

【要約】

Activation of FoxO1 induces Akt phosphorylation and mimics insulin's metabolic functions without proliferative effects in 3T3-L1 adipocytes

(3T3-L1 脂肪細胞において FoxO1 の活性化は細胞増殖効果をもたらさずに
インスリンの代謝作用を模倣する)

千葉大学大学院医学薬学府
先端医学薬学専攻
(主任: 横手 幸太郎教授)
大野 友寛

【背景・目的】

リン酸化酵素である Akt は、インスリン刺激により 2 箇所の部位がリン酸化され活性型となる。活性型 Akt は糖取り込みや脂肪合成などの代謝作用をもたらすが、同時に細胞増殖・成長作用をもたらす、がん遺伝子としても知られる。

転写因子 FoxO1 は Akt の基質であり、活性型の Akt によりリン酸化され転写活性が失われるため、インスリンに拮抗する因子と考えられている。一方で、恒常活性型 FoxO1 の過剰発現は、逆に上流である Akt のリン酸化を増強させる報告もある。FoxO1 の活性化はインスリンに拮抗する作用をもたらす可能性もあるが、Akt のリン酸化を介し、インスリン作用を模倣する可能性も考えられた。

分化した脂肪細胞における FoxO1 の役割は確立しておらず、FoxO1 の恒常活性化が様々なインスリンの作用にそれぞれどのような影響を及ぼすのか予想することは困難であり、実際に検討してみることが必要であると考えられた。

【方法】

アデノウイルスを用いて恒常活性型 FoxO1 (FoxO1-AAA) と競合阻害型 FoxO1 (FoxO1 Δ 256) を糖代謝の実験で頻用される 3T3-L1 脂肪細胞に過剰発現させ、恒常活性型 Akt (myrAkt) と比較し、インスリン情報伝達やインスリン作用、関連する遺伝子発現への効果を解析した。

【結果・考察】

1. FoxO1-AAA がインスリン作用へ与える影響

3T3-L1 脂肪細胞において、FoxO1-AAA は Akt の 2 箇所の部位のリン酸化を増強させた。FoxO1-AAA はインスリンおよび myrAkt と同様に、糖取り込み、GLUT4 細胞膜移動および脂肪合成を増加させたが、インスリンおよび myrAkt とは異なりタンパク合成は増加させず、DNA 合成は減少させた。FoxO1 は未分化脂肪細胞では成熟脂肪細胞への分化を抑制する因子として報告されているが、FoxO1-AAA はすでに分化した 3T3-L1 脂肪細胞には脱分化はもたらさず、分化に影響を与えなかった。

2. FoxO1 Δ 256 がインスリン作用へ与える影響

FoxO1 Δ 256 は マウスの肝臓において、FoxO1 により発現が増加す

る糖新生の律速酵素の *PEPCK* と *G6Pase* の発現を減少させ、血糖値を低下させた報告がある。脂肪細胞においても *FoxO1* への競合阻害効果を期待し、*FoxO1Δ256* を 3T3-L1 脂肪細胞に過剰発現させた。しかし予想に反し、*FoxO1Δ256* は 3T3-L1 脂肪細胞では *FoxO1-AAA* と同様に *Akt* のリン酸化を増強させ、DNA 合成を除いて *FoxO1-AAA* と逆の作用をもたらさなかった。

3. *FoxO1* の活性化による *Akt* のリン酸化の機序の探索

FoxO1-AAA が *Akt* のリン酸化を増強させる機序として、脂肪以外の細胞では *Akt* の上流因子のインスリン受容体 β サブユニット、PI 3-キナーゼ *p110 α* サブユニット、*Rictor* の発現を増加させた報告がある。しかし 3T3-L1 脂肪細胞においては、*FoxO1-AAA* はこれらの上流因子の mRNA の発現およびタンパク量に有意な変化をもたらさなかった。*FoxO1-AAA* は PI 3-キナーゼの活性を増強させたが、*Akt* のリン酸化の増強と比較すると軽度であった。

【考察・結論】

脂肪細胞での *FoxO1* の恒常活性化は、インスリンの糖・脂質代謝作用のみを模倣し、DNA 合成・タンパク合成などの細胞増殖・成長作用は模倣しなかった。これらの結果は、脂肪特異的な *FoxO1* の活性が、腫瘍の危険を増加させることなく糖代謝を改善させることを示唆した。また、*FoxO1Δ256* は肝臓とは異なり、脂肪細胞においては、競合阻害効果を必ずしももたらさないことが示された。最後に、3T3-L1 脂肪細胞において、*FoxO1-AAA* は PI 3-キナーゼと *Akt* のリン酸化の比較から、*FoxO1* による *Akt* 活性化の機序は主に PI 3-キナーゼよりも下流に存在することが判明した。