



# 肝臓特異的3-phosphoinositide-dependent protein kinase1 (pdk1) 欠損マウスの作成とその糖代謝異常の解析

西澤, 昭彦

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2003-03-31

(Date of Publication)

2013-05-09

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲2822

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1002822>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



# 肝臓特異的 3-phosphoinositide-dependent protein kinase1(PDK1) 欠損マウスの作成とその糖代謝異常の解析

西澤 昭彦

神戸大学大学院医学系研究科  
 応用分子医学講座 糖尿病代謝・消化器・腎臓内科  
 連絡先：西澤昭彦  
 神戸大学大学院医学系研究科  
 応用分子医学講座 糖尿病代謝・消化器・腎臓内科  
 神戸市中央区楠町 7-5-1  
 電話：078-382-5861 ファックス：078-382-2080

(平成15年1月6日受付)

## 【要 約】

3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1 (PDK1) は phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-K) 依存性に活性化される蛋白リン酸化酵素であり、インスリン作用のエフェクター分子である Akt, p70S6 キナーゼ, atypical PKCs などの蛋白リン酸化酵素の活性化に関与することが示唆されている。本研究では、Cre-loxp システムを用いて肝臓特異的に PDK1 遺伝子を欠損するマウス (L-PDK1KO) を作成し、インスリン作用のエフェクター分子の活性化や糖代謝恒常性維持機構における PDK1 の生理的意義を解析した。L-PDK1KO の肝臓における PDK1 蛋白の発現量は対照の 5%以下に減少していた。随時接食時の肝臓重量が対照に比し20%程度減少しており、グリコーゲン蓄積の低下がおそらくその原因と考えられた。L-PDK1KO の肝臓ではインスリン依存性の Akt の308位のリン酸化は著しく低下していたが、473位のリン酸化には影響がなかった。L-PDK1KO において空腹時、随時接食時の血糖及び血漿インスリン値は上昇しており、糖負荷試験時の血糖上昇反応も増強していた。一方、外来インスリンに対する血糖降下反応は低下していた。以上の結果から、PDK1 は生体においても Akt の活性化に必須の分子であるとともに、糖代謝恒常性の維持に重要な機能を果たすことが明らかとなった。

## 【緒 言】

Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-K) はインスリンの代謝調節作用の発現に重要な機能を果たす脂質リン酸化酵素である<sup>1)</sup>。PI3-K の薬理的阻害剤で処理した細胞や優位抑制型変異体を発現させた細胞ではインスリンの各種の代謝調節作用が抑制される<sup>1)</sup>。また、肝臓特異的に優位抑制型 PI3-K を発現させたマウスでは糖・脂質・蛋白代謝と多岐にわたる代謝障害が生じることも報告されており<sup>2)</sup>、個体レベルでも PI3-K が代謝調節の重要な制御印紙であることが明らかとなっている。

PI3-K の下流では Akt, p70S6 キナーゼ, atypical PKC などの蛋白リン酸化酵素がインスリン作用のエフェクター分子として機能すると考えられている<sup>1)</sup>。PI3-K は細胞膜に存在する phosphatidylinositol (PI) 4, 5-2 リン酸のイノシトール環の D3 位をリン酸化し、PI3, 4, 5-3 リン酸を生成する。3-phosphoinositide dependent protein kinase1 (PDK1) は無細胞系で、PI3, 4, 5-3 リン酸存在下に活性化する蛋白リン酸化酵素として同定された<sup>3)</sup>。PDK1 は PI3, 4, 5-3 リン酸の存在下に、Akt, p70S6 キナーゼ, atypical PKC といった蛋白リン酸化酵素のキナーゼ活性ドメインに存在するセリン・スレオニン残基をリン酸化し、活性化することが知られている。実際、PDK1 遺伝子を欠失した胚性幹細胞ではインスリンをはじめとした増殖因子依存性の Akt, p70S6 キナーゼなどの蛋白リン酸化酵素のリン酸化や活性化がほぼ完全に阻害され<sup>4)</sup>、atypical PKC を含む PKC アイソフォームの安定性

キーワード：肝臓、遺伝子改変マウス、PDK1、PI3-K、インスリン抵抗性

や活性が障害される<sup>5)</sup>。しかし、PDK1 遺伝子を欠損したマウスは胎生期に死亡するため<sup>6)</sup>、PDK1 の欠損が個体レベルでのインスリン作用にどのような影響を及ぼすかは明らかではない。さらに、PDK1 の活性が正常の20%程度にまで低下した遺伝子改変マウスでは、インスリン依存性の Akt の活性化がほぼ正常に生じるとの報告もあり<sup>6)</sup>、実際に個体レベルでも Akt をはじめとした PI3-K の下流のエフェクター分子の活性化機構に PDK1 が必須であるか否かについても明らかではない。

本研究では、PI3-K 依存性蛋白キナーゼの活性化における PDK1 の必要性和インスリンの代謝調節作用における PDK1 の生理的意義を明らかにするため、Cre-LoxP システムを用いて、肝臓特異的に PDK1 を欠損するマウスを作成し、その表現型を解析した。

## 【方 法】

### 肝臓特異的 PDK1 欠損マウスの作成

遺伝子相同組み換え法により PDK1 遺伝子の第 3、第 4 エクソンの両側に loxP 配列を挿入したマウス (PDK1flox/+) を作成した。本マウスを CAG プロモーターより Cre リコンビナーゼを胚性に発現するトランスジェニック (Tg) マウス (大阪大学宮崎純一博士より供与)<sup>7)</sup>と交配させ PDK1 ヘテロ欠損マウス (PDK1+/-) を作成し、PDK1+/- 同士の交配から PDK1 ホモ欠損マウス (PDK1-/-) の作成を試みた。また、PDK1flox/+ 同士の交配により PDK1 遺伝子両側アレルに loxP 配列を有するマウス (PDK1flox/flox) 及び両側アレルに野生型 PDK1 遺伝子を有するマウス (PDK1+/+) を得て、両者の各種代謝パラメータを比較した。また、PDK1flox/+ と、アルブミンプロモーターにより Cre リコンビナーゼを肝臓特異的に発現する Tg マウス (AlbCr, 米国国立衛生研究所, D.Reloith 博士より供与)<sup>8)</sup>との交配により、PDK1 遺伝子片側アレルに loxP 配列を有し、かつ肝臓特異的に Cre リコンビナーゼを発現するマウス (PDK1flox/+;AlbCr) を得た。PDK1flox/+AlbCr と PDK1flox/flox との交配により、PDK1 遺伝子両側アレルに loxP 配列を有し、かつ肝臓特異的に Cre リコンビナーゼを発現するマウス [PDK1flox/flox;AlbCr(L-PDLIKO)] を得た。さらに、PDK1flox/flox と L-PDK1KO との交配を行い、得られた PDK1flox/flox と L-PDK1KO の代謝パラメータを比較検討した。

### イムノプロット及び血糖、血中インスリン値の測定

抗 PDK1 抗体はテキサス大学サンアントニオ校 F. Liu 博士より供与を受けた<sup>9)</sup>。抗 Akt 抗体は Upstate Biotechnology 社より、Akt の 308 位または、473 位抗リン酸化特異抗体は Cell Signaling 社より購入した。インスリン依存性の Akt のリン酸化はマウスを 16 時間絶食後、ネブタール麻酔下でヒト速効型インスリン (マウス体重 1 kg あたり 5 単位) を尾静脈に投与し、5 分後に肝臓を摘出し、液体窒素中で凍結後、-80 °C で保存した。摘出臓器から既報のごとく<sup>2)</sup> 細胞可溶化分画を調整した後、イムノプロットに供した。血糖は静脈全血を用いてグルテストプロ (三和科学研究所) により、インスリン値は血漿を用いてマウスインスリン ELISA キット (シバヤギ) により測定した。

### 経口糖負荷試験及び腹腔インスリン負荷試験

経口糖負荷試験では、マウスを 16 時間絶食の後、ネブタール麻酔下でマウス体重 1 kg あたり 2 g のブドウ糖を含む蒸留水を経口的に投与した後、経時的に尾静脈よの血液を採取し、血糖を測定した。腹腔インスリン負荷試験では、随時摂食状態のマウスに、経腹腔的にマウス体重 1 kg あたり 1 単位のヒト速効性インスリンを投与し、経時的に血糖を測定した。

## 【結 果】

PDK1+/- 同士の交配から PDK1-/- は出生せず、PDK1 の全身での欠損は胎生期において致死的事であることが示唆された。次に PDK1 遺伝子への loxP 配列挿入の PDK1 の発現や各種代謝パラメータへの影響を検討するため、PDK1flox/+ 同士の交配から得られた PDK1+/+ と PDK1flox/flox について比較検討した。出生後 8 週までの観察で、PDK1+/+ と PDK1flox/flox の体重に差はなかった (図 1-a)。また、肝臓 (図 1-b) をはじめその他の各臓器での PDK1 蛋白発現量 (データ示さず)、8 週齢での空腹時血糖 (図 1-c) 及びインスリン値 (データ示さず)、随時摂食下血糖及びインスリン値 (データ示さず)、経口糖負荷試験時の血糖上昇反応 (データ示さず)、インスリン負荷試験時の血糖降下反応 (データ示さず) のいずれも、PDK1+/+ と PDK1flox/flox の間で差を認めなかった。以上の結果から、PDK1 遺伝子座への loxP 配列の挿入は、PDK1 蛋白の発現量、耐糖能及びインスリン感受性に影響を及ぼさないことが示唆された。次に PDK1flox/flox と L-PDK1KO の交配により、両遺伝子のマウスを得てそれらを比較することにより肝臓特異的な PDK1 の欠損がマウスに与える影響を検討した。両遺伝子型のマウスはメンデルの法

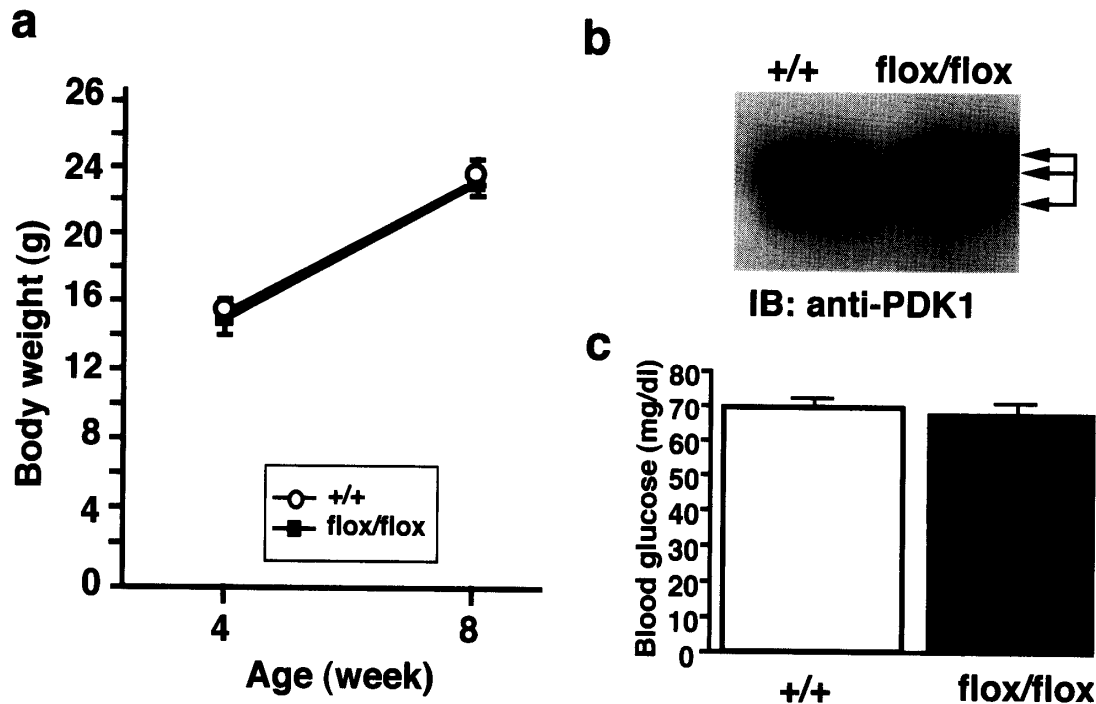


図1

- a. PDK1+/+, PDK1flox/flox 両マウスの各週齢における体重の変化  
PDK1+/+ (N=9), PDK1flox/flox (n=9) の各遺伝子のマウスの体重を各週齢において随時摂食下で午前10時から12時の間に測定した。統計解析に t 検定を用いた。
- b. PDK1+/+, PDK1flox/flox 両マウスの肝臓における PDK1 蛋白の発現量の比較  
PDK1+/+, PDK1flox/flox の各遺伝子型の 8 週齢のマウスの肝臓から可溶性分画 (100  $\mu$ g) を調整しイムノブロット解析に供した。
- c. PDK1+/+, PDK1flox/flox 両マウスの空腹時血糖の比較  
PDK1+/+ (n=9), PDK1flox/flox (n=9) の各遺伝子の 8 週齢のマウスの血糖を、随時摂食下で午前10時から12時の間に測定した。統計解析に t 検定を用いた。

則に従って出生した。PDK1flox/flox と L-PDK1KO の体重を12週齢まで観察したが、両群間で差を認めなかった (図2-a)。肝臓における PDK1 蛋白の発現量は、L-PDK1KO では PDK1flox/flox に比し 5% 以下に低下していたが、他の臓器においては両群間で差を認めず (図2-b) 肝臓特異的な Cre リコンビナーゼの発現により肝臓でのみ PDK1 遺伝子の発現抑制が生じたことが示唆された。

随時摂食時の肝重量は L-PDK1KO で PDK1flox/flox に比し約20%低下していた (図3-a)。ヘマトキシリン・エオジン染色による組織学的検討では、L-PDK1KO の肝臓には小葉構造の異常や壊死像などは認めなかったが、PDK1flox/flox に比べ各肝細胞においてグリコーゲン蓄積からなるとされる胞体が著明に減少しており、細胞のサイズも小さかった (図3 b)。

Akt の308位のスレオニン残基は PDK1 によりリン酸化されると考えられている<sup>10)</sup>。インスリンの静脈内投与による肝臓での Akt のリン酸化を検討したところ、L-PDK1KO では Akt の308位のリン酸化は著明

に抑制されていたが、PDK1 非依存性にリン酸化を受けると考えられている473位のリン酸化<sup>3)4)</sup>の程度には影響がみられなかった (図4)。この結果から、肝臓において PDK1 蛋白の発現量低下により、PDK1 依存性のシグナル伝達の抑制が生じていることが示唆された。

L-PDK1KO の空腹時血糖は PDK1flox/flox に比して、約1.4倍に上昇していた (図5-a)。随時摂食時の血糖は L-PDK1KO で高い傾向を示したが、有意差はなかった (図5-b)。L-PDK1KO のインスリン値は、PDK1flox/flox に比し空腹時で約 8 倍 (図5-c) に、随時摂食時で約6.5倍 (図5-d) に増加していた。また、L-PDK1KO に経口糖負荷試験を施行したところ、著明な高血糖を呈した (図6-a)。L-PDK1KO の外来性インスリンに対する血糖降下反応は PDK1flox/flox に比して有意に減弱していた (図6-b)。

## 【考 察】

本研究では PDK1 のインスリンシグナル伝達機構

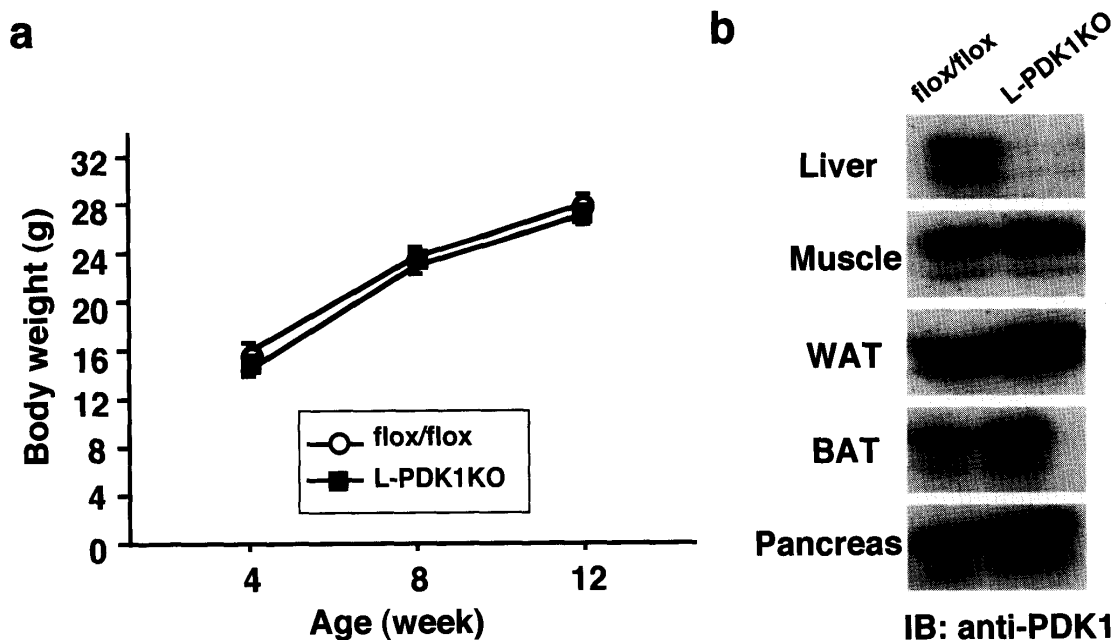


図 2

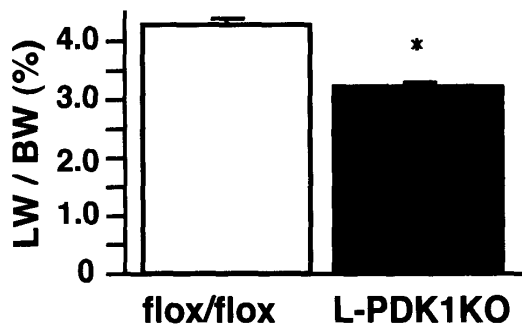
a. PDK1flox/flox, L-PDK1KO 両マウスの各週齢における体重の変化

PDK1flox/flox (n=9), L-PDK1KO (n=9) の各遺伝子型のマウスの体重を各週齢において随時摂食下で午前10時から12時の間に測定した。統計解析に t 検定を用いた。

b. PDK1flox/flox, L-PDK1KO 両マウスの各組織における PDK1 蛋白の発現量の比較

PDK1flox/flox, L-PDK1KO の各遺伝子型の 8 週齢のマウスの肝臓, 骨格筋, 白色脂肪組織 (White Adipose Tissue; WAT), 褐色脂肪組織 (Brown Adipose Tissue; BAT), 膵臓から可溶性分画 (100  $\mu$ g) を調整し免疫ブロット解析に供した。

a



b

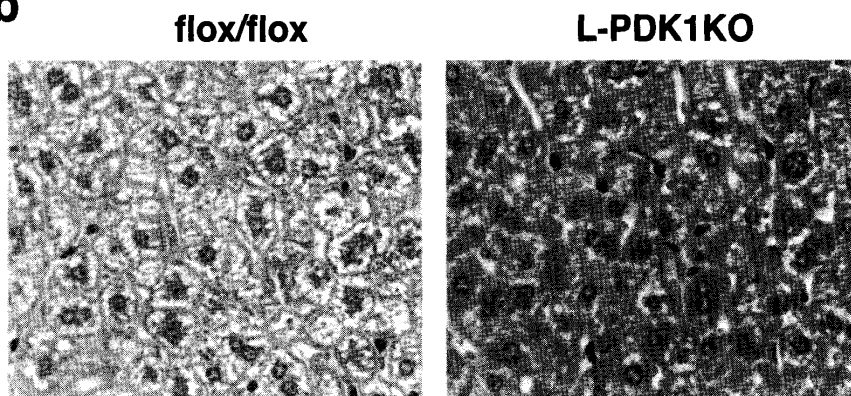


図 3

a. PDK1flox/flox, L-PDK1KO 両マウスの肝臓重量の比較

PDK1flox/flox (n=5), L-PDK1KO (n=6) の各遺伝子型の 8 週齢のマウスにおいて, 随時摂食下で体重 (Body weight; BW) 及び肝臓重量 (Liver weight; LW) を測定し, 肝臓重量の体重に占める割合 [LW/BW(%)] を両群間で比較した。統計解析に t 検定を用いた (\*,  $p < 0.05$ )。

b. PDK1flox/flox, L-PDK1KO 両マウスの肝組織像の比較

PDK1flox/flox, L-PDK1KO の各遺伝子型の 8 週齢のマウスから随時摂食下に肝臓を採取し, 10%中性緩衝ホルマリンで固定した。脱水, パラフィン包埋処理を行った後切片を作成し, H-E 染色を行った ( $\times 100$ )。

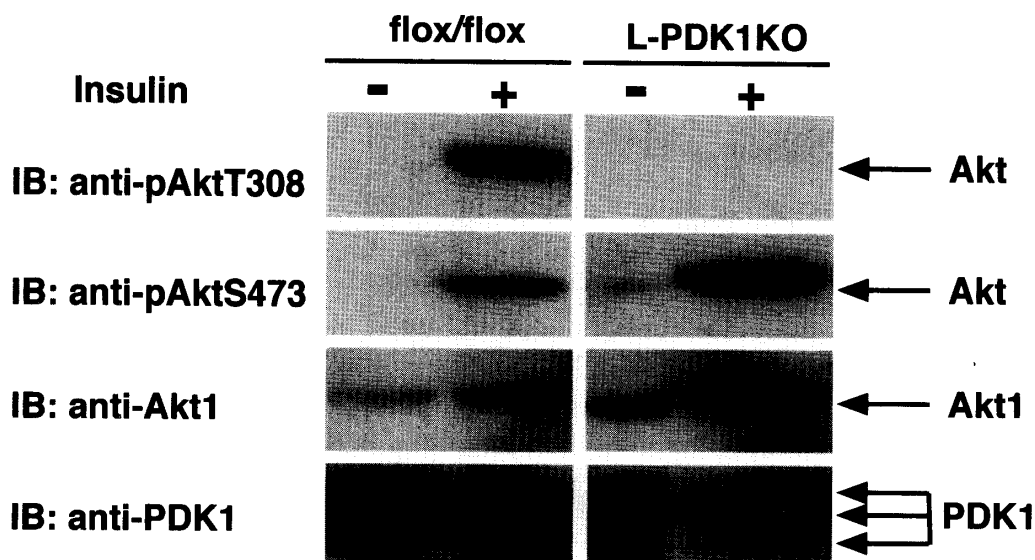


図 4

PDK1flox/flox, L-PDK1KO 両マウスの肝臓におけるインスリン依存性の AKT のリン酸化の比較

PDK1flox/flox, L-PDK1KO の各遺伝子型の 8 週齢のマウスにおいて、絶食後、インスリン投与群、非投与群それぞれから肝臓を採取し、可溶性分画 (100  $\mu$ g) を調整し免疫ブロット解析に供した。

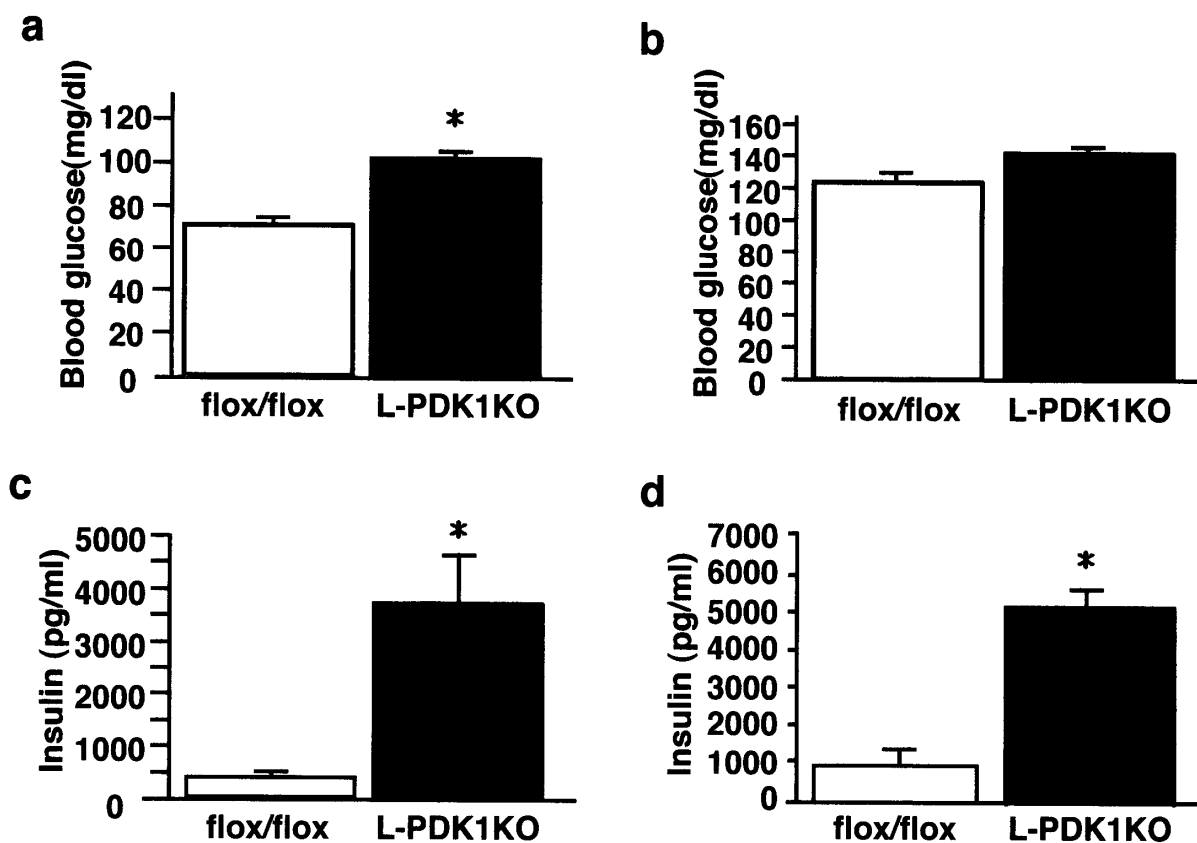


図 5

- PDK1flox/flox, L-PDK1KO 両マウスの空腹時血糖の比較
- PDK1flox/flox, L-PDK1KO 両マウスの随時摂食下の血糖の比較
- PDK1flox/flox, L-PDK1KO 両マウスの空腹時インスリン値の比較
- PDK1flox/flox, L-PDK1KO 両マウスの随時摂食下のインスリン値の比較

PDK1flox/flox (n=9), L-PDK1KO (n=9) の各遺伝子型の 8 週齢のマウスにおいて、随時摂食下及び 18 時間絶食後それぞれについて午前 10 時から 12 時の間について血糖値、インスリン値を測定した。統計解析に t 検定を用いた (\*, p<0.05)。

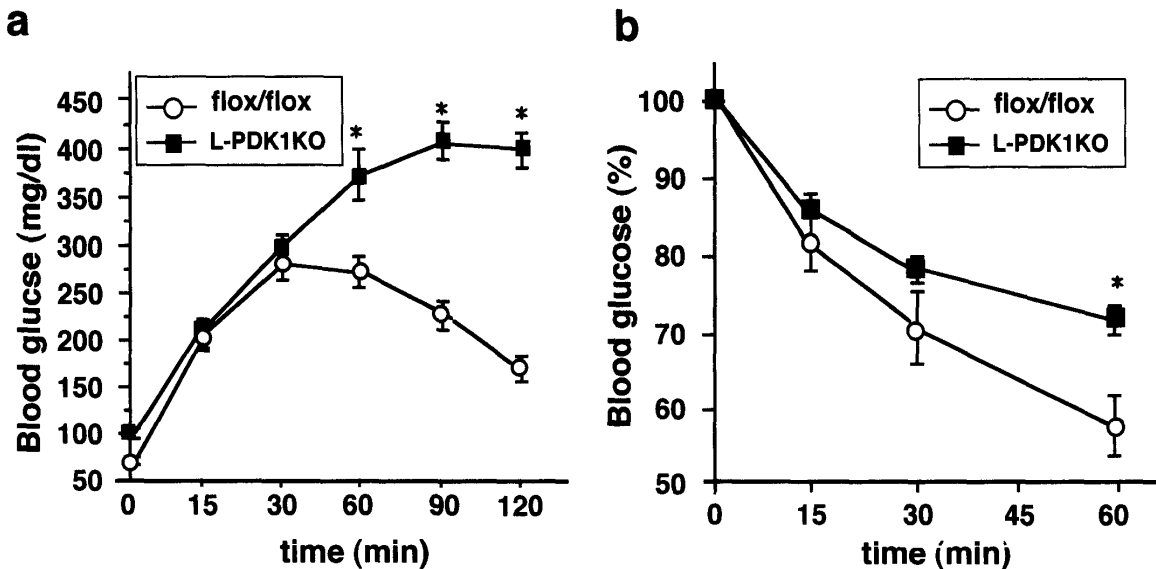


図 6

a. PDK1flox/flox, L-PDK1KO 両マウスのグルコース負荷時の血糖の変化

PDK1flox/flox (n=9), L-PDK1KO (n=9) の各遺伝子型の 8 週齢のマウスにおいて、16時間絶食後グルコースを負荷し、経時的に血糖を測定した。統計解析に t 検定を用いた (\*, p<0.05)。

b. PDK1flox/flox, L-PDK1KO 両マウスのインスリン負荷時の血糖の変化

PDK1flox/flox (n=9), L-PDK1KO (n=9) の各遺伝子型の週齢のマウスにおいて、随時摂食下で午前10時から12時の間にインスリンを負荷し、経時的に血糖を測定した。統計解析に t 検定を用いた (\*, p<0.05)。

及び糖代謝恒常性の維持機構における重要性を個体レベルで明らかにするため PDK1 を欠損したモデルマウスの作成を試みた。PDK1 遺伝子を全身で欠損したマウスは胎生9.5日齢で死亡することが報告されているが<sup>6)</sup>、編研究においても PDK1+/- 同士の交配から PDK1-/- は得られなかった。そこで Cre-loxP システムにより肝臓特異的に PDK1 を欠損するマウス (L-PDK1KO) を作成した。L-PDK1KO の肝臓における PDK1 蛋白発現量は対照の 5% 以下まで低下していたが、ほぼメンデルの法則に従って出生し、生後の成長障害も認めなかった。

L-PDK1KO では、随時摂食時の肝重量の減少を認めた。また組織学的検討からグリコーゲン含量の減少が示唆され、肝細胞のサイズも低下していた。PI3K 依存性のシグナルは肝臓のグリコーゲン蓄積に重要な機能を果たすことが知られており<sup>2)</sup>、L-PDK1KO の随時摂食時の肝重量及び肝細胞のサイズの低下は、PDK1 依存性のシグナル伝達機構の障害によるグリコーゲン含量の低下に起因するのかもしれない。一方、いくつかの遺伝子改変マウスの解析から P13-K シグナルは臓器サイズの決定に関与することが示唆されている<sup>11)12)</sup>。胚の段階から PDK1 の発現量が正常の 20% 程度に低下したマウスにおいても肝臓を含め全身の臓器サイズが縮小することが報告されている<sup>6)</sup>。このような知見を踏まえるに、PDK1 は細胞の増殖や肥大のシグナルに関与しており、PDK1KO の肝臓重量の低下

も、少なくともその一部は、増殖・肥大シグナルの抑制による可能性も否定できない。

L-PDK1KO ではインスリン依存性の Akt308位のリン酸化が著明に減弱しており、PDK1 が Akt のリン酸化に必須の因子であることが明らかとなった。PDK1 遺伝子を完全に欠失した胚性幹細胞では増殖因子依存性の Akt のリン酸化や活性化がほぼ完全に抑制されるものの<sup>4)</sup>、PDK1 の発現量が 20% 程度にまで低下したマウスでは肝臓をはじめとした各種の臓器でインスリン依存性の Akt のリン酸化・活性化がほぼ正常に生じることが報告されている<sup>6)</sup>。このような知見と本研究で得られた結果を考えあわせると、PDK1 は Akt のリン酸化には必須の分子であるものの、細胞内では PDK1 は過量に存在しており、減少してもある一定の蛋白量が残存していれば、下流へのシグナルを十分に伝達できるものと考えられる。L-PDK1KO では PDK1 蛋白量が著明に減少するため、Akt の 308位のリン酸化が抑制されると推測される。

L-PDK1KO は空腹時血糖及び糖負荷時の血糖上昇反応が対照に比べ有意に増強していた。空腹時及び随時摂食時の血漿インスリン値が高値であったこと、外来性のインスリン投与による血糖の降下反応が低下していたことから、L-PDK1KO の耐糖能障害はインスリン抵抗性によるものと考えられた。このような代謝パラメータの変化は、優位抑制型 P13-K をアデノウイルスベクターを用いて発現することにより作成され

た肝臓特異的 P13-K 活性抑制マウスと類似している<sup>2)</sup>。このことは肝臓における糖代謝調節機構において PDK1 は P13-K のシグナルの主要な部分を担うことを示唆するものである。今後、肝臓でのグリコーゲン合成や分解に関わる情報伝達分子・酵素の発現量や活性の変化、また、各種の糖脂質代謝関連遺伝子の発現量や誘導の変化の解析が、PDK1 の個体レベルでの機能を明らかとするためには重要であろう。

## 【謝 辞】

本研究にあたり、AlbCre Tg マウスを供与いただきました D. Reloith 博士、CAGCre Tg マウスを供与いただきました宮崎純一博士、PDK1 抗体を供与いただきました F. Liu 博士、及び PDK1flox/+マウスの作成にご協力賜りました癌研究会研究所野田哲生博士に深く感謝いたします。また、ご指導を賜りました神戸大学大学院応用分子医学講座、糖尿病代謝・消化器・腎臓内科春日雅人教授に厚くお礼申し上げます。

## 【文 献】

- 1) Ogawa, W., Matozaki, T., Kasuga, M.: Role of binding proteins to IRS-1 in insulin signalling. *Mol Cell Biochem.* 182:13-22, 1998.
- 2) Miyake, K., Ogawa, W., Matsumoto, M., Nakamura, T., Sakaue, H., Kasuga, M.: Hyperinsulinemia, glucose intolerance, and dyslipidemia induced by acute inhibition of phosphoinositide 3-kinase signaling in the liver, *J. Clin. Invest.* 110:1483-1491, 2002
- 3) Alessi, DR., James SR., Downs, CP., Holmes, AB., Gaffney, PRJ., Reese, CB., Cohen, P.: Characterization of a 3-phosphoinositide-dependent protein kinase which phosphorylates and activates protein kinase B $\alpha$ . *Curr Biol.* 7:261-269, 1997.
- 4) Williams, MR., Arthur, JSC., Balendran, A., Kaay, JVD., Poli, V., Cohen, P., Alessi, DR.: The role of 3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1 in activating AGC kinases defined in embryonic stem cells. *Curr Biol.* 10: 439-448, 2000.
- 5) Balendran, A., Hare, GR., Kieloch, A., Williams, Alessi, DR.: Further evidence that 3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1 (PDK1) is required for the stability and phosphorylation of protein kinase C (PKC) isoforms. *FEBS Lett.* 484:217-223, 2000.
- 6) Lawlor, MA., A., Ashby, PR., Williams, MR., Murray-Tait, V., Malone, L., Prescott, AR., Lucocq, JM., Alessi, DR.: Essential role of PDK1 in regulating cell size and development in mice. *EMBO J.* 21:3728-3738, 2002.
- 7) Sakai, K., Miyazaki, J.: A transgenic mouse line that retains Cre recombinase activity in mature oocytes irrespective of the cre transgenic transmission. *Biochem Biophys Res Commun.* 237(2):318-324, 1997.
- 8) Yakar, S., Liu, JL., Stannard, B., Butler, A., Accili, D., Sauer, B., LeRoith, D.: Normal growth and development in the absence of hepatic insulin-like growth factor 1. *Proc Natl Acad Sci USA.* 96: 7324-7329, 1999.
- 9) Dong, LQ., Zhang, RB., Langlais, P., He, H., Clark, M., Zhu, L., Liu, F.: Primary structure, tissue distribution, and expression of mouse phosphoinositide-dependent protein kinase-1, a protein kinase that phosphorylates and activates protein kinase C zeta. *J Biol Chem.* 274(12):8117-8122, 1999.
- 10) Alessi, DR., Andjeikovic, M., Caudwell, FB., Cron, P., Morrice, N., Cohen, P., Hemmings, B.: Mechanism of activation of protein kinase B by insulin and IGF. *J. Biol. Chem.* 271:6541-6551, 1996.
- 11) Chan, WS., Xu, PZ., Gottlob, K., Chen, ML., Sokol, K., Shiyanova, T., Roninson, I., Weng, W., Suzuki, R., Tobe, K., Kadowaki, T., Hay, N.: Growth retardation and increased apoptosis in mice with homozygous disruption of the Akt1 gene. *Genes Dev.* 15(17):2203-2208, 2001.
- 12) Shima, H., Pende, M., Chen, Y., Fumagalli, S., Thomas, G., Kozma, SC.: Disruption of the p70s6k/p85s6k gene reveals a small mouse phenotype and a new functional S6 kinase. *EMBO J.* 17.:6649-6659, 1998.



Establishment of liver specific 3-phosphoinositide-dependent  
protein kinase 1 knockout mice(L-PDK1KO) and analysis  
of their glucose metabolism abnormality

Akihiko Nishizawa

Division of Diabetes, Digestive and Kidney Diseases, Department of Clinical Molecular Medicine,  
Faculty of Medical Science, Kobe University Graduate School of Medicine

**【Abstract】**

3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1 (PDK1) is a protein kinase phosphorylated by phosphatidylinositol 3-kinase, and is thought to play a role in the activation of effectors of insulin action such as Akt, p70 S6kinase and atypical PKCs. In this study, we have generated liver-specific PDK1 knockout (L-PDK1KO) mice with the use of the Cre-loxp system, and investigated physiological roles of PDK1 in the activation of effectors of insulin action, and in glucose homeostasis. The abundance of hepatic PDK1 protein was less than 5% of that in control mice. In the randomly fed state, the liver mass of these animals was reduced by about 20% compared to control mice, probably due to the decrease in the accumulation of glycogen. Insulin-induced phosphorylation of Thr308, but of Ser473, of Akt was markedly inhibited in the liver of L-PDK1KO mice. In L-PDK1KO mice, the blood glucose and the plasma insulin concentrations in the fed and fasted state, and the glucose, increasing effect during glucose tolerance tests were elevated, while the glucose-lowering effect of exogenously administered insulin was diminished. These results suggest that PDK1 is essential for insulin-induced activation of Akt and for normal glucose homeostasis in living animals.