

S 3-4

インスリンにより調節される糖輸送体GLUT4の動態

高田邦昭 (群馬大・医・第一解剖, 群馬大・生体調節研究所・細胞構造)

糖輸送体GLUT4は、促進拡散型糖輸送体GLUTファミリーに属する膜蛋白質で、インスリンによって糖のとりこみが調節される脂肪細胞や筋肉の細胞などに特異的に発現している。GLUTの他のアイソフォームが細胞膜に局在するのに対し、GLUT4は主として細胞内の膜系に局在するので、インスリン刺激のないときは細胞の糖輸送能は低い。インスリンの刺激時には、インスリン受容体、IRS-1、PI3キナーゼを介する系により細胞内で情報が伝達され、GLUT4を有する小胞は細胞膜と融合して細胞表面での糖の取り込みをおこなう。このようにGLUT4は、インスリンによる血糖調節機構において重要な役割をはたしている。今回はGLUT4の局在と動態を蛍光抗体法ならびに免疫電顕法により解析した。GLUT4特異的なC末ペプチドを用いて作製したアイソフォーム特異的な抗体を用いてラット骨格筋を蛍光抗体法で染色すると、核周囲の強いラベルと、細胞質に散在するラベルが観察された。凍結超薄切片の免疫電顕観察により核周囲のラベルはゴルジ装置、なかでもそのトランス側であるのが判明した。また細胞内に散在する小胞もGLUT4陽性だった。インスリン刺激により細胞膜へのGLUT4の移行が観察されたが、細胞内にはゴルジ野をはじめとして依然として多量のGLUT4が残存していた。GLUT4をCHO細胞で発現すると骨格筋細胞と同様に細胞内に局在した。またin vivoエレクトロポレーション法により、生体ラット肝の肝細胞や膵臓の外分泌細胞で発現させても細胞内に局在し、GLUT4には細胞内局在の情報があるのが判明した。次にマウス3T3線維芽細胞に由来する3T3-L1脂肪細胞を用いて、細胞内GLUT4の局在部位と動態を解析した。3T3-L1脂肪細胞を、酸性コンパートメントに取り込まれるDAMP、エンドサイトシスマーカーの蛍光標識トランスフェリンや蛍光標識デキストラン等とインキュベートした。また細胞表面のビオチン化も試みた。凍結準超薄切片を作製し、抗DNP抗体、抗GLUT4抗体、抗EEA1抗体、抗カテプシンD抗体等を用いて、蛍光多重標識をおこなった。またグリーンフルオロレッセントプロテイン(GFP)標識GLUT4を3T3-L1脂肪細胞で発現させ、その局在を追跡した。このような解析により、糖輸送体GLUT4は、リソゾームとは異なるコンパートメントにあり、エンドゾームにも少量しか存在しないことが判明した。