

第7回内分泌学会若手研究発表

YEC1

「肥満に合併するうつ病態 - 中枢神経系におけるレプチン作用の減弱」
Depression associated with obesity - impairment of leptin action in the
central nervous system

後藤(山田) 伸子、中尾 一和

京都大学大学院医学研究科 内分泌代謝内科

【緒言】肥満とうつ病は、いずれも頻度の高い疾患で、1990年代からその合併頻度の高さが注目されていたが、直接の相関や病態については明らかにされてこなかった。近年の疫学調査において、肥満者はうつ病を高頻度に合併することが報告されている。肥満では、エネルギー調節に関わるホルモンや神経ペプチドの異常による過食やエネルギー消費の減少が認められる。一方で、これらのホルモンや神経ペプチドが、うつ病と関係するという最近の報告もあり、筆者らは、肥満ではその異常がうつ病を引き起こしている可能性があるのではないかと考えている。本研究は、肥満病態におけるkey分子であるレプチンの抗うつ作用と肥満に合併するうつ病態におけるレプチンの意義について検討した。

【方法】うつ病態におけるレプチンの意義の解析には、レプチン欠損遺伝性肥満 ob/ob マウスおよびレプチン過剰発現トランスジェニック (LepTg)マウスを用いた。肥満におけるうつ病態の解析には、6週齢のオス C57BL/6J マウスに15週間60%高脂肪食 (HFD)を負荷した食事性肥満モデル (DIO)マウスを用い、対照群には正常食 (CD)を負荷した。うつ病態の解析には、強制水泳テスト (FST)および Sucrose preference テストを用いた。

【結果】CD マウスにレプチンを皮下投与すると有意の抗うつ作用が認められ、その効果はDMI皮下投与と同程度であった。Ob/ob マウスでは著明なうつ状態が認められ、レプチン投与により、体重は変化しなかったが、うつ状態は野生型マウスにレプチンを投与したレベルにまで改善した。一方、LepTg マウスではうつ状態が有意に減少していた。DIO マウスは著明な体重増加が認められ、FST および Sucrose preference テストの双方で著明なうつ状態が認められた。このDIOマウスの餌をHFDからCDへ3週間変更すると、肥満が軽減し、それに並行してうつ状態が有意に改善した。また、DIO マウスではレプチン皮下投与による抗うつ作用は認められなかったが、DMIによる抗うつ作用は認められた。CD マウスではレプチン皮下投与により、海馬の c-Fos 陽性細胞数が増加したが、DIO マウスでは変化が認められず、レプチン作用の減弱が明らかになった。

【結論および考察】本研究により、レプチンには抗うつ作用があり、内因性のレプチンはうつ状態の調節に関わることを明らかにした。DIO マウスではうつ状態が増強しており、減量によりそのうつ状態は改善した。さらにDIO マウスではレプチンの抗うつ作用は消失しており、その原因の一部として海馬におけるレプチン抵抗性の存在が証明された。

卵巢内分泌調節における BMP の役割と生殖表現型への影響

稲垣 兼一¹⁾、大塚 文男²⁾

¹⁾岡山大学 腎・免疫・内分泌代謝内科学

²⁾岡山大学病院 内分泌センター

卵巢における卵胞発育は主に下垂体由来のゴナドトロピンの働きにより調節されているが、卵巢顆粒膜細胞の増殖・分化や単一排卵のメカニズムなど、その詳細については不明な点が多い。我々はこれまでに TGF- β スーパーファミリーに属する bone morphogenetic protein: BMP に着目し、主に卵胞発育への関与について研究してきた。その結果 BMP が Smad シグナル・MAPK シグナルなどを介し、ゴナドトロピン刺激による細胞増殖・ステロイド合成を調節することが明らかとなった。そしてさらに我々はヒトの生殖表現型とそれに対する BMP の果たす役割についても検討した。近年、ヒトの原発性卵巢機能不全 (POF) 患者や二卵性双生児の母親 (MODZT) において、BMP-15/GDF-9 の遺伝子変異を認めやすいことが報告されている。しかしこれらの変異が蛋白発現や生理活性に及ぼす影響については十分に知られていない。我々は、POF 患者や MODZT において報告された点突然変異の中から数種類を選択し HEK293F 細胞に遺伝子導入を行い、BMP-15・GDF-9 の生物学的活性への影響を検討した。その結果、野生型 BMP-15・GDF-9 に比べ、すべての変異型 BMP-15・GDF-9 において卵巢顆粒膜細胞の細胞増殖能・Smad シグナル伝達などの生理活性が減弱した。さらに蛋白レベルでの合成・分泌プロファイルのイムノブロットによる検討から、変異型 BMP-15・GDF-9 の生物活性の低下はプロ蛋白の翻訳後 processing 障害による成熟蛋白の分泌低下に起因することが示された。ヒトと同じく単排卵であるヒツジにおいても成熟蛋白の減少は多排卵・多胎に関与することから、卵母細胞因子 BMP-15・GDF-9 の遺伝子変異が、臨床的に多排卵による二卵性双生児の発生や多排卵後の卵胞枯渇による早期卵巢機能不全に関与する可能性が示唆された。

糖尿病が脳コレステロール代謝に与える影響

鈴木 亮

東京大学大学院医学系研究科 糖尿病・代謝内科

糖尿病は様々な臓器において代謝異常を来し合併症を引き起こす。脳もその例外ではなく、糖尿病発症後早期より精神運動機能の低下が観察され、慢性的には加齢に伴う認知機能低下の加速、うつ病の増加、アルツハイマー病の罹患リスク増大が認められる。

脳は全身で最もコレステロールが豊富な臓器であり、脳内コレステロールの大部分は脳自身によって合成される。脳コレステロール代謝はシナプス形成やシナプス小胞の開口分泌への関与が示唆されている。

演者らは、インスリン欠乏を伴う糖尿病マウスの視床下部および大脳皮質においてコレステロール合成を制御する転写因子 SREBP-2 とその下流遺伝子群の発現が低下し、その結果脳のコレステロール合成とシナプトソーム膜内コレステロール含量が低下することを明らかにした (Cell Metabolism, 2010)。この変化にはニューロンとグリア細胞の両者におけるインスリンの直接作用が寄与し、インスリンを糖尿病マウスに脳室内投与すると脳内コレステロール合成系の抑制がほぼ正常化する。初代培養ニューロンにおいて SREBP-2 を抑制するとシナプス形成のマーカー分子が減少し、マウス視床下部で SREBP-2 を減少させると摂食量と体重が増加する。

以上の結果は、インスリンおよび糖尿病が脳のコレステロール代謝に影響することを示しており、糖尿病や他の疾患で見られる神経学的機能不全や代謝異常の発症機序に関与する可能性がある。本発表ではさらに SREBP-2 に結合するステロールセンサー分子 SCAP の脳における役割に注目して解析した結果を報告する。

幹細胞からのステロイドホルモン産生細胞の作製

矢澤 隆志

福井大学医学部 分子生体情報学

ヒトを含む哺乳動物の主要なステロイドホルモン産生器官は、生殖腺と副腎である。生殖腺のステロイドは配偶子や二次性徴の発達に、副腎のステロイドは糖代謝・免疫抑制・ストレス応答・電解質の保持といった生命現象に重要な役割を果たしている。従来、先天性副腎ホルモン欠損症などのステロイドホルモン産生異常症に対しては、欠落ホルモンを補うホルモン補充療法が行われてきた。しかしながら、生涯、頻繁な充填が必要であることに加え様々な副作用があることから、これに代わる治療法が求められている。幹細胞からステロイドホルモン産生細胞を作製し、患者に移植する再生医療は、これらの問題を解決する理想的な治療法であると考えられる。

私たちは、過去の研究で、ステロイドホルモン産生器官と同じ中胚葉由来と考えられ、成体からも採取可能な骨髄由来の間葉系幹細胞を *in vivo* と *in vitro* の両方でステロイドホルモン産生細胞に分化させる事に成功している。そして、臍帯血を含む多様な起源の間葉系幹細胞を使い、この幹細胞が、ステロイドホルモン産生細胞に分化しやすいことを証明している。この事実は、ES 細胞を、直接、ステロイドホルモン産生細胞に分化させることは難しいが、間葉系幹細胞に分化誘導した後には、分化させられることから支持される。これらの細胞は、ステロイドホルモン産生器官の再生医療の媒体となることと同時に、ステロイドホルモン産生細胞の分化機構を調べるにあたって重要な役割を果たすことが期待される。本発表では、この間葉系幹細胞からの分化系を用いることにより分かった、(1)ステロイドホルモン産生細胞分化における転写因子・LRH-1 の役割、(2)生殖腺でも発現する Cyp11b1 と進化的に保存されていたアンドロゲン合成経路、(3)電子伝達体 POR の下垂体ホルモンによる制御、(4)転写共役因子 PGC-1aのステロイドホルモン産生における機能、(5)DAX-1 のゴナドトロピンによる発現低下とステロイドホルモン産生、などについて概説する。

ミネラルコルチコイド受容体と高血圧

柴田 洋孝

YEC senior, 慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科

アルドステロンは、食塩の過剰摂取により血管や心筋の炎症や線維化を惹起する心血管リスクホルモンである。ミネラルコルチコイド受容体(MR)拮抗薬は、軽症～重症のうっ血性心不全や高血圧症、特に原発性アルドステロン症では有効性が示されている。また、肥満、糖尿病、慢性腎臓病(CKD)などでは治療抵抗性高血圧を示すことが多く、MR 拮抗薬の追加投与が有効であることから、血中アルドステロン濃度が正常範囲でも MR 拮抗薬の投与が血圧のコントロールに有効なこれらの病態を、我々は「MR 関連高血圧(MR-associated hypertension)」として提唱している(最新医学、2009)。我々は現在までに、酸化ストレスによる脱SUMO化や上皮成長因子受容体の活性化による脱ユビキチン化により、MR作用が著明に増強されることから、環境因子によるエピジェネティクスとして、MR の翻訳後蛋白修飾によるホルモン感受性の亢進を報告している(environment-gene interaction)。本講演では、糖尿病におけるMR 関連高血圧の分子機構につき紹介する。

糖尿病の心血管合併症において、PKC β 阻害薬 Ruboxistaurin による合併症の改善効果が報告されているがその機序は不明である。HEK293 細胞におけるレポーターアッセイでは、 10^{-10} M aldosterone によるMR 転写活性化は、5mM グルコースの時と比べて 30mM グルコースにおいて約2倍に上昇を認め、siRNA-PKC β の導入により約半分に減弱した。またその機序としては、高グルコースによる PKC β の活性化がMR 蛋白発現量を増加させることにより、MR 転写活性を増加させることが明らかとなった。

血液中のグルコースの数%は細胞内のヘキソサミン合成経路に入り、最終的に O-GlcNAc transferase により、基質蛋白の O-GlcNAc 修飾を起こす。COS-7 細胞におけるレポーターアッセイでは、 10^{-10} M aldosterone によるMR 活性化に対して、PUGNAc (O-GlcNAc 修飾刺激薬)処置により2倍に増加し、DON (O-GlcNAc 修飾抑制薬)処置により半分に減少した。また、25mM グルコース濃度条件下ではさらに2倍に増加した。免疫共沈降法により、MR 蛋白の O-GlcNAc 修飾の増加と並行してMR 蛋白レベルも増加を認めた。

以上の結果から、高血糖条件下では、少なくとも2つの経路、PKC β 活性化によるリン酸化と O-GlcNAc 修飾を介して、MR 蛋白レベルが増加してMR 転写活性化が惹起されることが示された。糖尿病における心血管合併症や治療抵抗性高血圧の治療として、ARB などのレニン-アンジオテンシン系阻害薬に加えて、MR 拮抗薬の併用の有用性が示唆された。