

Banyu Foundation Research Grant 2011—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <概要>

所 属	東北大学・大学院医工学研究科・病態ナノシステム医工学
氏 名	畠山 裕康
研究テーマ	GLUT4 一分子動態に基づく骨格筋細胞における GLUT4 輸送システムの包括的定量解析

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

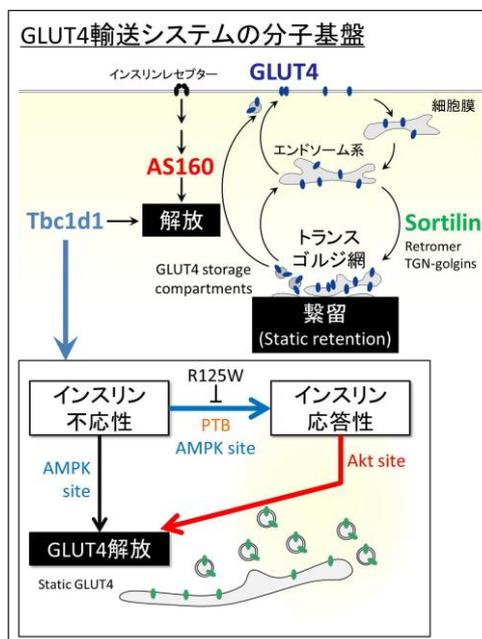
申請者は、インスリンや運動によって促進される細胞内への糖取り込みを担う糖輸送体 GLUT4 の輸送システムを、独自に確立した新しい実験手法 (GLUT4 一分子動態計測系: 細胞内における GLUT4 分子動態を一分子イメージングに基づいて高精度計測する手法) を用いて定量理解する試みを進め、本研究開始時点までに、3T3L1 脂肪細胞に存在する「繫留システム」と「解放システム」とで構成される GLUT4 輸送システムの明確な定量記述に成功していた (Mol. Biol. Cell 2010)。本研究では、上記成熟した輸送システムを構築する分子基盤の解明と本手法の汎用化を目指した改良を目的として GLUT4 一分子動態計測系を用いた解析を進めた。その結果、大別して

1. 繫留システムを構築する制御因子としての sortilin の機能解明 (Traffic 2011)
2. 解放システムを構築する制御因子としての Tbc1D ファミリー Rab GTPase 活性化タンパク質 AS160/Tbc1d4 および Tbc1d1 の機能解明 (Traffic 2011, Mol. Biol. Cell 2013)
3. 複数の分子の一分子動態を同時に高精度計測するための新規手法の開拓 (Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. 2013)

に成功した。Sortilin および AS160/Tbc1d4 および Tbc1d1 は、生化学的に GLUT4 輸送制御への関与が示唆されていたが、新しい手法を用いた本研究によって初めてその機能と輸送制御部位を明確に解明できた。1.に関連して、2型糖尿病に特徴的な病態の一つであるインスリン抵抗性下において上記繫留システムが顕著に破綻していることを発見した。これは、現在までインスリンシグナル伝達の障害が原因と広く考えられていたインスリン抵抗性に「GLUT4 輸送システムの破綻 (ソーティング障害) による疾患」という新たな概念を提示したものである。また、2.に関して、

骨格筋細胞に豊富に発現する Tbc1d1 には「インスリン不応性」と「インスリン応答性」の異なる2つの極めて特徴的な制御様式が存在し、通常は「インスリン不応性」であるが、ここに AMPK 活性化や細胞内 Ca²⁺濃度上昇など運動を模倣する刺激を与えることによって制御様式が遷移し、初めて「インスリン応答性」を獲得できることを見出した。すなわち、Tbc1d1 の示す特徴的な制御様式とその遷移が運動効果 (運動によるインスリン応答性の向上) に関与する可能性を示唆する。さらに、重症肥満と強く関連する Tbc1d1 のミスセンス変異 (R125W) はこの制御様式の遷移を欠失させることも見出しており、病態との関連も示唆される。

以上の知見は複数の学術論文として発表したとともに、国内外の複数の学術集会において発表した。特に、第73回米国糖尿病学会 (2013年、シカゴ) においては、注目演題として学会公式広報誌に掲載された。



2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ・ 国内外を問わない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2013/9/20 口頭(招待)	北海道大学電子科学研究所・第2回蛍光イメージングミニシンポジウム、 畠山 裕康 、分子動態に基づく細胞内輸送システムの定量解析
2	2013/7/18 口頭・ポスター	FASEB Science Research Conferences – Glucose transport: Gateway for metabolic systems biology, Hatakeyama H. and Kanzaki M. Intracellular trafficking nanometry for quantifying GLUT4 translocation.
3	2013/7/4 口頭	35th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, Hatakeyama H. and Kanzaki M. Development of dual-color simultaneous single molecule imaging system for analyzing multiple intracellular trafficking activities.
4	2013/6/23 口頭	73rd Scientific Session of the American Diabetes Association, Hatakeyama H. and Kanzaki M. Molecular basis of Tbc1d1 for acquiring temporal insulin-responsive ability triggering GLUT4 translocation. ※ 注目演題として公式広報誌に掲載
5	2013/5/18 口頭	第56回日本糖尿病学会年次学術集会、 畠山 裕康 ・神崎 展、Tbc1d1が示すインスリン不応性およびインスリン応答性 GLUT4 輸送制御とその遷移による「インスリン応答性獲得」の分子基盤
6	2013/2/21-23 口頭・ポスター	第3回 Vivid workshop、 畠山 裕康 ・神崎 展、一分子計測に基づく細胞内輸送システムの定量計測
7	2012/12/18 ポスター	2012 Annual Meeting of the American Society for Cell Biology, Hatakeyama H. and Kanzaki M. Unique regulatory mechanism of Tbc1d1 RabGAP in GLUT4 trafficking revealed by single molecule imaging of GLUT4 behavior
8	2012/7/12-14 ポスター	第30回内分泌代謝学サマーセミナー、 畠山 裕康 ・神崎 展、糖輸送体 GLUT4 の一分子イメージングにより解明した輸送調節機構とその障害
9	2012/6/8 口頭	72nd Scientific Session of the American Diabetes Association, Hatakeyama H. and Kanzaki M. Characterization of unique regulatory mechanism of Tbc1d1 in GLUT4 trafficking by single molecule analysis of GLUT4 behavior
10	2012/5/19 口頭	第55回日本糖尿病学会年次学術集会、 畠山 裕康 ・神崎 展、GLUT4 輸送調節における AS160 と Tbc1d1 の作用点とその分子機序
11	2011/12/5 ポスター	2011 Annual Meeting of the American Society for Cell Biology, Hatakeyama H. & Kanzaki M. Distinct roles of two Rab GAPs, AS160/Tbc1d4 and Tbc1d1, in intracellular GLUT4 trafficking analyzed by single molecule imaging of GLUT4 behavior

12	2011/9/22 口頭・ポスター	第 84 回日本生化学会大会、 <u>畠山 裕康</u> ・神崎 展、細胞内輸送の新規定量解析系を用いたインスリン応答性 GLUT4 輸送システムの分子基盤解析
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2013/12/14-18	2013 Annual Meeting of the American Society for Cell Biology, <u>Hatakeyama H.</u> and Kanzaki M.
2	2013/12/14-18	2013 Annual Meeting of the American Society for Cell Biology, Kaita S., Shinagawa R., <u>Hatakeyama H.</u> and Kanzaki M.