

急激な血糖変動を制御する新規医薬品の開発

自治医科大学 分子病態治療研究センター 炎症・免疫研究部

講師 木村 博昭

(共同研究者)

自治医科大学 分子病態治療研究センター 炎症・免疫研究部 教授 高橋 将文

はじめに

生活習慣病と老化は密接に関係しており、中高年及び高齢者の医療における重大な問題である。血糖値異常もその一つに含まれ、糖尿病による高血糖はもとより、食後の急激な血糖値の上昇は、血管に負担をかけることにより、動脈硬化・脳梗塞・心筋梗塞発症のリスクを高めると報告されている。従って、食後血糖値を適正に制御する方法を開発すれば、生活習慣病の発症だけでなく、中高年や高齢者の医療費削減といった様々な問題の解決に貢献できると言える。

申請者は、免疫プロテアソームという炎症に関わるタンパク分解酵素複合体のサブユニットの一つであるLMP7という分子が高脂肪食摂取による肥満・脂肪蓄積・代謝異常の発症に関わることを明らかにし、*Scientific Reports* (5:15883, 2015)誌に発表した。この論文で、グルコース・インスリン投与による耐糖能やインスリン感受性がLMP7の欠損によって顕著に改善されることを報告している。肥満・脂肪蓄積に関しては、炎症性細胞等を含む血球系細胞と組織細胞の両方が病態発現に関与することを示した。論文発表以降に、骨髄移植キメラマウスを利用した耐糖能テストを行ったところ、血球系ではなく、組織細胞のLMP7を欠損させることにより、グルコース投与による血糖値上昇を抑制することを見出した。そこで、本研究申請では組織側の免疫プロテアソームの発現や酵素活性を制御することにより、急激な血糖の上昇を制御する新規治療法の開発を目指した。

結 果

まず初めに、野生型とLMP7欠損マウスの骨髄移植マウスを利用し、耐糖能についてはデータ数を増やし、新たにインスリン感受性についても検討を行った。実験グループは、WTWT（野生型マウスの骨髄を放射線照射した野生型マウスに骨髄移植したグループ：基準の野生型マウスに相当するコントロール）、KOWT（LMP7欠損マウスの骨髄を放射線照射した野生型マウスに骨髄移植したグループ）、WTKO（野生型マウスの骨髄を放射線照射したLMP7欠損マウスに骨髄移植したグループ）、KOKO（LMP7欠損マウスの骨髄を放射線照射したLMP7欠損マウスに骨髄移植したグループ：基準のLMP7欠損マウスに相当する

コントロール)の4群を作成した。レシピエントマウスに9Gのガンマ線放射線照射後、ドナーの骨髄を移植し、5～6週後のマウス(移植したマウスの血液で移植を確認)に対して、耐糖能テスト・インスリン感受性テストを行った。

図1に示すように、レシピエントのLMP7が存在する(組織のLMP7が存在する)WTWTとKOWTのグループに比べ、レシピエントのLMP7が欠損している(組織のLMP7が欠損している)WTKOとKOKOのグループにおいて、グルコース投与後、血糖値の上昇度が低く、回復も速やかであることが確認された。今までのデータを含め、統計解析ソフトのSTATAを利用し、longitudinal analysisによる統計解析を行った結果、これらに有意差があることを確かめた。この結果から、組織側のLMP7の欠損が耐糖能の改善に関与することが明らかとなった。

次に、同様のグループでインスリン感受性テストを行った。図2に示すように、レシピエントのLMP7が欠損している(組織のLMP7が欠損している)WTKOとKOKOのグループにおいて、インスリン投与による血糖値の低下が速やかで持続する結果が得られた。すなわち、組織側のLMP7の欠損がインスリン感受性の改善に関与することが明らかとなった。

免疫プロテアソームのタンパク質分解酵素活性があるサブユニットは3種類あり、そのサブユニットの一つであるLMP2は、LMP7と類似した活性をもつことから、糖代謝におけ

図1: 耐糖能テスト (LMP7骨髄移植モデル)

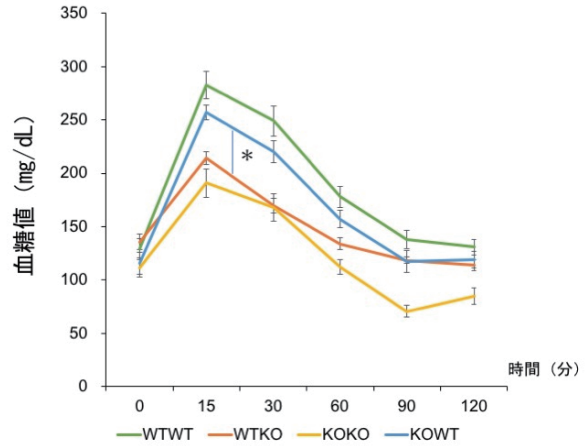


図2: インスリン感受性テスト (LMP7骨髄移植モデル)

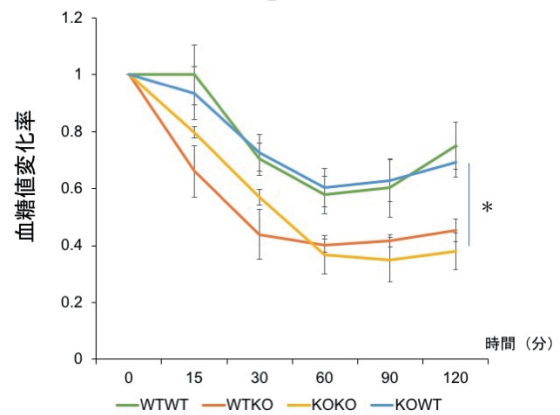


図3: 耐糖能テスト (LMP2欠損マウス)

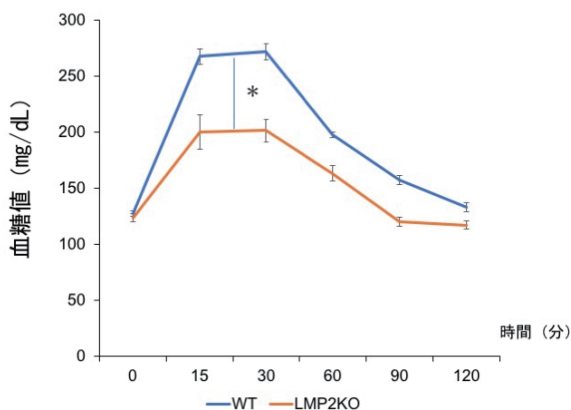
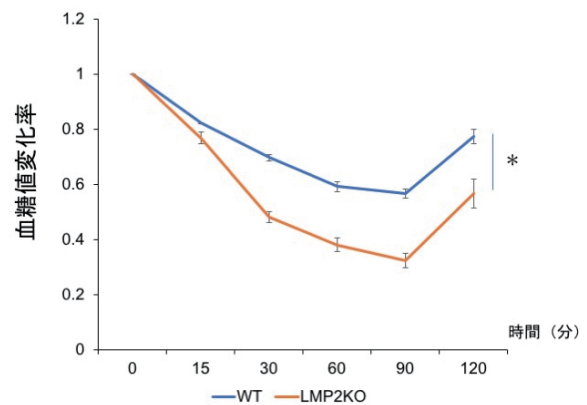


図4: インスリン感受性テスト (LMP2欠損マウス)



るLMP2の役割についても検討した。図3に示すようにグルコース投与後の血糖値の上昇はLMP2の欠損により、顕著に抑制された。つまり、LMP2の欠損でも、耐糖能は改善されることがわかった。同様に、図4で示したようにインスリン投与後の血糖値の低下は速やかで、かつ持続することからインスリンに対する感受性もLMP2の欠損により顕著に改善されることがわかった。したがって、免疫プロテアソームのLMP2もしくはLMP7のいずれかが欠損しても耐糖能やインスリン感受性は顕著に改善されることがわかった。

次に、この糖代謝の改善が関与する組織・細胞を同定するために、糖代謝に関与することが知られている肝細胞、脂肪細胞、筋細胞に標的をしぼり、レンチウイルスによるCRISPR/Cas9の系を利用してLMP7の欠損細胞の作成を試みた。しかしながら、LMP7の欠損がそれほど効果的ではなかったため、現在、CRISPR/Cas9のgRNA（ガイドRNA）のデザインを見直している。また、LMP2に関しても、欠損細胞作製の系をデザインし、実験を進めている。

考 察

本研究では、糖代謝における免疫プロテアソームの役割を明らかにすることが主要な目的であった。免疫プロテアソームの酵素活性があるLMP2もしくはLMP7の一方が欠損することにより、糖代謝が改善されることがわかったため、免疫プロテアソームの形成も糖代謝に関与する可能性が考えられた。すなわち、一方が欠損することにより、免疫プロテアソームの完成形の形成ができないため、いずれかの欠損で糖代謝が改善されると考えられる。一方で、LMP2もしくはLMP7の一方がなくても免疫プロテアソームは形成されるという報告もあるため、これらの分子に共通する未知なる機構が関与する可能性も捨てきれない。それを明らかにするには、細胞レベルでの解析が不可欠なので、引き続き本研究を推進し、細胞レベルでのLMP7もしくはLMP2欠損株を確立し、解析を進めたい。細胞レベルでの解析は、本研究により、組織細胞における免疫プロテアソームが糖代謝に関与することが明らかになったため、糖代謝への影響が大きいと考えられる肝細胞・脂肪細胞・筋細胞を中心に解析を進める。

要 約

血糖値を適正な値に制御することは、血管の老化を予防し、中高年や高齢者の健康年齢の改善のために重要だと考えられる。本研究では、免疫プロテアソームのサブユニットのLMP7とLMP2が、糖代謝に関与していることがわかった。特に、組織細胞に発現している免疫プロテアソームが、糖代謝の制御に関わっていることは明らかで、糖の取り込みやインスリンの感受性に関与しているものと考えられる。今後、肝細胞・脂肪細胞・筋細胞において、免疫プロテアソームの役割を細胞レベルで詳細に解析し、免疫プロテアソームを標的と

した新規の血糖値制御方法の開発が進めば、中高年や高齢者の健康増進につながることを期待される。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、研究助成をいただきました財団法人和証券のヘルス財団に深謝いたします。

文 献

1. **Kimura H**, Caturegli P, Takahashi M, Suzuki K : New insights into the function of the immunoproteasome in immune and non-immune cells. *J Immunol Res*, ID 541984, 2015.
2. **Kimura H**, Usui F, Karasawa T, Kawashima A, Shirasuna K, Inoue Y, Komada T, Kobayashi M, Mizushina Y, Kasahara T, Suzuki K, Iwasaki Y, Yada T, Caturegli P, Takahashi M : Immunoproteasome subunit LMP7 deficiency improves obesity and metabolic disorders. *Sci Rep*, 5: 15883, 2015