



Title	Blockade of mineralocorticoid receptor reverses adipocyte dysfunction and insulin resistance in obese mice
Author(s)	平田, 歩
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/54087">https://hdl.handle.net/11094/54087</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【62】		
氏 名	ひら 田	歩
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)	
学 位 記 番 号	第 2 3 6 3 1 号	
学 位 授 与 年 月 日	平成 22 年 3 月 23 日	
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻	
学 位 論 文 名	Blockade of mineralocorticoid receptor reverses adipocyte dysfunction and insulin resistance in obese mice (肥満・インスリン抵抗性における脂肪細胞ミネラルコルチコイド受容体の病態学的意義の解明)	
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 下村伊一郎 (副査) 教 授 楽木 宏実 教 授 大蔵 恵一	

#### 論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕 我々は、肥満脂肪組織において酸化ストレスの産生上昇が起こり、この酸化ストレス(ROS)がアディポサイトカイン分泌異常を引き起こすことを示してきた。一方、ミネラルコルチコイド受容体(MR)の活性化は腎臓、心臓、血管において ROS 産生を亢進させ、これら臓器において炎症や線維化を引き起こすという報告が見られる。脂肪細胞にも MR は存在していると報告されているが、その意義および病態への影響についてはこれまで明らかにされていない。そこで、本研究では脂肪細胞 MR がインスリン抵抗

性、アディポサイトカイン異常、ROS におよぼす影響を検討した。

以上、平田 歩は、肥満における脂肪細胞の新たな病態を見出し、そして肥満脂肪細胞におけるMRの抑制が、メタボリックシンドロームの新たな治療戦略となりうる可能性を示した。よって、学位に値すると考える。

〔方法ならびに成績〕動物実験として、雄性 6 週齢の *ob/ob* および *db/db* マウス（以下、肥満マウス）とそれぞれの対照マウスに対して、選択的ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬エプレレノン（Eple）を 3 週間混餌投与した。糖代謝、インスリン抵抗性に関しては、糖負荷試験およびインスリン負荷試験により評価した。アディポネクチンや MCP-1 をはじめとするアディポサイトカイン発現の変化を半定量的 RT-PCR 法により測定した。脂肪組織及び血中 ROS は Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) 法により評価した。また、組織学的検討として、白色脂肪組織 (WAT) における脂肪細胞面積、脂肪組織のマクロファージ浸潤を測定した。細胞実験は 3T3-L1 脂肪細胞に対し、酸化ストレス源としての  $H_2O_2$  およびアルドステロン（Aldo）添加実験や、Eple を用いた MR 阻害実験、MR si-RNA を用いた MR 抑制実験を行った。アディポサイトカイン発現および ROS を上記と同様の方法で検討した。

本研究において、以下のことを見出した。(1) 肥満マウスの白色脂肪組織において、MR mRNA レベルが上昇していた。(2) 3T3-L1 脂肪細胞において、 $H_2O_2$  およびアルドステロン添加により、MR mRNA レベルが上昇した。(3) 肥満マウスにおいて、Eple 投与により全身のインスリン抵抗性が改善し、白色脂肪組織における ROS 産生の減少、アディポサイトカイン発現異常が是正した。(4) Eple 投与により、肥満マウスの白色脂肪細胞の小型化およびマクロファージ Crown Like Structures が減少した。炎症惹起性マクロファージマーカーである CD11c mRNA レベルも低下した。(5) 3T3-L1 脂肪細胞において、 $H_2O_2$  および Aldo 添加により、脂肪細胞 MR mRNA レベルが上昇した。(6)  $H_2O_2$  および Aldo で誘導された ROS 産生およびアディポサイトカイン発現異常は、Eple 添加による MR の阻害や、MR si-RNA による MR 発現の抑制のいずれにおいても有意に是正した。

〔総括〕本研究では、MR 遺伝子発現が肥満脂肪組織において上昇していること、そして ROS を添加した 3T3-L1 脂肪細胞でもその発現が上昇することを見出した。さらに、脂肪細胞の MR を阻害することにより、ROS 産生が抑制され、アディポサイトカイン発現異常が是正され、最終的にはインスリン抵抗性が改善されるという一連の作用を、*in vivo* ならびに *in vitro* においてはじめて示した。

本研究において、肥満状態の脂肪細胞において、「MR 活性化-ROS」という悪循環を形成しているという新たな病態機序を提示するとともに、肥満状態の脂肪細胞 MR を阻害することが、インスリン抵抗性を伴うメタボリックシンドロームに対し、新たな治療戦略となりうることを示した。

## 論文審査の結果の要旨

申請者 平田 歩は脂肪細胞ミネラルコルチコイド受容体(MR)の病態的意義を検討した。

肥満マウスでは、脂肪組織におけるMR遺伝子発現が上昇していた。肥満マウスへのMR拮抗薬エプレレノン(Eple)の投与は、インスリン抵抗性、アディポサイトカイン発現異常を改善し、酸化ストレスの上昇を是正した。加えて、脂肪組織では小型脂肪細胞の増加やマクロファージ浸潤の減少を認めた。

次に3T3-L1脂肪細胞を用いた検討を行った。アルドステロンおよび $H_2O_2$ 添加により、脂肪細胞MRの発現は上昇した。EpleおよびMR-siRNAは、アルドステロンおよび $H_2O_2$ で誘導された酸化ストレス、アディポサイトカイン発現異常を改善した。また、脂肪細胞グルココルチコイドがMRを介して酸化ストレス亢進、アディポサイトカイン発現異常を引き起こす可能性を提示した。