Hiroyuki Kubota, Temporal Coding of Insulin Action through Multiplexing of the AKT Pathway, ICSE2011, 8/28-9/1, 2011, Heidelberg, Germany
- ④ 久保田 浩行, インスリン作用の AKT 経路による多重情報コード, BMB2010, 12/7-12/10, 2010, 神戸ポートアイランド

[その他]

ホームページ等

<http://kurodalab.bi.s.u-tokyo.ac.jp/ja/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

久保田 浩行 (KUBOTA HIROYUKI)  
東京大学・大学院理学系研究科・助教  
研究者番号：40376603

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし