

# ジアシルグリセロールキナーゼ $\delta$ による2型糖尿病発症の制御機構

坂根 郁夫 [札幌医科大学医学部生化学第二講座/准教授]

今井 伸一 [札幌医科大学医学部生化学第二講座/助教]

甲斐 正広 [札幌医科大学医学部生化学第二講座/助教]

安田 智 [札幌医科大学医学部生化学第二講座/助教]

## 背景・目的

2型糖尿病は今や日本の国民病(即ち道民病)となり、早急に克服しなければならない生活習慣病の1つである。しかし、発症に至る経路は複雑で、遺伝的素因を含めた発症のメカニズムは余り明らかになっていない。

最近、ジアシルグリセロール(DG)キナーゼ(DGK) $\delta$ が2型糖尿病発症の鍵酵素の一つである可能性が高いことを示す結果が得られた。しかし、2型糖尿病におけるDGK $\delta$ 発現量の低下機構や、DGK $\delta$ 発現量の低下による筋肉組織でのインスリン受容体活性の低下機構は明らかではない。そこで、世界に先駆けていち早く、これらの未解決の課題を分子レベルで解析することを目的として本研究を計画した。

## 内容・方法

最近、DGK $\delta$ が2型糖尿病発症の鍵酵素の一つである可能性が高いことを示唆する結果が得られたので、まず、その詳細を明らかにした。

更に、以下の内容について共同研究者の得意分野を生かし、チームを組んで並行して研究を進めた。研究期間は概ね3年を予定しているので、今回は、その初年度(立ち上げ時期)の研究を行った。

### 1. DGK $\delta$ の発現調節の解析：

- ①転写調節領域の同定と解析
- ②一塩基多型(Single nucleotide polymorphism, SNP)の解析

### 2. DGK $\delta$ 発現量の低下によるインスリン受容体の活性低下の分子機構の解析：

- ①DGK $\delta$ の相互作用因子の同定とその生理的役割の解析
- ②糖に応答したDGK $\delta$ の活性化機構と細胞内動態の解析
- ③DGとPAの可視化技術を用いた、DGとホスファチジン酸(PA)の細胞内動態の解析：

### 3. モデル動物を用いたDGK $\delta$ とDGK $\eta$ の2型糖尿病発症における役割の解析：

- ①特異的に筋肉でDGK $\delta$ の発現をKOするコンディショナルKOマウス、及び、2型糖尿病モデルマウスにDGK $\delta$ 遺伝子を導入したトランスジェニックマウスの作製
- ②DGK $\eta$ -KOマウスの作製

## 結果・成果

「DGK $\delta$ が2型糖尿病発症の鍵酵素の一つである可能性」に関してであるが、興味あることに、2型糖尿病患者のDGK $\delta$ のmRNA及び蛋白量が減少していることが明らかになった。更に、DGK $\delta$ のKOマウス(ホモ体は致死なのでヘテロ体)は、体重の増加、脂肪褥の増加、筋肉組織中のDG量の増加、糖の取り込み能の低下、インスリン受容体の活性の低下に伴うインスリン抵抗性の増大など、2型糖尿病様の表現型を示した。以上の結果は、DGK $\delta$ が2型糖尿病発症の鍵酵素の一つであることを示していた(*Cell* 132, 375-386(2008))。

1. DGK $\delta$ の発現調節の解析：①転写調節領域の同定と解析に関しては、DGK $\delta$ の転写調節機構を解析する為に、筋芽細胞の筋細胞(筋管形成)への分化条件の確立を行った。②一塩基多型(SNP)の解析に関しては現在準備中である。

2. DGK $\delta$ 発現量の低下によるインスリン受容体の活性低下の分子機構の解析：①DGK $\delta$ の相互作用因子の同定とその生理的役割の解析に関しては、酵母 two-hybrid 法により、DGK $\delta$ の相互作用タンパク質として receptor activated C-kinase 1(RACK1)を同定した。(Biochim. Biophys. Acta-Molecular and Cell Biology of Lipids, in press)。RACK1はインスリン受容体やその基質(IRS)と相互作用することが報告されているので、DGK $\delta$ とインスリン受容体を結ぶ鍵因子の一つの候補としてその役割の解析を進めている。②糖に応答したDGK $\delta$ の活性化機構と細胞内動態の解析に関しては、高濃度の細胞外グルコースにより、DGK $\delta$ の活性が制御されること、更に、DGK $\delta$ によりプロテインキナーゼC活性が抑制され、その結果、インスリン受容体のチロシンキナーゼ活性が正に制御されていることも判明した(*J. Biol. Chem.* 282, 31835-31843(2007))。③DGとPAの可視化技術を用いた、DGとPAの細胞内動態の解析に関しては、現在、PA可視化プローブの開発中である。

3. モデル動物を用いたDGK $\delta$ とDGK $\eta$ の2型糖尿病発症における役割の解析：①特異的に筋肉でDGK $\delta$ の発現をKOするコンディショナルKOマウス、及び、2型糖尿病モデルマウスにDGK $\delta$ 遺伝子を導入したトランスジェニックマウスの作製に関しては、現在、本年9月を目処にDGK $\delta$ のコンディショナルKOマウスを作成中である。②DGK $\eta$ -KOマウスの作製に関しては、本年7月を目処にDGK $\eta$ -KOマウスを作成中である。

## 今後の展望

今後、本研究計画の成果を基盤に、更にDGK $\delta$ とインスリン抵抗性惹起・2型糖尿病発症との関連を分子レベルで明らかにしていきたい。これまでに、2型糖尿病とDGK $\delta$ に着目した研究は無く、全く新規のアプローチである。本研究が進めば、2型糖尿病の発症機構を理解するための基盤となる知見が得られ、将来的に2型糖尿病の予防・診断・治療に繋がることが期待される。また特に、

DGK $\delta$ が2型糖尿病治療の有望な標的酵素になる可能性がある。そして、その成果は、道民のみならず、日本国民、更には世界中の人々の健康維持・改善に貢献できると考える。