

令和 5 年 6 月 30 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17496

研究課題名（和文）食欲制御と視床下部炎症における細胞内グルココルチコイド活性調節の意義

研究課題名（英文）Regulatory role of glucocorticoid activity modulation in appetite and hypothalamic inflammation

研究代表者

カク テイテイ (Guo, Tingting)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・研究員

研究者番号：50834884

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：レプチン応答性細胞株を用いてグルココルチコイドの誘導体や細胞内での活性化・不活性化を担う酵素群の作用がレプチンシグナルに及ぼす影響を解析し、11β-HSD1の過剰発現によるグルココルチコイドの活性化はレプチン受容体シグナルに影響を与えないこと、11β-HSD2の遺伝子ノックダウンや非選択的11β-HSD阻害薬CBXによるグルココルチコイドの不活性化の抑制はレプチン受容体シグナルを増強すること、11β-HSD2の過剰発現はシグナルを減弱することを示した。視床下部局所におけるグルココルチコイドの活性制御がレプチン感受性制御を介してエネルギー代謝恒常性をチューニングする可能性の一端が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、新たな創薬シーズの提案に繋がる可能性があるだけでなく、既に開発が進行している11β-HSD1阻害薬の上市に際しては作用機序に関する重要な情報を与えると期待され、社会的インパクトは甚大である。また申請者の研究チームによる独自の視床下部神経核の網羅的解析結果に基づいた研究であり、極めて独自性の高いものである。

研究成果の概要（英文）：We have revealed that pharmacologic inhibition or knockdown of 11β-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 enhances leptin receptor signaling in leptin-responsive SH-SY5Y cell line. Overexpression of the enzyme, on the other hand, attenuated the signaling, suggesting that the modulation of glucocorticoid activation within leptin-responsive hypothalamic cells may play a role in the fine-tuning of leptin signaling and thereby have effects on systemic energy homeostasis.

研究分野：内分泌代謝学

キーワード：レプチン グルココルチコイド 視床下部 肥満症 メタボリックシンドローム 神経炎症 視床下部炎症 マイクログリア

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

グルココルチコイドは、全身の栄養代謝だけでなく、免疫機能や炎症の制御にもかかわる生存に必須のホルモンである。グルココルチコイドの全身性の過剰が過食や中心性肥満の原因となることはクッシング症候群において示される通りである。一方、メタボリックシンドロームの病態においては血中のグルココルチコイド濃度は上昇を認めず、脂肪細胞や肝細胞内でのグルココルチコイド活性化酵素、11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type1(11 HSD1)の発現や活性の亢進が内臓脂肪蓄積や脂肪肝の発症に寄与することが明らかとなっている (Masuzaki et al. Science, 2001, Stefan et al. Lancet Diabetes Endocrinol, 2014)。さらに最近では、循環血漿中のコルチゾール濃度とは独立した各組織での 11 HSD1 活性が組織特異的なグルココルチコイド作用を決定する (Morgan et al. PNAS, 2014) ことも明らかとなり、非アルコール性脂肪性肝炎などの肥満関連代謝異常に対する 11 HSD1 阻害薬の臨床治験が実施されている。

われわれのグループは、視床下部における最も重要な食欲調節因子の1つである、レプチンの応答性に注目して研究を行ってきた。レプチンは脂肪組織から栄養状態に応じた量が分泌され、主に視床下部弓状核に発言するレプチン受容体を介して食欲を抑制し体重を減少させるホルモンである。レプチンシグナル経路はその構成分子の遺伝子異常がすべからくげっ歯類やヒトにおける単一遺伝子の変異を原因とする遺伝子異常による肥満の病因となることから、食欲や体重の制御に枢要であることが既に確立している。また、高脂肪食による食餌性肥満の病態では視床下部におけるレプチン応答性の障害を生じ、このことが肥満や肥満症の発症の原因として重要と考えられている。中枢神経系におけるグルココルチコイドの局所作用が食欲や体重に及ぼす影響については既に多くの先行研究があることから、視床下部食欲中枢において 11 HSD1 や 11 HSD2 が担うグルココルチコイドの局所での活性化制御が、エネルギー代謝調節に何らかの生理的、病態生理的意義を有する可能性が示唆される。しかし、視床下部食欲中枢における 11 HSD1 の意義に関する研究はその先例がほとんど無い。

## 2. 研究の目的

本研究では、視床下部摂食中枢での 11 HSD1、11 HSD2 の発現分布、活性制御、生理的な摂食調節における意義、肥満における視床下部炎症や代謝異常の発症に及ぼす意義を明らかにする。これにより、エネルギー代謝中枢におけるグルココルチコイド活性の細胞内制御の実態を明らかにし、グルココルチコイド活性化や不活性化とレプチンにより駆動される食欲調節機構の関連を解明、さらには肥満症における視床下部炎症の病態におけるグルココルチコイド - レプチン機能連関の可能性を探索することを目的とする。

## 3. 研究の方法

レプチン応答性 SHSy5y 細胞株を用いて、複数種類のグルココルチコイド誘導体を用いてレプチン応答性 STAT3 リン酸化に及ぼす影響を検討する。次に、グルココルチコイドの細胞内での活性化・不活性化を担う 11 HSD1、11 HSD2 の遺伝子の過剰発現実験および siRNA を用いたノックダウン実験、さらには阻害薬を用いた薬理実験を行い、レプチンシグナルに及ぼす影響を解析する。

続いて高脂肪食の給餌によるマウスの肥満発症のプロセスにおける視床下部の遺伝子発現解析を行い、視床下部炎症関連遺伝子群とグルココルチコイドの細胞内活性化やグルココルチコイドシグナルと関連する遺伝子群の動態を解析した。

## 4. 研究成果

第一に、*in vivo* でのレプチン感受性を模倣するレプチン応答性細胞株を用いてグルココルチコイド誘導体がレプチンシグナル伝達に及ぼす影響を検討した。活性型のグルココルチコイドであるコルチゾールや合成ステロイドであるデキサメタゾンは、レプチン感受性を増強することが明らかとなった。一方、グルココルチコイド受容体活性化能が低いグルココルチコイド誘導体であるコルチゾンにはこの作用が乏しいことが明らかとなった。

第二に、11 HSD1 や 11 HSD2 の阻害薬を用いた検討と、遺伝子操作による Gain-of-function 実験、Loss-of-function 実験を実施した。グルココルチコイドの活性化酵素、11 HSD1 の過剰発現は、レプチン受容体シグナルに影響を与えなかった。一方、11 HSD2 の遺伝子ノックダウンや非選択的 11 HSD 阻害薬 CBX によるグルココルチコイドの不活性化の抑制は、レ

プチン受容体シグナルを増強した。また 11 HSD2 の過剰発現はレプチン受容体シグナルを減弱させた。以上より、11 HSD2 を介したグルコルチコイドの不活性化がレプチン感受性を制御することでエネルギー代謝に影響を及ぼしている可能性が示された。

視床下部弓状核は、レプチンやインスリン作用のゲートウェイとして働く食欲・エネルギー消費中枢の 1 次ニューロンが存在する場所として知られており、レプチン受容体の発現が局在している脳領域である。われわれは第三に、高脂肪食による食餌性肥満の発症プロセスで、視床下部弓状核に特異的に生じる遺伝子発現変化のトランスクリプトーム解析から、高脂肪食開始早期から以後一貫して 11 HSD1 や 11 HSD2 の mRNA 発現が増・減することが観察された。一方でさらに、発現増加遺伝子群の上流遺伝子解析 (David) からは、グルコルチコイド作用の増強が示された。またこれと並行して視床下部弓状核の IL-1 や GFAP など視床下部炎症・グリオシスと関連する遺伝子発現の上昇が観察された。

第四に SHSy5y 細胞とマウス視床下部組織ライセートを用いて 11 HSD によるグルコルチコイドの変換に必要な NADPH や NADP<sup>+</sup>の濃度を測定したところ、細胞と組織のいずれにおいても意味のある濃度の NADPH, NADP<sup>+</sup>が検出され、NADPH/NADP<sup>+</sup>比は SHSy5y 細胞においてより高濃度であったことからマウス視床下部では両方向性の 11 HSD1 がグルコルチコイドの不活性化酵素として働いている可能性が示唆された。

これらの研究成果により、視床下部局所におけるグルコルチコイドの活性制御がレプチン感受性を制御し、哺乳類個体のエネルギー代謝恒常性をファインチューニングしている可能性の一端が解明された。

#### 〔雑誌論文〕(計 3 件)

1. Takeda K, Aotani D, Kuga Y, Jinno T, Guo T, Ogawa K, Shimizu Y, Hattori R, Yagi T, Koyama H, Matsumura S, Kataoka H, Tanaka T.  
A mouse model of weight gain after nicotine withdrawal.  
Biochem Biophys Res Commun, 588:140-146, 2022.
2. Ogawa K, Yagi T, Guo T, Takeda K, Ohguchi H, Koyama H, Aotani D, Imaeda K, Kataoka H, Tanaka T.  
Pemafibrate, a selective PPARalpha modulator, and fenofibrate suppress microglial activation through distinct PPARalpha and SIRT1-dependent pathways.  
Biochem Biophys Res Commun, 524:385-391, 2020.
3. Guo T\*, Tanaka T\*, Matsumoto M, Kaneko K, Unzai T, Ogino Y, Aotani D, Kusakabe T, Iwakura H, Miyazawa T, Sawamoto K, Minokoshi Y, Masuzaki H, Inagaki N, Nakao K. \*Equally contributed senior authors  
A combination of dietary fat intake and nicotine exposure enhances CB1 endocannabinoid receptor expression in hypothalamic nuclei in male mice.  
Neurosci Lett, 714:13455, 2020.

#### 〔学会発表〕(計 5 件)

1. Takeda K, Aotani D, Kuga Y, Guo T, Ogawa K, Shimizu Y, Hattori R, Yagi T, Koyama H, Kataoka H, Tanaka T.  
A mouse model of weight gain after nicotine withdrawal.  
The Obesity Society, San Diego 2022/11/2
2. 竹田勝志、青谷大介、神野智貴、久我祐介、清水優希、郭婷婷、服部麗、八木崇志、小山博之、松村成暢、片岡洋望、田中智洋  
高脂肪食給餌とニコチン離脱の組み合わせによる、禁煙後体重増加モデルマウスの作製  
第 42 回日本肥満学会・第 39 回日本肥満症治療学会学術集会 横浜 2022/3/26 ~ オンデマンド
3. 郭婷婷、園山拓洋、荻野洋平、金子賢太朗、清水優希、竹田勝志、服部麗、八木崇志、小山博之、青谷大介、細井徹、小沢孝一郎、片岡洋望、中尾一和、田中智洋  
グルコルチコイドの細胞内活性制御によるレプチン感受性のモデレーション  
第 41 回肥満学会・第 38 回日本肥満症治療学会学術集会 2021/3/20-21
4. 竹田勝志、青谷大介、小川健人、郭婷婷、服部麗、八木崇志、小山博之、片岡洋望、田中智洋  
高脂肪食下のニコチン離脱による、禁煙後体重増加モデルマウスの樹立  
第 41 回肥満学会・第 38 回日本肥満症治療学会学術集会 2021/3/20-21
5. 郭婷婷、松本真実、八木崇志、小山博之、青谷大介、澤本和延、箕越靖彦、益崎裕章、稲垣暢也、中尾一和、田中智洋  
高脂肪食とニコチンの複合作用としてのマウス視床下部 CB1 カンナビノイド受容体発現の増加  
第 97 回日本生理学会大会 大分 (誌上開催) 2020 年 3 月

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takeda Katsushi, Aotani Daisuke, Kuga Yusuke, Jinno Tomoki, Guo Tingting, Ogawa Kento, Shimizu Yuki, Hattori Rei, Yagi Takashi, Koyama Hiroyuki, Matsumura Shigenobu, Kataoka Hiromi, Tanaka Tomohiro	4. 巻 588
2. 論文標題 A mouse model of weight gain after nicotine withdrawal	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 140 ~ 146
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2021.12.064	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Guo Tingting, 園山拓洋, 荻野洋平, 金子賢太郎, 清水優希, 竹田勝志, 服部麗, 八木崇志, 小山博之, 青谷大介, 細井徹, 小沢孝一郎, 片岡洋望, 中尾一和, 田中智洋
2. 発表標題 グルココルチコイドの細胞内活性制御によるレプチン感受性のモデュレーション
3. 学会等名 第41回肥満学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------