

## [課程—2]

### 審査の結果の要旨

氏名 山崎 広貴

本研究は、肥満やメタボリックシンドローム、2型糖尿病との関連が臨床的に示されている SHBG (sex hormone binding globulin) について、その背景となる機序について明らかにするため、3T3-L1 細胞やマウス腹腔マクロファージを用いてその影響を調べたものであり、下記の結果を得ている。

1. 分化させた 3T3-L1 細胞に対して SHBG 蛋白を 0-100 nM の各濃度で培養上清に添加し、その脂肪量を Oil Red O 染色で評価したところ、SHBG 用量増加に伴って有意な脂肪量減少傾向を認めた。また、ヒト血中濃度下限程度である 20 nM で SHBG を作用させた際に明らかな viability 低下は認めなかった。SHBG が、成熟脂肪細胞の脂肪量を減少させる作用を有することが示された。
2. 3T3-L1 細胞に対して、分化誘導時から成熟細胞形成に至るまでの期間、SHBG 蛋白を作用させたところ、脂肪滴の形成および脂肪蓄積量には SHBG による明らかな変化を認めなかった。SHBG は成熟脂肪細胞に対しては脂肪量を減少させる変化をもたらすが、脂肪前駆細胞から成熟脂肪細胞への分化には明らかな変化を与えないことが示された。
3. SHBG を分化後の 3T3-L1 細胞に添加すると、培養上清中のグリセロールが増加し、脂肪分解が亢進している可能性が示唆された。また、SHBG 添加により、分化後の 3T3-L1 細胞における ATGL の蛋白発現亢進、HSL のリン酸化の亢進、PPAR $\gamma$  や CEBP $\alpha$ 、FAS、FACS、PEPCK の発現量の低下を認めた。さらに、性ホルモンの有無に関わらず種々の蛋白発現変化の傾向は保たれた。このような脂質代謝と関連する様々な蛋白発現変化とシグナル変化が、成熟脂肪細胞の脂肪量減少と関わる可能性が示唆された。
4. 分化後の 3T3-L1 細胞において、LPS 刺激下での MCP-1 や IL-6 の遺伝子発現は、SHBG により抑制された。この変化は性ホルモンの存在の有無に関わらず見られた。さらに、マウス腹腔マクロファージの TNF- $\alpha$ 、MCP-1、IL-6 の遺伝子発現も、SHBG により抑制された。SHBG が、成熟脂肪細胞およびマクロファージの各々に対して抗炎症作用を発揮することが示唆された。

5. 3T3-L1 細胞とマクロファージとの共培養系において、LPS 刺激により双方の細胞で炎症性サイトカインの発現が誘導されたが、3T3-L1 細胞の MCP-1、IL-6 の発現誘導は SHBG 添加により抑制され、その際マクロファージの TNF- $\alpha$ 、MCP-1、IL-6 の発現誘導も抑制された。SHBG は、マクロファージと脂肪細胞との相互作用においても、抗炎症作用を発揮することが示された。

以上、本論文は、SHBG が成熟脂肪細胞における脂肪量減少作用、および脂肪細胞やマクロファージに対する抗炎症作用を有することを示したもので、未知の点が多かった SHBG の代謝における役割について、新たな見解を与えるものである。これらの作用は、生体において代謝性疾患の発症に対して抑制的に作用する可能性がある。臨床的には、SHBG の血中濃度が、肥満やメタボリックシンドローム、糖尿病のリスクと負に相関することが報告されており、その背景機序の一つとなっている可能性がある。本研究で得られた知見は、代謝性疾患の発症機序の解明およびその抑制方法の開発にも貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。