

4. 糖尿病病態の分子生物学的解析と新規糖尿病治療法開発への応用

熊本大学大学院生命科学研究部代謝内科学講座

荒木 栄一

Key words : インスリン分泌, インスリン受容体, インスリン抵抗性, 糖尿病治療薬, Hsp72

はじめに

インスリンがバンティングらによって1921年に発見されてから100年が経過した。この間、インスリンの臨床応用やインスリン以外の糖尿病治療薬の開発等、糖尿病診療は大きく進歩した。また、インスリンの分泌機構やインスリンの作用機序が分子レベルで解析され、さらには糖尿病の疾患感受性遺伝子の解析が進む等、糖尿病病態の解明も進んでいる。本稿では、このような糖尿病研究の進歩を紹介するとともに、さまざまな糖尿病治療薬の作用機序を解説し、さらに著者らが取り組んでいる新たな糖尿病治療法の開発状況について記す。

1. インスリンの構造と分泌機構

インスリンはその発見の翌年から1型糖尿病患者の治療に用いられるようになり、その余命の著明な改善に寄与した。以降、ウシ・ブタ膵臓からのインスリンの精製技術が進歩し、続いて遺伝子工学的手法によってヒトインスリン製剤が製造可能となった。さらにはインスリンのアミノ酸を一部置換する等の方法で、従来のヒトインスリン製剤とは皮下注射後の作用特性が異なるアナログ製剤が開発されてきている。

インスリンはペプチドホルモンであり、膵β

細胞内でインスリン遺伝子が転写・翻訳され合成されるプレプロインスリンが翻訳後の修飾を受け、プロインスリンからさらにインスリンとCペプチドへとプロセッシングされることで生成される¹⁾(図1)。

膵β細胞で作られたインスリンはβ顆粒内に貯蔵され、主にブドウ糖の刺激により血中へと放出される。ブドウ糖はβ細胞の膜上に存在するGLUT2 (glucose transporter type 2) を介して細胞内に取り込まれ、代謝されてATP (adenosine triphosphate) が産生される。細胞内ATP/ADP (adenosine diphosphate) 比が高まると、ATP感受性Kチャネルが閉鎖され、細胞膜の脱分極が惹起され、電位依存性Ca²⁺チャネルが開口し、細胞外からのCa²⁺流入を促す。この刺激によりβ顆粒の開口分泌が促される²⁾(図2)。

小腸のK細胞とL細胞から各々分泌されるGIP (glucose-dependent insulintropic polypeptide) とGLP-1 (glucagon-like peptide-1) は、インクレチンと呼ばれ、このブドウ糖依存性のインスリン分泌をそれぞれの受容体を介して増幅する効果を持つ²⁾。

2. インスリンの作用機序

膵臓から分泌されたインスリンは、さまざまな臓器に到達して多様な作用を発現する。ブドウ糖の代謝に関しては、肝臓、筋肉、脂肪といった臓器に作用し、エネルギーの産生や貯蔵に関

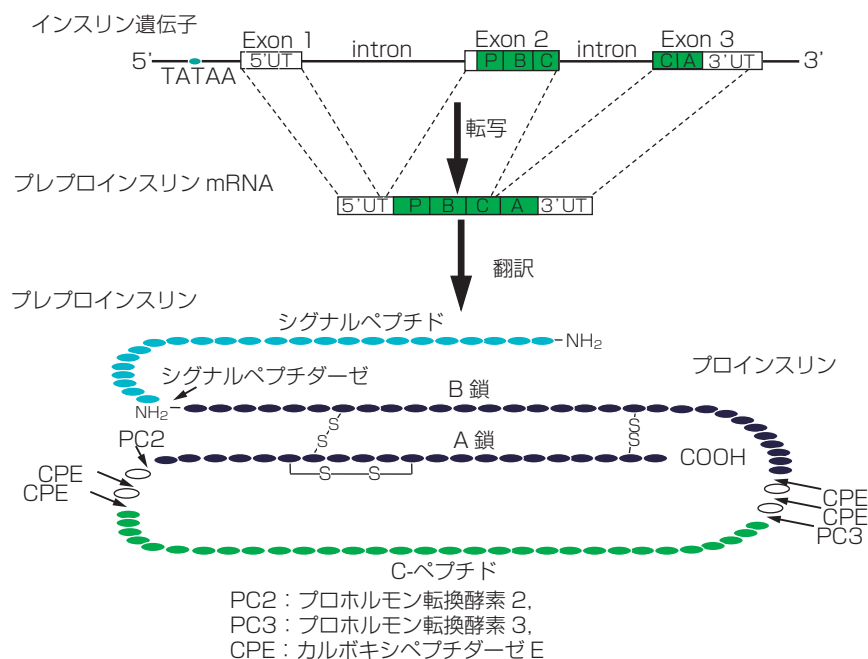


図 1. インスリンの生合成

インスリン遺伝子が転写、翻訳され、インスリンの前駆体であるプレプロインスリンが合成される。プレプロインスリンは粗面小胞体へと移送される際に、シグナルペプチドが切断されてプロインスリンとなる。プロインスリンは小胞体内でジスルフィド結合を形成し、trans-ゴルジネットワークへ輸送された後、分泌顆粒内でさらにPC2、PC3、CPEによりプロセッシングを受けてA鎖とB鎖から成るインスリンとC-ペプチドへと分解される¹⁾。

与する。これらの作用は、細胞膜上にあるインスリン受容体を介して細胞内へと伝達される(図3)。

インスリン受容体は、 α と β の2つのサブユニットが2つずつ結合したヘテロ4量体構造を持ち、 α サブユニットは細胞外に、 β サブユニットは細胞膜を貫通して一部が細胞内に存在している。インスリンが α サブユニットに結合すると、 β サブユニットの細胞内部位に存在するチロシinkinナーゼが活性化され、インスリン作用が発現される³⁾。

インスリン受容体のチロシinkinナーゼが活性化されると、細胞内の基質であるIRS-1/2(insulin receptor substrate-1/2)やShcがチロシリン酸化され、さらにリン酸化されたチロシン残基とその周囲のアミノ酸配列を認識して、SH2(src

homology 2) 部位を有する複数のシグナル伝達蛋白質が結合する。そのうち、PI-3(phosphatidylinositol-3') kinaseを介する経路は主にGLUT4(glucose transporter type 4)の膜移行を介したブドウ糖取り込み促進やグリコーゲン合成の促進等のインスリンの代謝作用を、Grb2(growth factor receptor-bound protein 2)/Sos(Son of sevenless)を介する経路は主にDNA(deoxyribonucleic acid)合成等のインスリンの増殖作用を伝達すると考えられている³⁾(図4)。

3. 2型糖尿病の成因

2型糖尿病は、上述したようなインスリン分泌機構の異常と、インスリン作用の障害、すなわちインスリン抵抗性が相まって発症すると考えられている。特に最近の2型糖尿病患者数の増

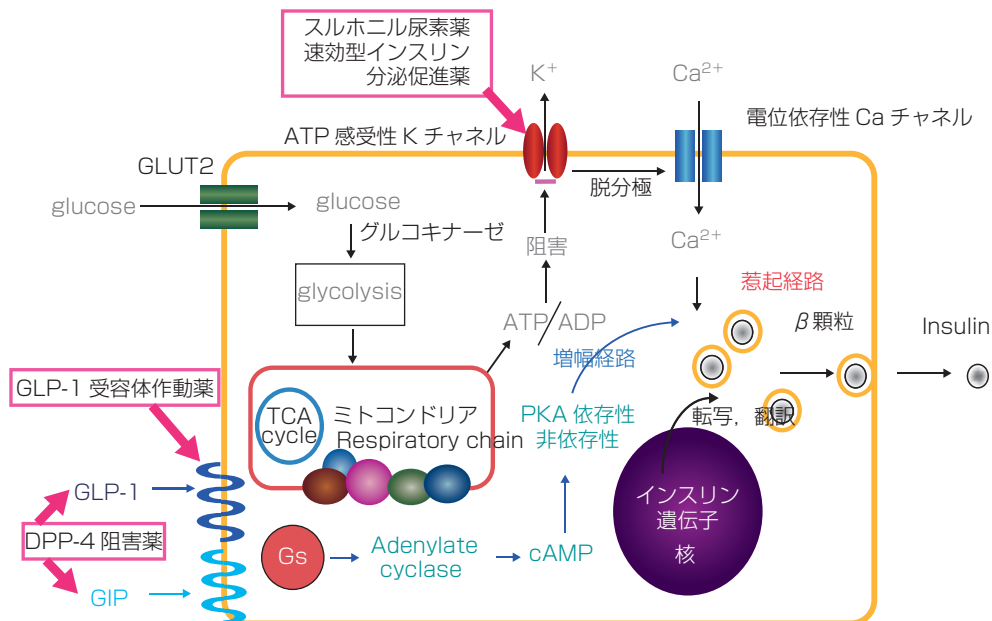


図 2. インスリン分泌機構とインクレチンの作用

膵β細胞におけるブドウ糖反応性のインスリンの分泌機序（惹起経路）と、インクレチンである GLP-1 や GIP のインスリン分泌の増幅経路活性化の機序を示す。また、スルホニル尿素薬、速効型インスリン分泌促進薬、DPP-4 阻害薬、GLP-1 受容体作動薬の作用部位を示す（本文参照）。

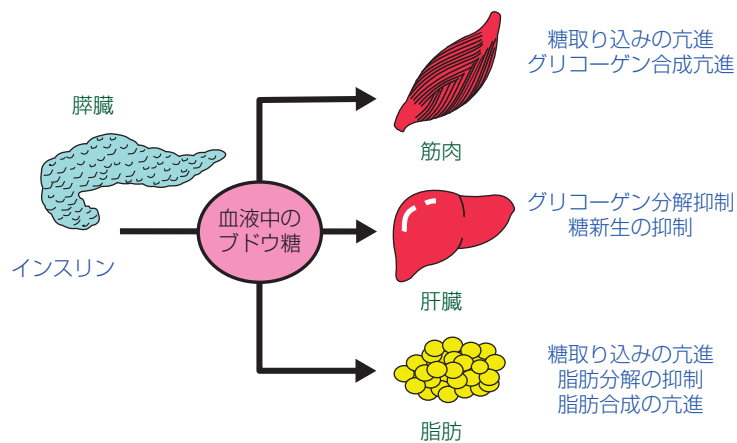


図 3. インスリンによる血糖調節のしくみ

膵臓のβ細胞から分泌されたインスリンは、種々の臓器に存在するインスリン受容体と結合してさまざまな作用を発現する。糖代謝において重要な臓器である筋肉や肝臓、脂肪におけるインスリンの代表的な作用を示す。

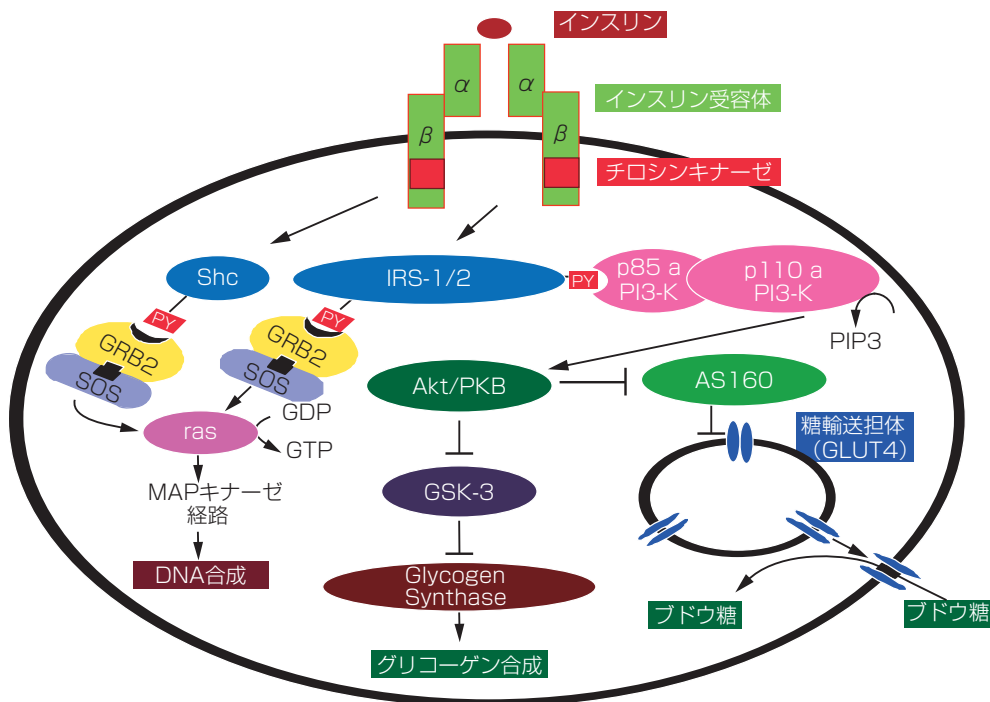


図 4. インスリンの作用機序

インスリンはインスリン受容体と結合し、インスリン受容体 β サブユニットのチロシンキナーゼを活性化する。このチロシンキナーゼにより細胞内の基質であるIRS-1/2やShcはチロシンリン酸化（PY）を受け、このチロシンリン酸化部位とその周囲のアミノ酸配列を認識してPI-3キナーゼやGrb2/Sos複合体等のシグナル伝達蛋白が結合する。PI-3キナーゼが活性化すると、PI 3リン酸（PIP3）の生成を介してPDK1（3-phosphoinositide-dependent kinase-1）やAkt等の下流のシグナルを活性化させ、GLUT4の細胞膜への移行による糖取り込みの促進や、グリコーゲン合成酵素の活性化によるグリコーゲン合成の亢進等、主にインスリンの代謝作用を伝達する。一方、Grb2/Sosはrasを介してMAP kinase（mitogen-activated protein kinase）を活性化し、DNA合成亢進等のインスリンの増殖因子としての作用を発現する。

AS160：Akt substrate of 160 kDa, GSK-3：glycogen synthase kinase 3

加には、肥満や運動習慣の減少等の環境因子を介したインスリン抵抗性の増大が寄与していると考えられている。

一方、2型糖尿病の発症に影響を及ぼす疾患感受性遺伝子が数多く同定されている。これら疾患感受性遺伝子は、個々には発症に及ぼす影響は小さいが、それらの組み合わせによって発症しやすさをある程度規定していると考えられる。また、疾患感受性遺伝子には人種に関わらず共通して認められるものや、日本人や欧米人に特有のもの等があり、興味深い⁴⁾。

肥満、特に内臓脂肪の蓄積は、遊離脂肪酸や

浸潤したマクロファージ等からの炎症性サイトカインの分泌を増加させ、アディポネクチンの分泌を減少させ、脂肪細胞を含むさまざまな臓器の酸化ストレスや小胞体ストレスを過剰に増大させ、インスリン抵抗性を惹起する（図 5）。従って、肥満の解消や軽減は2型糖尿病の予防や治療上で重要な意味を持つ。

4. 糖尿病治療薬の作用機序

日本糖尿病学会が発行している糖尿病治療ガイドでは、糖尿病治療薬はインスリン製剤と、インスリン分泌非促進系薬、インスリン分泌促

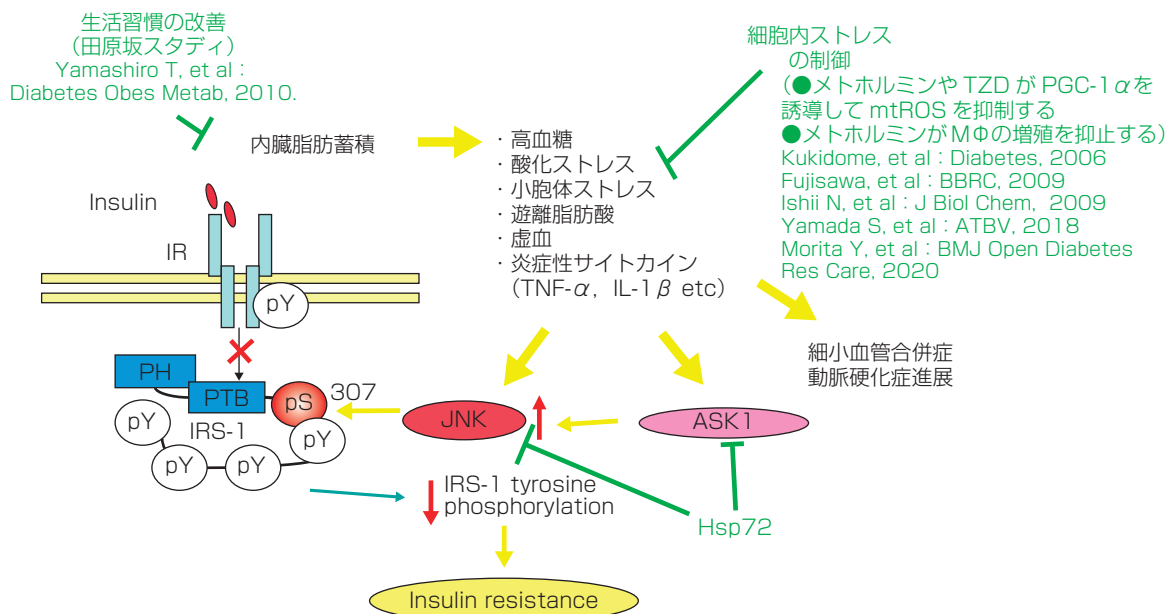


図5. インスリン抵抗性の発症機序とその治療開発

内臓肥満の蓄積は、生体内で高血糖、小胞体ストレスや酸化ストレスの増加等をもたらし、ASK1やJNK等の活性化を促進する。JNKはIRS-1のセリンリン酸化を促し、インスリン受容体チロシンキナーゼによるチロシンリン酸化を阻害し、インスリン抵抗性を惹起する。さらに糖尿病による血管合併症の発症・進展にも関与する。

生活習慣の改善は内臓脂肪蓄積を防ぎ、メタボリックシンドロームへの進行を抑制する⁹⁾。また、いくつかの糖尿病治療薬は、酸化ストレスの抑制を介してインスリン抵抗性の改善効果を持つ可能性がある。Hsp72は直接あるいは間接的にASK1やJNKの活性化を抑制し、インスリン抵抗性を改善する¹⁰⁾。

TZD : thiazolidine derivatives, PGC : PPAR γ coactivator, mtROS : mitochondrial reactive oxygen species

進系薬の3つに大別されている。さらにインスリン分泌促進系薬は、血糖依存性と血糖非依存性に分けられている。インスリン分泌非促進系薬には、 α -グルコシダーゼ阻害薬、SGLT2(sodium/glucose cotransporter 2) 阻害薬、チアゾリジン薬、ビグアナイド薬の4つが、血糖依存性のインスリン分泌促進系薬にはDPP-4(dipeptidyl peptidase-4) 阻害薬とGLP-1受容体作動薬が、血糖非依存性のインスリン分泌促進系薬にはスルホニル尿素(sulfonylurea : SU)薬と速効型インスリン分泌促進薬(グリニド薬)が含まれている⁵⁾。また、2021年から上市されたイメグリミンは、血糖依存性のインスリン分泌促進系薬の中に入ると想定される。

それぞれの薬剤の主要な作用臓器とその機序

を図6に示す⁶⁾。インスリン分泌促進系薬のうち、SU薬と速効型インスリン分泌促進薬は共にATP感受性Kチャンネルの構成蛋白であるSU受容体と結合し、ATP感受性Kチャンネルを閉鎖することでインスリン分泌を促す。一方、DPP-4阻害薬とGLP-1受容体作動薬は、GLP-1受容体(DPP-4阻害薬はGIP受容体経路も)を介してPKA(protein kinase A)依存性/非依存性経路を活性化し、ブドウ糖応答性のインスリン分泌を増幅する(図2)²⁾。

5. 糖尿病の成因解明や治療法開発に関する 当教室の取り組み

上記のごとく、インスリン分泌や作用機序の解明が進み、2型糖尿病の成因についても理解が

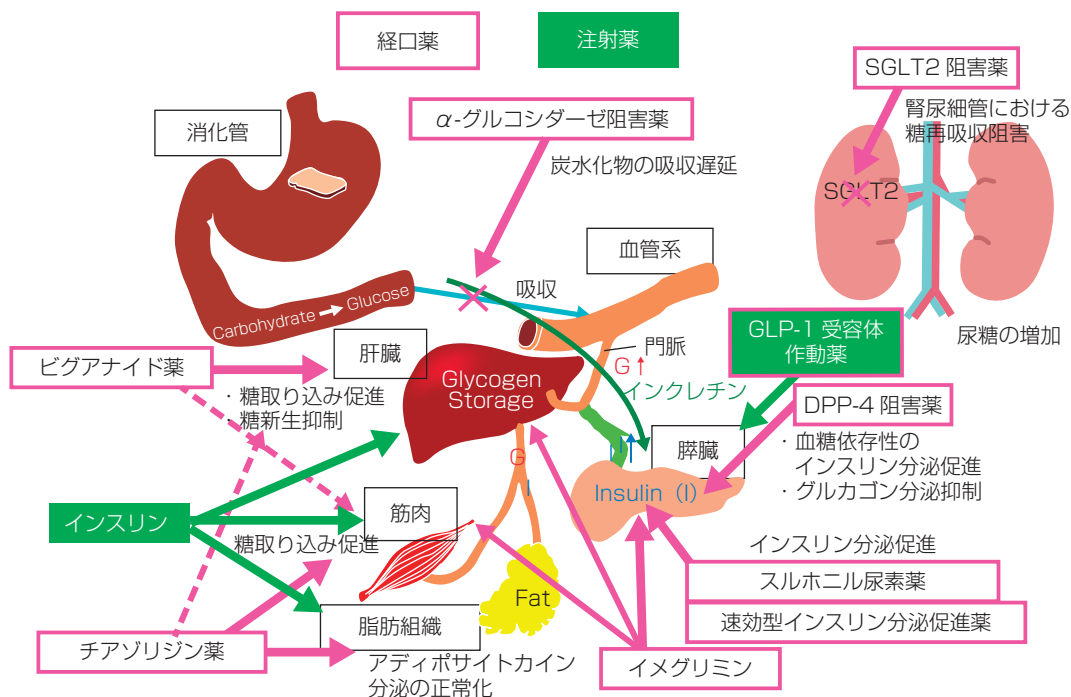


図 6. 糖尿病治療薬の主な標的臓器と作用機序 (文献6より引用, 改変)
 糖尿病治療に用いられる経口薬と注射製剤の主な標的臓器と作用機序を示す。
 GLP-1 受容体作動薬には、経口薬と注射製剤の両方がある。

進んでいる。また新たな糖尿病治療薬も増加しておりこれらの作用機序も解明が進んでいる。しかしながら、未だ糖尿病患者の増加は続いており、糖尿病を治癒させうる薬剤は開発されていない。

これらの課題に対して、これまでに著者らの教室で行ってきた取り組みの一部を以下に紹介したい。

1) 酸化ストレスや小胞体ストレスと糖尿病

糖尿病はさまざまな合併症を惹起する。西川らは糖尿病合併症の成因の1つとして、高血糖により増加したブドウ糖流入によりミトコンドリア電子伝達経路において過剰な活性酸素が関与することを提唱した⁷⁾。さらに、このような活性酸素の増加が、インスリン分泌障害やインスリン抵抗性増大といった糖尿病発症・進展にも関与することを示した^{7,8)}。

一方、親泊らは、Ins2 遺伝子のCys96Tyr変異

を有する糖尿病モデルマウスであるAkitaマウスの解析によって、膵β細胞における異常蛋白増加を介した過剰な小胞体ストレスが膵β細胞障害を惹起し、糖尿病をもたらすことを証明した。このCys96Tyr変異は異常構造のインスリンをβ細胞内で増加させ、過剰な小胞体ストレスを惹起すると考えられた。その後、ヒト新生児糖尿病患者においてAkitaマウスと同じ変異を含む複数のインスリン遺伝子変異が同定され、小胞体ストレスと糖尿病との関連性が確立された⁸⁾。

2) 糖尿病の予防に関する研究(田原坂スタディ)

2型糖尿病発症予防には、肥満やインスリン抵抗性の改善が有効であると予想される。我々は熊本大学衛生学の上田教授(現名誉教授)とともに、熊本県植木町住民を対象として、生活習慣改善のための集団介入の有効性を検討する田原坂スタディを行った。

植木町の全人口約3万人のうち約3千人の健

診データを解析し、耐糖能異常、脂質異常、高血圧、肥満のうち1項目以上に異常を認める143名の協力を得た。そのうち104名に4カ月に亘る医師、保健師、運動療法士らによる生活習慣改善の集団指導（標準介入）を行い、さらにその半数には運動療法を中心とした6カ月の延長介入を追加した（延長介入群）。残りの39名は何も介入を行わないコントロール群とし、それぞれ1年毎の健診データを比較した。

その結果、標準介入のみを行った標準介入群と延長介入群では、BMI (body mass index) の減少効果が介入終了直後に認められ、その効果が介入終了2年後まで継続した。また介入終了直後には血圧、血糖値の抑制効果を認めた。これらの効果は延長介入群では標準介入群よりやや強く、コントロール群と比較すると有効性が2年間維持された。さらにメタボリックシンドロームを構成する因子の数は3群ともに年々増加したが、コントロール群と比較すると両介入群で抑制効果が認められた。このように、メタボリックシンドロームの前段階での生活習慣介入が、メタボリックシンドロームへの進行を抑制することが一般住民において確かめられた⁹⁾。

3) 温熱と微弱電流による

糖尿病予防・治療の試み

我々は、熊本大学薬学研究部の甲斐教授と共同で、温熱と微弱なパルス状の直流電流の組み合わせ（MET療法）を用いたメタボリックシンドロームや2型糖尿病の予防・治療法を開発中である¹⁰⁾。

内臓脂肪の蓄積増加によって、酸化ストレスや小胞体ストレス、炎症性サイトカインの増加等が惹起され、ASK1 (apoptosis signal-regulating kinase 1) やJNK (c-Jun N-terminal kinase) 等のストレス誘導性酵素が活性化される。例えばJNKはIRS-1のセリン残基をリン酸化してインスリン受容体によるチロシンリン酸化を抑制し、インスリン抵抗性を惹起する。熱によって誘導されるシャペロンの1つHsp (heat shock protein) 72

は、直接ASK1やJNKと結合し、その活性化を抑制することが知られている（図5）。我々は、MET療法によって、高脂肪食負荷マウスにおける内臓脂肪増加の抑制効果、耐糖能とインスリン抵抗性の改善効果、脂肪肝の改善効果、脂肪細胞の小型化がおこることを確認した。

このMET療法は、健常人において安全であるばかりでなく、炎症のマーカーである高感度CRP (C-reactive protein) を有意に減少させることを確認した。さらにメタボリックシンドロームの日本人男性において、MET療法は内臓脂肪面積の減少、収縮期/拡張期血圧の低下、空腹時の血糖値とインスリン値及びHOMA-IR (homeostasis model assessment of insulin resistance) の低下、TNF (tumor necrosis factor)- α やCRP、白血球数等の血中炎症マーカーの減少をもたらした。一方、HbA1c (hemoglobin A1c) はもともと値が正常域のためか、有意な低下は認めなかった。

肥満日本人2型糖尿病患者では、これらのメタボリックシンドローム該当者において認められた効果に加えて、有意なHbA1cの低下をもたらした。さらにMET療法を行った患者の末梢血単核球を解析すると、MET療法前と比較してHsp 72 蛋白の発現増加とJNK活性の抑制、CRPやTNF- α mRNAの抑制が認められ、生体内でのストレス抑制効果が示唆された¹⁰⁾。

おわりに

糖尿病は、さまざまな技術の進歩のもとで病態の解明が進んでおり、治療薬もその選択肢が広がっている。従って、個々の患者の糖尿病病態に沿ったテーラーメイド治療が可能になりつつある。一方で、未だ解決されない課題も残されており、さらなる研究の進歩が新規糖尿病治療法の開発につながることを期待されている。

文 献

- 1) Rhode CJ, 他：インスリンの生合成, プロセッシング, 化学的性質, ジョスリン糖尿病学Kahn CR編. 金澤康徳, 他監訳. 第2版, メディカル・サイエンス・インターナショナル社, 東京, 2007, 71-90.
- 2) 日本糖尿病学会編・著：膵島とインスリン分泌, 糖尿病専門医研修ガイドブック. 改訂第8版, 診断と治療社, 東京, 2020, 33-39.
- 3) 日本糖尿病学会編・著：インスリン作用とインスリン抵抗性, 糖尿病専門医研修ガイドブック. 改訂第8版, 診断と治療社, 東京, 2020, 39-49.
- 4) 鈴木 顕, 山内敏正：2型糖尿病疾患感受性遺伝子の同定とその意義, 糖尿病最新の治療 2022-2024. 荒木栄一, 他編. 南江堂, 東京, 2021, 42-45.
- 5) 日本糖尿病学会編・著：薬物療法, 糖尿病治療ガイド 2020-2021. 文光堂, 東京, 2020, 58-77.
- 6) 荒木栄一：糖尿病治療の新たな潮流—糖尿病治療薬の作用機序と使い方—. 日内会誌 102:624-631, 2013.
- 7) 西川武志, 荒木栄一：肥満とミトコンドリア由来活性酸素. 実験医学 27:1168-1174, 2009.
- 8) 荒木栄一, 他：膵β細胞と酸化ストレス, 小胞体ストレス. 日本臨牀 66 (増刊号 3):399-403, 2008.
- 9) Yamashiro T, et al: The effect of group-based lifestyle interventions on risk factors and insulin resistance in subjects at risk for metabolic syndrome: the Tabaruzaka study I. Diabetes Obes Metab 12:790-797, 2010.
- 10) 荒木栄一, 他：肥満症の新たな視点—細胞内ストレス応答系を活用した治療法開発. 日内会誌 105:1739-1745, 2016.