

令和 2 年 5 月 27 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16158

研究課題名(和文) SHBGの生理的意義解明による抗肥満および糖・脂質代謝改善戦略の創成

研究課題名(英文) Establishment of strategies for anti-obesity and improvement of glucose and lipid metabolism through clarifying physiological significance of SHBG

研究代表者

山崎 広貴 (Yamazaki, Hiroki)

東京大学・医科学研究所・助教

研究者番号：60784337

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)：性ホルモン結合グロブリン(SHBG)は肝臓から血中へ放出される蛋白であるが、低SHBG濃度は、糖尿病やメタボリックシンドロームのリスク上昇と関連する。本研究では、その機序を究明するべく、SHBGの生理活性について主にin vitroで検証した。SHBG蛋白の添加は、脂肪細胞とマクロファージにおける炎症性サイトカインの発現を抑制するとともに、脂肪細胞の脂肪分解を誘導した。かかる作用は、性ホルモンの同時添加の有無によらず発揮される傾向があったが、わずかな修飾も見られた。SHBGによる抗炎症作用、脂肪分解促進作用は、SHBGがメタボリックシンドロームの発症を抑制する機序の一つである可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥満では、脂肪組織における脂肪細胞の肥大や慢性炎症を素地として、全身性の種々の代謝異常が惹起される。本研究では、SHBGがかかる病態に抑制的に作用する可能性を示した。このようなSHBGの生理活性がどのように発揮されるか、その詳細の解明は、糖尿病やメタボリックシンドロームに対する新たな予防戦略の確立につながると思われる。また、性ホルモンの制御を担うSHBGに新たな生理活性があることを示したことは、性と代謝との関連を理解するための重要な知見と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Sex hormone-binding globulin (SHBG) is a serum protein released mainly by the liver, and a low serum level correlates with a risk for diabetes and metabolic syndrome. However, the underlying molecular mechanism(s) linking SHBG and metabolic syndrome remains unknown. In this study, we focused on the effects of SHBG on inflammation and lipid metabolism in vitro. Incubation with SHBG suppressed lipopolysaccharide-induced inflammatory cytokines in adipocytes and macrophages. In addition, SHBG treatment induced the lipid degradation of differentiated 3T3-L1 cells, with alterations in its corresponding gene levels. These effects of SHBG were not robustly altered by coaddition of large amounts of testosterone or estradiol, although slight modifications were observed. In conclusion, SHBG suppresses inflammation and lipid accumulation in macrophages and adipocytes, which might be among the mechanisms underlying the protective effect of SHBG, that is against the incidence of metabolic syndrome.

研究分野：代謝

キーワード：抗肥満 抗炎症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肥満に種々の代謝異常を伴うメタボリックシンドロームの患者が増加しており、その克服が課題となっている。肥満は過栄養に伴って過剰な脂肪蓄積をきたした状態であり、脂肪組織において脂肪細胞は肥大し、さらに慢性炎症を生じる。このような肥満の脂肪組織における初期変化は全身の代謝異常につながるため重要である。しかし、肥満における脂肪組織での基礎的病態が明らかになってきた一方で、その病態形成過程にどのような因子が関与しているか不明な点も多い。

そのような関与が想定される因子の一つに、性ホルモン結合グロブリン (sex hormone-binding globulin; SHBG) がある。SHBG は、主に肝臓で合成され血中に分泌される蛋白で、血中では性ホルモンと結合する。SHBG は、その血中濃度が肥満および糖・脂質代謝の指標と関連することが多数報告されている。たとえば、血中 SHBG 濃度は BMI や炎症マーカーと逆相関する (1, 2)。また、糖尿病患者で SHBG 濃度が低く (3)、SHBG 低下はメタボリックシンドロームの発症リスクである (4)。

従来、血中 SHBG 濃度は、肥満脂肪肝あるいは糖尿病などの病態マーカーになると理解されてきた。その一方で、SHBG 蛋白自体が肥満や糖尿病の病態に影響することを示唆する報告がある。とくに SHBG 蛋白のクリアランスに関わり血中 SHBG 濃度に影響するとされる一塩基多型 (SNP) について、糖尿病のリスクと相関することが報告され、病態マーカーにとどまらない「糖代謝保護的な SHBG 蛋白の作用」が示唆されている (5)。

SHBG 蛋白は性ホルモン動態を制御することから、SHBG 濃度の変化が性ホルモン作用を修飾することで代謝に影響が生じる可能性がある。一方で、胎盤や前立腺由来の細胞などで SHBG 蛋白が性ホルモンの有無に関わらず単体で作用を発揮することが報告されている (6, 7, 8)。SHBG の生体における役割を理解するためには、性ホルモンキャリアとしての役割以外にも、単体作用も念頭に検証が進められるべきであるが、その詳細は未解明である。SHBG の生理活性の詳細を明らかにし、生体における役割の理解を再構築することが、代謝疾患の予防や治療に寄与すると考えられる。

2. 研究の目的

肥満の脂肪組織に対する SHBG 作用を究明するため、脂肪細胞やマクロファージに対する SHBG 作用の詳細を明らかにする。SHBG の生理的意義を理解し、糖・脂質代謝調節機構の新規理解につなげる。

3. 研究の方法

(1) in vitro での SHBG 作用の検討

慢性炎症への影響の検討

分化させた 3T3-L1 細胞およびマクロファージに対して SHBG 蛋白を作用させ、LPS 添加時の炎症シグナル (ウエスタンブロット)、および炎症性サイトカインの遺伝子発現 (qRT-PCR) を調べた。脂肪組織のモデルとして、分化させた 3T3-L1 細胞とマクロファージの共培養系においても炎症性サイトカインの発現 (qRT-PCR) を調べた。

脂肪合成・分解への影響の検討

分化させた 3T3-L1 細胞に対して、SHBG 蛋白を作用させ、脂肪量 (Oil red O 染色)、培地中のグリセロール量、細胞内の cAMP 産生量、糖・脂質代謝関連遺伝子の発現量 (qRT-PCR) を調べた。

性ホルモンの影響の検討

上記 について、性ホルモンの存在が SHBG 作用に与える影響を調べた。

(2) in vivo での SHBG 作用の検討

雌雄マウス、肥満・糖尿病モデルマウス (高脂肪食負荷、db/db マウス)、閉経モデルマウス (卵巣摘除マウス) に対して SHBG 発現アデノウイルスを投与し、SHBG 蛋白の過剰発現が代謝に与える影響を調べた。

4. 研究成果

(1) 脂肪細胞およびマクロファージにおける SHBG の抗炎症作用

分化させた 3T3-L1 細胞の培地中に 20 nM の SHBG 蛋白 (ヒトの生理的血中濃度の範囲内) を添加すると、LPS 刺激時の MCP-1、IL-6 の発現上昇が抑制された。また、マクロファージに 20 nM の SHBG 蛋白を添加すると、LPS 刺激時の TNF、MCP-1、IL-6 の発現上昇が抑制されるとともに、JNK や ERK のリン酸化が抑制された。分化させた 3T3-L1 細胞とマクロファージの共培養系において、20 nM の SHBG 蛋白添加によって、LPS 刺激時の炎症性サイトカイン (3T3-L1 細胞における MCP-1、IL-6、マクロファージにおける TNF、IL-6) の発現誘導が抑制された。

(2) 脂肪細胞における SHBG の脂肪分解促進作用

分化させた 3T3-L1 細胞の培地中に SHBG 蛋白を 0-100 nM の濃度で添加したところ、脂肪滴の量は SHBG 濃度依存性に減少した。20 nM の SHBG の添加により、培地中のグリセロール濃度が上昇し、脂肪分解促進作用が示された。このとき、脂肪細胞内の cAMP 量には明らかな変化は認めなかった。20 nM の SHBG の添加により、CEBP の蛋白発現量の減少、および ATGL の蛋白発現量の増加を認めた。遺伝子発現量についても、脂肪合成系 (CEBP、PPAR、FAS など) の発現低下、および脂肪分解系 (ATGL、UCP2) の発現上昇を認めた。SHBG 蛋白は脂肪細胞において、脂肪

分解促進的な遺伝子発現変化をもたらし、脂肪細胞の肥大を抑制することが明らかとなった。

(3) SHBG の作用と性ホルモンとの関連

分化させた 3T3-L1 細胞に対して、性ホルモン(1 μ M のテストステロン、エストラジオール)の存在下で 20 nM の SHBG を作用させたところ、LPS 誘導性の炎症性サイトカイン発現 (MCP-1、IL-6) の上昇は、性ホルモン非存在下と同様に抑制された。

また、分化させた 3T3-L1 細胞に対して、性ホルモン(20 μ M のテストステロン、エストラジオール)の存在下で 0-20 nM の SHBG を作用させたところ、SHBG の濃度上昇に伴って脂肪滴の量が減少する傾向が見られた。しかしながら、20 μ M のエストラジオール存在下においては、エストラジオール非存在下と異なり、低濃度(0.8 nM)の SHBG 添加では脂肪分解促進作用を認めなかった。

(4) 生体における SHBG の代謝への影響

肥満・糖尿病モデルマウス(高脂肪食負荷、db/db マウス)において、SHBG 発現アデノウイルスを用いた過剰発現系により血中 SHBG 濃度を一過性の上昇させたところ、脂肪組織における慢性炎症および脂肪蓄積量には明らかな変化を認めなかった。

しかしながら、閉経モデルマウス(卵巣摘除マウス)においては、SHBG 過剰発現によって、脂肪組織での慢性炎症が抑制され、絶食に伴う脂肪組織重量減少が促進する傾向が見られた。

(5) 成果のまとめと、今後の展望

SHBG の新規生理活性として、脂肪細胞およびマクロファージにおける抗炎症作用、脂肪分解促進作用があることを明らかにした(Mediators Inflamm. 2018)。SHBG が、脂肪組織において代謝保護的作用を発揮することが、臨床的に示されている SHBG の肥満抑制・メタボリックシンドローム抑制の背景機序である可能性がある。SHBG は肝臓で合成される分泌蛋白であることから、エネルギー代謝の臓器連関機構の一つを明らかにした意味でも、重要である。

さらに、エストロゲンによって SHBG の生理活性がわずかに抑制されること、マウス生体においてエストロゲン低濃度のもとでは SHBG の作用が発揮されやすいことは、SHBG の作用が、性やライフステージごとに修飾されて現れる可能性を示している。

研究成果を抗肥満、糖・脂質代謝改善戦略の創成につなげるため、今後は性ホルモンなど性に関連する因子が個体の代謝を制御する機構を解明し、かかる知見をもとに SHBG の作用様式を明らかにしていくことが必要である。すでに、雌雄マウスにおいて脂肪組織・肝臓・骨格筋の遺伝子発現のプロファイル(RNA-seq 解析)、血中メタボロームの基礎データを取得し、さらに肥満モデルマウスにおいて同様の解析を行い、SHBG の作用様式を明確化するための基礎データを得た。また、SHBG の作用を理解するためには多臓器の同時解析が必須であることから、臓器連関の評価方法の開発に着手した。そのなかで、薬剤性に代謝変化を誘導する系において、臓器重量や血中ホルモン濃度、CT 所見など各種指標に連関が見出せることを示した(Endocr J. 2020)。

SHBG に焦点を当てた本研究を端緒として、性による代謝制御機構の究明へと研究が展開し、将来的には、性やライフステージを考慮した合理的な個別医療を実践するための基盤的知見が得られることが期待される。

<引用文献>

- 1) A Lukanova, et al. Body Mass Index, Circulating Levels of Sex-Steroid Hormones, IGF-I and IGF-binding protein-3: A Cross-Sectional Study in Healthy Women. Eur J Endocrinol. 2004;150:161-71.
- 2) M Maggio, et al. SHBG, Sex Hormones, and Inflammatory Markers in Older Women. J Clin Endocrinol Metab. 2011;96:1053-9.
- 3) B Andersson, et al. Testosterone Concentrations in Women and Men With NIDDM. Diabetes Care. 1994;17:405-11.
- 4) J Zhang, et al. Both Total Testosterone and Sex Hormone-Binding Globulin Are Independent Risk Factors for Metabolic Syndrome: Results From Fangchenggang Area Male Health and Examination Survey in China. Diabetes Metab Res Rev. 2013;29:391-97.
- 5) E L Ding, et al. Sex Hormone-Binding Globulin and Risk of Type 2 Diabetes in Women and Men. N Engl J Med. 2009;361:1152-63.
- 6) C S Porto, et al. Receptors for Androgen-Binding Proteins: Internalization and Intracellular Signalling. J Steroid Biochem Mol Biol. 1995;53:561-5.
- 7) G Queipo, et al. Sex Hormone-Binding Globulin Stimulates Chorionic Gonadotrophin Secretion From Human Cytotrophoblasts in Culture. Hum Reprod. 1998;13:1368-73.
- 8) A M Nakhla, et al. Estradiol Causes the Rapid Accumulation of cAMP in Human Prostate Proc Natl Acad Sci U S A. 1994;91:5402-5.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hiroki Yamazaki, Akifumi Kushiya, Hideyuki Sakoda, Midori Fujishiro, Takeshi Yamamotoya, Yusuke Nakatsu, Takako Kikuchi, Sunao Kaneko, Hirotohi Tanaka, Tomoichiro Asano	4. 巻 2018
2. 論文標題 Protective Effect of Sex Hormone-Binding Globulin against Metabolic Syndrome: In Vitro Evidence Showing Anti-Inflammatory and Lipolytic Effects on Adipocytes and Macrophages	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Mediators of Inflammation	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2018/3062319	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Masaaki Uehara, Hiroki Yamazaki, Noritada Yoshikawa, Akiko Kuribara-Souta, Hirotohi Tanaka	4. 巻 67
2. 論文標題 Correlation Among Body Composition and Metabolic Regulation in a Male Mouse Model of Cushing's Syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Endocrine Journal	6. 最初と最後の頁 21-30
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1507/endocrj.EJ19-0205	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Hiroki Yamazaki, Akifumi Kushiya, Tomoichiro Asano, Toshiki Eri, Noriaki Shimizu, Noritada Yoshikawa, Hirotohi Tanaka.
2. 発表標題 Inhibitory effect of sex hormone-binding globulin on lipid storage of adipocytes and on inflammation of both adipocytes and macrophages
3. 学会等名 12th International Symposium of the Institute Network
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山崎広貴、栗原明子、吉川賢忠、上原昌晃、西村茉優、山本元久、田中廣壽
2. 発表標題 肥満に伴う代謝異常と骨格筋トランスクリプトームとの関連の解析
3. 学会等名 日本筋学会第5回学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山崎広貴、吉川賢忠、田中廣壽
2. 発表標題 骨格筋におけるステロイド作用の解明から生体システムの統合的理解へ
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会
4. 発表年 2019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
--	---------------------------	-----------------------	----