

## Akt の新たな基質 tomosyn を介したインスリン作用調節機構に関する研究

長野, 公喜

<https://hdl.handle.net/2324/1441156>

---

出版情報：九州大学, 2013, 博士（歯学）, 課程博士  
バージョン：  
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（4）

## 論文審査の結果の要旨

### Akt の新たな基質 tomosyn を介したインスリン作用調節機構に関する研究

グルコースは細胞のエネルギー源として必須の栄養素であり、さまざまなホルモンの働きによって血中濃度の恒常性維持が図られている。例えば血糖降下作用を持つインスリンは骨格筋や脂肪組織に作用して細胞内へのグルコースの取り込みを促進する。これらの組織におけるグルコース取り込みは、糖輸送担体であるグルコーストランスポーター4 (GLUT4) を含有する小胞 (GLUT4 storage vesicles; GSV) がインスリン応答性に細胞内プールから細胞膜上へトランスロケーションすることによって促進されることが知られている。この現象は主にインスリンシグナルによって活性化されるタンパク質キナーゼ Akt によって制御されており関連する複数の基質タンパク質が同定されているものの、その分子基盤については未だ不明な点が多い。本研究では開口分泌調節タンパク質 tomosyn に Akt のリン酸化モチーフが存在することを見出したので、Akt による tomosyn のリン酸化と GLUT4 トランスロケーションにおける役割について検討した。

Tomosyn と Akt の精製組換えタンパク質を用いて試験管内リン酸化実験を行ったところ tomosyn は Akt1, Akt2 によってリン酸化されたが、リン酸化部位と予想された 783 番目のセリン (S783) をアラニンに置換した変異体 (S783A) はリン酸化されなかった。さらに HEK293 細胞に発現させた tomosyn のリン酸化は細胞のインスリン刺激によって亢進したが、S783A 変異体ではリン酸化の亢進を認めなかった。このインスリン刺激によるリン酸化は PI3K の阻害剤 LY294002 で前処理すると抑制されたことから生細胞内でも tomosyn の S783 が Akt によってリン酸化されることが示唆された。次に、Akt によるリン酸化が tomosyn と GSV 輸送に関わる SNARE タンパク質の1つである syntaxin 4 との結合に及ぼす影響について調べた。グルタチオン-S-トランスフェラーゼ融合タンパク質として syntaxin 4 を調製し、試験管内結合実験を行ったところ、両分子の結合は Akt による tomosyn の S783 のリン酸化によって抑制された。CHO-K1 細胞に発現させた tomosyn でも、細胞のインスリン刺激によってリン酸化を受けて syntaxin 4 との結合が抑制されることを確認した。次いで tomosyn を外来性に発現する細胞で GSV 輸送を調べたところ、tomosyn は GLUT4 の細胞表面への発現を抑制した。しかし野生型 tomosyn 発現細胞ではインスリン刺激に伴って細胞表面の GLUT4 発現量が増加したが、S783A 変異体発現細胞ではインスリン刺激に伴う細胞表面 GLUT4 発現量の増加が大きく損なわれていた。このような結果から、Akt はインスリン刺激に伴って tomosyn の S783 をリン酸化することで syntaxin 4 との結合を調節し、GSV 輸送を制御することが示唆された。

本研究は Akt による tomosyn のリン酸化が GLUT4 トランスロケーションを制御するしくみを解明するという新規性に富む研究成果を含んであり、博士 (歯学) の学位授与に値する。

### 博士学位論文審査結果の要旨及びその担当者

（ふりがな） 氏 名	ながの こうき 長野 公喜
論文調査委員	主 査 九州大学 横山 武志 教授
	副 査 九州大学 中村 誠司 教授
	副 査 九州大学 山下 喜久 教授