

トピックス

脂肪細胞のインスリン抵抗性発現におけるガングリオシドGM3発現亢進とマイクロドメインの関与

井ノ口仁一^{*1,2}

^{*1}東北薬科大学分子生体膜研究所機能病態分子学教室 ^{*2}科学技術振興機構, CREST

はじめに

肥満による内臓脂肪の過剰蓄積に伴う脂肪細胞の機能異常、すなわちアディポサイトカインの分泌異常(例えば、炎症性サイトカインTNF α の過剰分泌やアディポネクチンの分泌低下など)が、インスリン抵抗性を惹起し2型糖尿病や動脈硬化性疾患の多彩な病態の成因として重要な役割を果たしていることが明らかにされている。従来より、肥満モデルである*db/db*マウス、*ob/ob*マウス、およびZuckerラットや2型糖尿病患者の脂肪組織では、TNF α mRNA発現レベルが有意に上昇していることが知られている。可溶性のTNF α 受容体-IgGキメラ蛋白をZuckerラットに投与してTNF α を中和すると、インスリン抵抗性状態が軽減したり、TNF α 遺伝子ノックアウトマウスはインスリン抵抗性が起こらないことから、中性脂肪を過剰に蓄積して肥大化した脂肪組織がTNF α を過剰に産生することがインスリン抵抗性の原因として中心的な位置を占めていることが考えられる。最近、内臓脂肪組織、中でも腸間膜脂肪にマクロファージがリクルートされ炎症性サイトカインを分泌し、その結果インスリン抵抗性を惹起することが見いだされ、脂肪組織に潜在する骨髄系細胞の病態生理が注目されている。

シアル酸を有するスフィンゴ糖脂質を総称してガングリオシドと呼ぶが、その1分子種であるGM3は、ラット、マウス、ヒトの種を超えて脂肪組織の主要なガングリオシドである。スフィンゴ糖脂質、スフィンゴミエリン、コレステロールなどの相転移温度が高い脂質群が集積して形成される細胞膜カベオラマイクロドメインにインスリン受容体(IR)が存在していることから、細胞膜におけるインスリンシグナル伝達においてもGM3が影響を与えている可能性がある。本稿では、TNF α 刺激によるGM3合成亢進がマイクロドメインの機能異常を引き起こし、インスリンの代謝性シグナルを選択的に抑制

している可能性について、我々の最近の結果を中心に紹介する。

ガングリオシドGM3はインスリン抵抗性を惹起する

3T3-L1脂肪細胞をIRS-1およびGLUT4の発現が抑制されない100pMのTNF α で4日間培養すると、インスリン刺激によるIRのチロシン自己リン酸化の中等度の抑制とIRS-1のチロシンリン酸化の著しい抑制が起こる。この濃度レベルのTNF α で脂肪細胞にインスリン抵抗性状態を誘導するには3日間以上の慢性的な刺激が必要ことから、TNF α によってインスリンシグナルの未知の阻害物質の発現が増加する可能性が推定された。TNF α 刺激による3T3-L1脂肪細胞のGM3の発現を経時的に検討したところ、TNF α 処理時間に依存したGM3含量の増加が認められ、このGM3の発現増加はSAT-I遺伝子の発現およびSAT-IのGM3合成酵素活性の上昇とよく相関し、転写レベルでの活性化が起こっていた¹⁾。そこで、TNF α 刺激3T3-L1脂肪細胞のインスリン抵抗性の獲得に伴

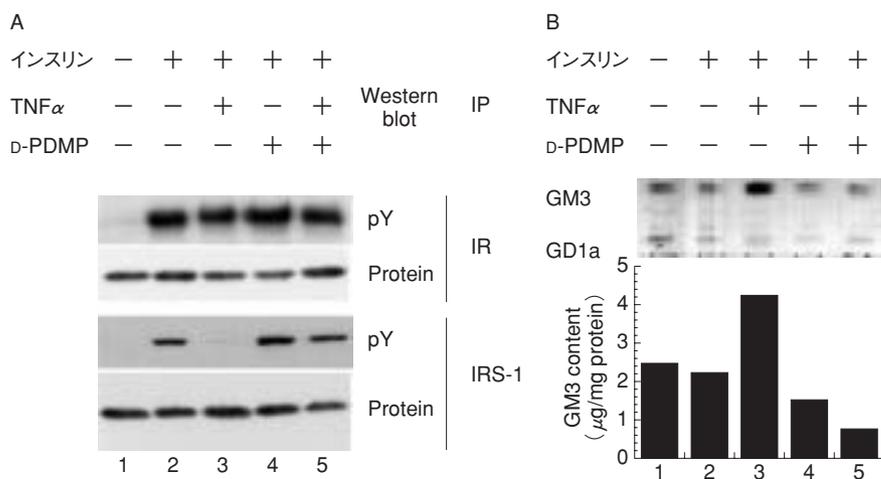


図1 TNF α 刺激によって誘導されるIR-IRS-1シグナルの脱共役はGM3の発現上昇が原因である。(A)3T3-L1脂肪細胞を100pMのTNF α で96時間処理したときのIR-IRS-1シグナル伝達の抑制とD-PDMPによる回復効果(B)同様の処理をしたときのGM3含量の変化

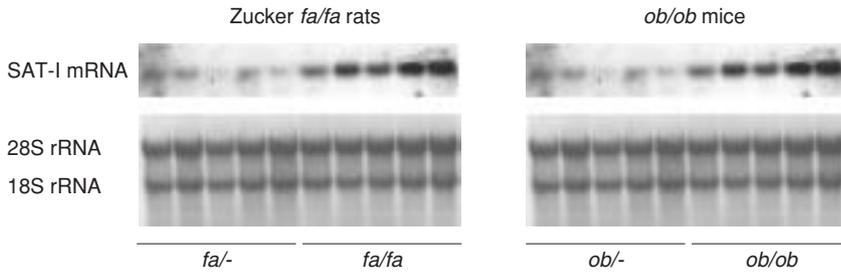


図2 肥満糖尿病モデルにおけるGM3合成酵素(SAT-I)遺伝子およびガングリオシドGM3の増加

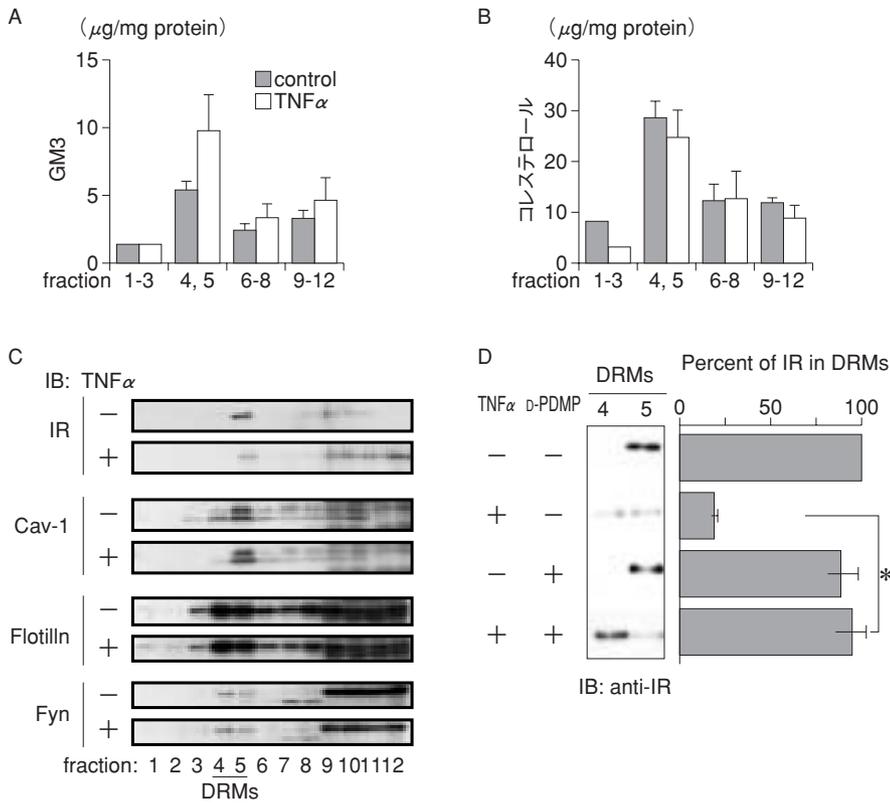


図3 GM3の発現上昇はインスリン受容体のマイクロドメインからの解離を引き起こす。(A)シヨ糖密度勾配遠心によるDRMs画分(fraction 4, 5)にTNF α 処理3T3-L1脂肪細胞で増加したGM3は集積している。(B)DRMs画分のコレステロールは変化しない。(C)TNF α 処理によりIRはマイクロドメインから解離する。(D)図1BのようにD-PDMPによりTNF α によるGM3の上昇を抑制すると、IRのマイクロドメインから解離も抑制された。

って増加したGM3のインスリンシグナルへの影響を明らかにするために、グルコシルセラミド合成酵素の特異的阻害剤D-PDMPを用いたGM3枯渇実験により検討を行った。D-PDMPによりTNF α 刺激で増加したGM3の発現が抑制されるとともに、IRS-1のチロシ

リン酸化の抑制がほぼ解除されたことから、GM3の増加はIR-IRS-1シグナルを脱共役していることが示された(図1)¹⁾。

これらの我々の知見は、GM3合成酵素ノックアウトマウスではインスリンシグナルが亢進していることから支

持される²⁾。

そこで、TNF α を過剰に産生しているZucker *fa/fa*ラットと*ob/ob*マウスの副睾丸脂肪組織のGM3合成酵素遺伝子発現を解析したところ、GM3 synthase mRNAおよびGM3レベルの著しい上昇が認められたことから、ガングリオシドGM3がインスリン抵抗性の病態に実際に関与している可能性が示唆された(図2)¹⁾。

インスリン抵抗性状態における細胞膜マイクロドメイン(ラフト)の機能異常

細胞膜には、コレステロールとスフィンゴ糖脂質に富み、リン脂質を欠いた、界面活性剤に不溶性である detergent resistant microdomains (DRMs)と呼ばれるマイクロドメインがある。現在までの10年間に多くの研究室から、この脂質マイクロドメインが多様なインスリンシグナルの正常な仕分けに重要な機能を持っている可能性が特に脂肪細胞を用いて報告されてきた³⁾。

DRMsの調製には種々の界面活性剤が用いられ蛋白および脂質組成が大きく異なってくることが報告されている。中でもTriton X-100は、グリセロリン脂質よりスフィンゴ脂質とコレステロールを多く集積させることができ、DRMsに特異的な蛋白を集積させることができる最も信頼性のある界面活性剤である。そこで我々は、マイクロドメインに弱く会合している蛋白を検出するために非常に広いTriton X-100の濃度を使用してDRMsを調製することにした。我々は、0.08%以下の低濃度のTriton X-100でDRMsを調製することではじめて正常脂肪細胞のDRMsにIRの存在を証明した(図3C)⁴⁾。

次に、TNF α 刺激した脂肪細胞におけるGM3の増加がカベオラマイクロ

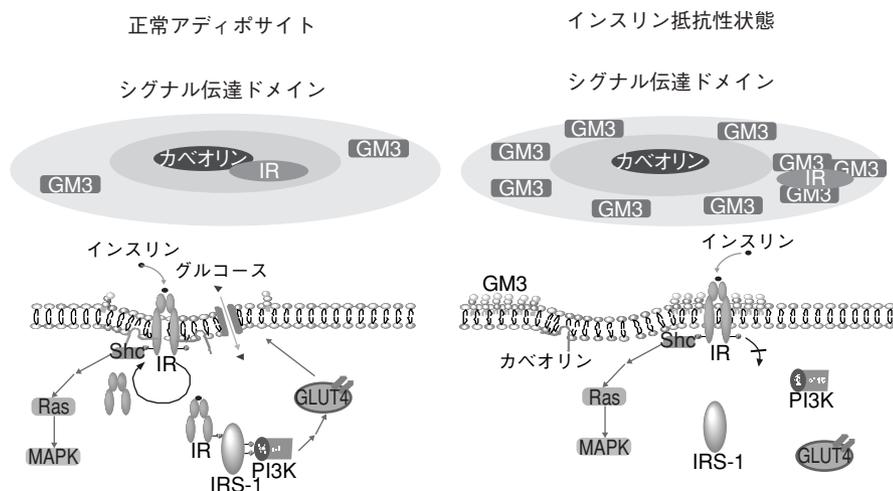


図4 インスリン抵抗性とマイクロドメイン機能異常の作業仮説

ドメインの構造と機能へ及ぼす影響を検討した。その結果、GM3の増加はラフトマーカであるカベオリンやフローチリンのDRMsへの集積には影響を与えず、IRをDRMsから解離させ、TNF α によるGM3の増加をD-PDMP抑制することでIRはDRMsにとどまることを明らかにした(図3C, D)⁴⁾。

IRのDRMsへの集積にはカベオリン-1との会合が重要であることをすでに述べたが、過剰のGM3のDRMsへの集積によりIRとカベオリン-1の相互作用が弱まったことが予想される。未発表ではあるが、抗GM3抗体による免疫沈降

ではIRは共沈降するが、カベオリン-1は共沈しないことから、IR-GM3およびIR-caveolin-1の独立した複合体の存在が予想される。現在、マイクロドメインにおけるGM3、IRおよびカベオリン-1相互作用機構について生細胞分子イメージングによって新見が得られつつある。

まとめ

インスリン抵抗性状態におけるマイクロドメインの構造と機能の変化を図4に描いてみた。GM3の増加はメタボリックシンドロームの新たなリスクフ

クターの可能性がある。我々は「2型糖尿病などの生活習慣病の病態は、スフィンゴ糖脂質の発現異常によってマイクロドメインの構成・構造および機能が変化し、シグナル伝達が異常になったマイクロドメイン病である」という新しい病態概念を提唱している。今後、この作業仮説の証明に向けてさらなる努力を傾注することにより、マイクロドメイン矯正療法ともいふべき、新たな治療戦略を開発したい。

文献

- 1) Tagami S, Inokuchi J, Kabayama K, et al.: Ganglioside GM3 participates in the pathological conditions of insulin resistance. *J Biol Chem* 2002, **277**: 3085-3092.
- 2) Yamashita T, Hashiramoto A, Haluzik M, et al.: Enhanced insulin sensitivity in mice lacking ganglioside GM3. *Proc Natl Acad Sci* 2003, **100**: 3445-3449.
- 3) Bickel, PE: Lipid rafts and insulin signaling. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002, **282**: E1-E10.
- 4) Kabayama K, Sato T, Kitamura F, et al.: TNF α -induced insulin resistance in adipocytes as a membrane microdomain disorder: involvement of ganglioside GM3. *Glycobiology* 2005, **15**: 21-29.