

## 酸化ストレスとインスリン抵抗性

水流添 覚 西川 武志 荒木 栄一

### 酸化ストレスとは

酸化ストレスは、「生体内の酸化反応と還元反応のバランスが崩れ、前者に傾いた状態」と定義される。エネルギー代謝など様々な細胞活動の過程で活性酸素種 [reactive oxygen species; (ROS)；スーパーオキシド ( $O_2^-$ ) や過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) など] が産生される。ROS は通常、抗酸化物質により直ちに除去されるが、ROS の過剰産生や ROS 消去系の減弱により酸化ストレスが生じる。酸化ストレスは生体の構成成分である蛋白質、脂質、糖質、DNA と反応してこれらを変性させるとともに、過酸化体を産生して反応を拡大する。また、生体構成物の酸化による直接的な細胞傷害のみならず、種々のストレス感受性シグナルを活性化

する。抗酸化剤であるビタミン E、ビタミン C、 $\alpha$  リポ酸などがインスリン感受性を改善するといういくつかの臨床的報告から、酸化ストレスとインスリン抵抗性の相関が示唆されてきた。1990 年代後半からの主に培養細胞を用いた実験において、細胞に酸化ストレスを加えるとインスリン依存性ブドウ糖取り込みが減弱することが示され、酸化ストレスとインスリン抵抗性の関連の一端が明かされた。

本稿では最近次第に明らかとなりつつある酸化ストレスとインスリン抵抗性の関係について、酸化ストレスのソースおよびインスリン作用への影響の分子メカニズムに分けて概説する。

### インスリン抵抗性と関連した酸化ストレスのソース

#### 1. 栄養素と酸化ストレス

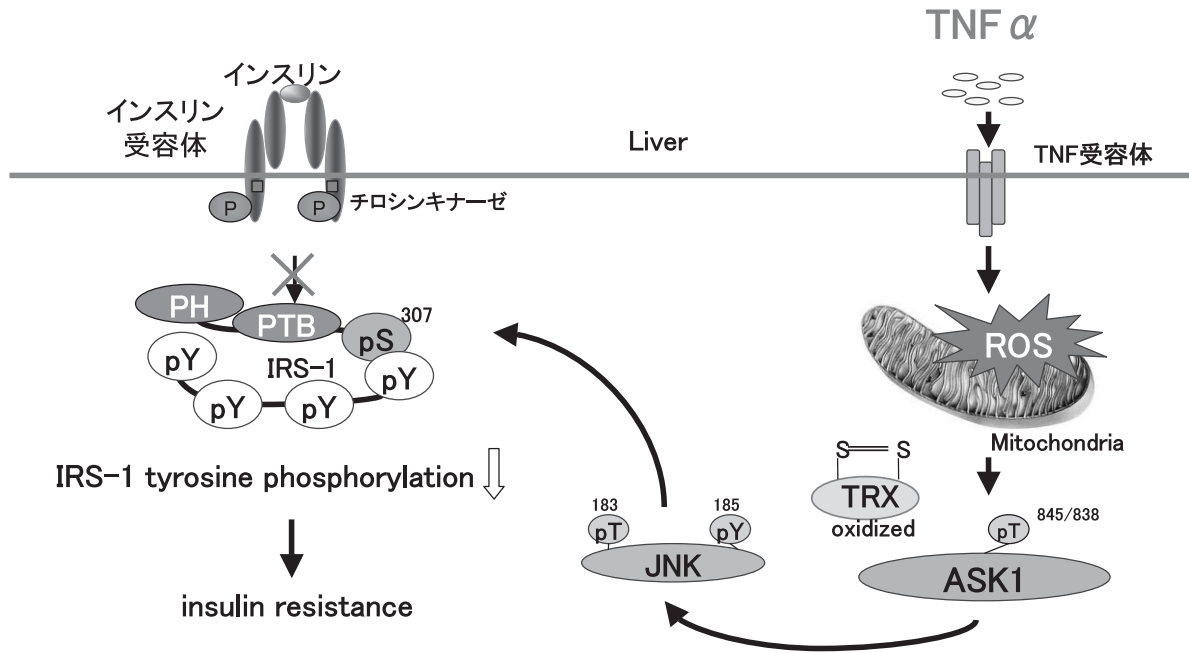
遊離脂肪酸 (FFA) やブドウ糖などの栄養素は、代謝系を経てミトコンドリア TCA 回路へ供給される。ブドウ糖は嫌気性代謝を経て、FFA は  $\beta$ -酸化を経てアセチル CoA にまで変換され、TCA 回路へと流入する。TCA 回路でアセチル CoA 1 分子あたり 4 分子

の還元型補酵素 (3 分子の NADH と 1 分子の  $FADH_2$ ) が生成される。還元型補酵素はミトコンドリア内膜での酸化的リン酸化で消費され ATP 産生の原動力となるが、過剰の栄養素流入の結果として NADH が過剰となると、酸化的リン酸化により消費しきれない 1 価の電子が酸素分子に供与され、superoxide anion が産生される。

一方、レドックスシグナル応答による活性酸素生成の中心的役割を担うと考えられる細胞膜タンパク NADPH オキシダーゼ (Nox) も、栄養素による酸化ストレスに関与する。Nox による ROS 生成は、電子伝達系 ROS のような副次的産物ではなく、酵素活性の真の産物と考えられる。すなわち、何らかの細胞刺激に応じて合目的に ROS 生成を調節する。脂肪細胞に FFA を負荷すると ROS が生成されるが、Nox 阻害剤であるアボサイニンで細胞を処置すると FFA による ROS 生成が著明に減弱することから、FFA による酸化ストレスには Nox も関与することが示唆される<sup>1)</sup>。

#### 2. サイトカイン、ホルモンと酸化ストレス

炎症性サイトカインの一つ  $TNF\alpha$  がインスリン抵抗性を惹起することは広く知られている。 $TNF\alpha$  によるインスリン作用障害機序の一つとして insulin receptor substrate-1 (IRS-1) セリン残基のリン酸化による IRS-1 チロシンリン酸化の障害があるが、肝由来培養細胞を  $TNF\alpha$  で刺激すると IRS-1 のセリンリン酸化亢進とともに、細胞内酸化ストレスの増加が認められる。この細胞にミトコンドリアに局在する ROS 除去酵素 manganese superoxide dismutase (MnSOD) を導入すると、 $TNF\alpha$  による IRS-1 セリンリン酸化亢進を阻害できることから、この系にミトコンドリア ROS が関与することが明らかとなった<sup>2)</sup>。 $TNF\alpha$  は acid sphingomyelinase (ASMase) を活性化しセラミドの蓄積をもたらすが、このセラミドにより活性化されるプロテインキナーゼ ceramide activated protein kinase (CAPK) がミトコンドリア ROS 過剰生成を引き起



**Fig. 1** ミトコンドリア ROS によるインスリンシグナル障害

炎症性サイトカイン TNF $\alpha$  が受容体に結合すると、セラミドを介してミトコンドリア ROS の過剰産生をもたらす。ミトコンドリア ROS は TRX を酸化することで ASK1 の活性化と引き続く JNK の活性化を引き起こす。JNK は IRS-1 のセリン 307 残基をリン酸化することにより IRS-1 とインスリン受容体の会合を阻害することで、インスリン刺激による IRS-1 チロシンリン酸化を抑制すると考えられる<sup>2)</sup>。

IRS-1 : insulin receptor substrate-1, TRX : thioredoxin, ASK1 : apoptosis signal-regulating kinase 1, JNK : c-Jun N-terminal kinase

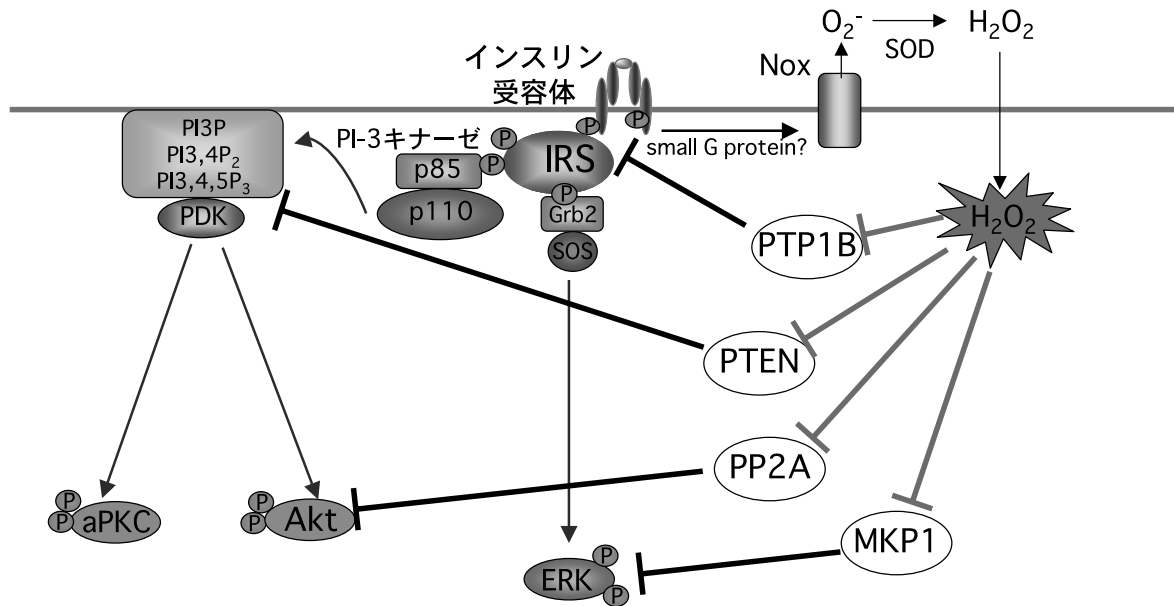
こすと考えられている (Fig. 1)。脂肪細胞においても TNF $\alpha$  はインスリン依存性ブドウ糖取り込み障害などを引き起こすが、酸化ストレス除去酵素である MnSOD や Copper zinc (Cu/Zn) SOD, カタラーゼ等の導入により改善する<sup>3)</sup>。さらに興味深いことに、これらの抗酸化酵素の導入によってステロイドホルモン (デキサメタゾン) によるインスリン依存性ブドウ糖取り込み障害をも改善することが示された<sup>3)</sup>。ステロイドホルモンによるインスリン抵抗性惹起に関しては、インスリン作用伝達や糖脂質代謝関連分子の遺伝子発現を制御することによりもたらされると考えられてきたが、ROS 関連分子もその作用発現に関わるのかもしれない。

### 酸化ストレスによるインスリン抵抗性発症の分子メカニズム

前述のように、TNF $\alpha$  によるインスリン作用障害には酸化ストレスが関与するが、Imoto らはこの作用に apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1)/c-Jun N-terminal kinase (JNK) が関わることを明らかにした<sup>2)</sup>。ASK1 には通常還元型チオレドキシンが結合し ASK1 キナーゼ活性を阻害しているが、ROS によりチオレドキシンが酸化されると ASK1 から解離し、ASK1 の活性化がもたらされる。ミトコンドリア

ROS が増加することにより ASK1 が活性化され、引き続き JNK の活性化を生じ、これが IRS-1 のセリン残基 (Ser<sup>307</sup>) をリン酸化することで、IRS-1 レベルでのインスリン作用障害を引き起こす (Fig. 1)。酸化ストレスは ASK1/JNK 以外にも nuclear factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), p38 MAP kinase, protein kinase C (PKC) などのストレス応答シグナルを活性化することが知られているが、これらはまた、インスリン抵抗性への関与が示唆される分子であり、ストレス応答シグナルとインスリン作用障害の関連について今後更なる解析が待たれる。

また、培養脂肪細胞を用いた解析では、酸化ストレスがアディポネクチンや plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-I), interleukin 6 などのアディポサイトカイン発現異常を引き起こすことが示されている<sup>1)</sup>。このうちアディポネクチンに関しては、酸化ストレスがアディポネクチン遺伝子の転写抑制をもたらす発現を減少させる。アディポネクチンは骨格筋や肝臓に作用し糖代謝改善をもたらすが、脂肪組織局所に誘導された酸化ストレスはアディポサイトカイン発現異常を介して全身のインスリン感受性に影響を及ぼす可能性がある。肥満糖尿病モデルである KKAy マウスでは脂肪組織に特異的に酸化ストレスがみられるが、Nox 阻害剤をマウスに投与すると白色脂肪組織



**Fig. 2** インスリン依存性 ROS 生成とインスリンシグナルの増強  
 インスリンが受容体へ結合すると、Nox 活性化により急速(1 分以内)な、一過性の ROS( $H_2O_2$ ) 生成が起こる。ROS はインスリンシグナルの負の調節因子(PTP1B, PTEN, PP2A, MKP1)を不活化することでインスリンシグナルを増強する<sup>5)</sup>。  
 Nox: NADPH oxidase, SOD: superoxide dismutase, MKP1: MAP kinase phosphatase 1, PI: phosphatidylinositol, PTEN: phosphatase and tensin homologue, PTP1B: protein tyrosine phosphatase 1B, PP2A: protein phosphatase 2A

における ROS 産生を抑制するとともに、全身の糖代謝改善を示すことが報告されている。

### インスリンシグナルのセカンドメッセンジャーとしての ROS とインスリン感受性

細胞をインスリンで刺激すると  $O_2^-$  や  $H_2O_2$  といった ROS が一過性に生成されることから、ROS がインスリンシグナルのセカンドメッセンジャーとして働いているのではないかという仮説は古くからあった。Goldstein らは、インスリンによる ROS 生成が Nox ホモログの一つである Nox4 を介することを示し、さらにインスリン依存性 ROS の生成を Nox 阻害剤によってブロックするとインスリン受容体および IRS-1 のチロシン酸化が減弱することから、インスリン依存性 ROS がインスリン作用伝達系を正に調節する役割を担うことを報告した(Fig. 2)<sup>4,5)</sup>。ROS がインスリン受容体および IRS-1 のチロシン酸化を亢進させるのは、protein tyrosine phosphatase (PTP) 1B などのチロシンフォスファターゼの活性中心に位置するシスチン残基を酸化することで、酵素の脱リン酸化活性を阻害するためと考えられる(Fig. 2)。またインスリン依存性 ROS は、phosphatidylinositol(3,4,5)-trisphosphate (PIP3) 脱リン酸化酵素である phosphatase and tensin homologue (PTEN) を酸化し、酵素活性を不活化することで phosphatidylinositol

(PI)-3 kinase/protein kinase B(PKB)シグナルを正に調節することも報告されている<sup>5)</sup>。In vivo の解析のうち、抗酸化酵素グルタチオンペルオキシダーゼを過剰発現するトランスジェニックマウスでは、インスリン感受性が低下したという動物実験結果があるが、これは ROS によるインスリンシグナル改善作用の存在を示唆する結果である。

### おわりに

ROS とインスリン作用の関係は単純でなく、インスリン感受性増悪作用とインスリン感受性改善作用の二面性を持つと考えられる。抗酸化剤の治療応用を考える上でこの点は重要であり、どのような種類の酸化ストレスがインスリン抵抗性に関与するか、そのソースと分子メカニズムについて更なる解明が必要である。

### 文献

- 1) Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M, Shimomura I (2004) Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 114: 1752-1761
- 2) Imoto K, Kukidome D, Nishikawa T, Matsuhisa T, Sonoda K, Fujisawa K, Yano M, Motoshima H, Taguchi

- T, Tsuruzoe K, Matsumura T, Ichijo H, Araki E (2006) Impact of mitochondrial reactive oxygen species and apoptosis signal-regulating kinase 1 on insulin signaling. *Diabetes* 55:1197-1204
- 3) Houstis N, Rosen ED, Lander ES (2006) Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. *Nature* 440:944-948
- 4) Mahadev K, Motoshima H, Wu X, Ruddy JM, Arnold RS, Cheng G, Lambeth JD, Goldstein BJ (2004) The NAD(P)H oxidase homolog Nox4 modulates insulin-stimulated generation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and plays an integral role in insulin signal transduction. *Mol Cell Biol* 24:1844-1854
- 5) Goldstein BJ, Mahadev K, Wu X, Zhu L, Motoshima H (2005) Role of insulin-induced reactive oxygen species in the insulin signaling pathway. *Antioxid Redox Signal* 7:1021-1031