

Title	Adipocyte GR inhibits healthy adipose expansion through multiple mechanisms in Cushing' s syndrome.
Author(s)	林, 令子
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72500
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 林 令子

	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授 下村 博一郎
	副 査	大阪大学教授 大藪 康一
	副 査	大阪大学教授 熊ノ郷 淳

論文審査の結果の要旨

クッシング症候群(CS)は肥満・糖脂質代謝異常・脂肪肝等を惹起する。CSにおける脂肪細胞グルココルチコイド受容体(GR)の病態学的意義は不明な点が多く、申請者は本研究により解明を試みた。方法としては、脂肪細胞特異的GR欠損マウス(AGRKO)を作出し、コルチコステロン飲水投与によりCSの病態を模倣した。AGRKOでは対照群に比べ白色脂肪組織重量の増加、脂肪肝の改善、血中FFAやHOMA-Rの低下が認められ、白色脂肪組織では脂質分解酵素Atglの遺伝子発現量が減少した。3T3-L1脂肪細胞における検討では、Atglのイントロン上に新規GR結合配列を同定した。また、ヒトCSの副腎周囲脂肪組織の臨床検体およびAGRKO脂肪組織を用いたRNAシーケンス解析から、脂肪組織GRはクッシング症候群病態のヒト、マウスにおいて、脂肪分解、脂肪組織リモデリング抑制、preadipocyteの増殖抑制、糖取り込み低下などを介してAdipose Healthy Expansionを抑制すると考えられた。本研究は、CSで認められる代謝異常や中心性肥満の機構解明につながる可能性があり、学位に値すると考える。

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	林 令子
論文題名 Title	Adipocyte GR inhibits healthy adipose expansion through multiple mechanisms in Cushing's syndrome, (クッシング症候群において脂肪細胞GRは多様な機序を介して健康的肥満を抑制する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>グルココルチコイド過剰はクッシング症候群を惹起し、肥満・糖脂質代謝異常・脂肪肝などの代謝異常を惹起する。グルココルチコイドはグルココルチコイド受容体(GR)に結合し、標的遺伝子の発現を制御するが、脂肪細胞GRがクッシング症候群においてどのような作用を示し、代謝異常に寄与するかは十分に解明されていない。今回、我々は脂肪細胞特異的GR欠損マウスおよびクッシング症候群患者由来の脂肪組織臨床検体を用い、クッシング症候群における脂肪細胞GRの病態学的意義を解明することを目的とした。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>(1) マウスにおけるクッシング症候群モデル樹立を目的に、C57BL/6Jマウスにコルチコステロン(CORT) 50 μg/mlを2週間飲水投与すると、精巣周囲脂肪組織・皮下脂肪組織・腸間膜脂肪組織の重量は増加し、肝重量も増加した。また、空腹時のインスリン値やHOMA-Rが上昇し糖代謝が悪化した。これらのことからCORT50 μg/ml 2週間飲水投与モデルはクッシング症候群モデルとして解析可能と考えた。</p> <p>(2) GR floxマウスとAdiponectin Creマウスを交配し、脂肪細胞特異的GR欠損マウス(AGRKO)を作成した。同腹のFLOX、AGRKOにそれぞれCORT50 μg/mlを2週間飲水投与し、クッシング症候群の病態を模倣したところ、AGRKOではFLOXと比較し、白色脂肪組織重量の増大を認めた。一方、肝重量や肝TG含量は減少し、血中FFA、空腹時インスリン値、HOMA-Rは低下した。</p> <p>(3) AGRKOの白色脂肪組織では脂質分解酵素Adipose triglyceride lipase (Atgl)のmRNA発現量が減少し、FLOXとAGRKOで認められた血中FFAの差はAtgl阻害剤を投与により消失した。In vitroでは、3T3-L1脂肪細胞へのデキサメサゾン添加によりAtgl mRNA発現量は増加し、Promoter assay、ChIP assayにより、Atglのイントロン上に新規GR結合配列を同定した。更に、CRISPR/Cas9システムを用い、GR結合配列に変異を導入したところ、デキサメサゾンによるAtgl遺伝子発現上昇は鈍化した。</p> <p>(4) クッシング症候群6例、対照群として原発性アルドステロン症8例および非機能性副腎腺腫2例を対象とし、副腎腫瘍摘出時に採取した副腎周囲脂肪組織を用いてRNAシーケンスを施行した。更に、AGRKO脂肪組織に対してもRNAシーケンスを行い、統合的解析を行ったところ、コラーゲン合成経路がAGRKOにおいて誘導され、ヒト検体において抑制されている事を見出した。また、コラーゲン分解系も同様の変化を認めたことから、脂肪細胞GRは線維化のターンオーバーを減弱し、脂肪組織の肥大を抑制する可能性が考えられた。</p> <p>(5) 上記RNAシーケンスに、既知の3T3-L1脂肪細胞マイクロアレイを組み合わせ、解析を行ったところ、脂肪細胞GRはIgf1、Igf結合蛋白の発現をヒト、マウス、培養細胞において抑制することを見出した。Igf1経路抑制により前駆脂肪細胞の増殖が減弱し、脂肪組織肥大が抑制される可能性を考え、AGRKOの脂肪組織において細胞増殖を評価したところ、Ki67陽性細胞数が有意に増加していることを見出した。また、同様の解析により脂肪細胞GRはPer1の発現をヒト、マウス、培養細胞において正に制御することを見出した。3T3-L1脂肪細胞においてPer1をノックダウンすると、デキサメサゾンによる糖取り込みの低下が改善したことから、脂肪細胞GRはPer1を介して糖取り込みが低下すると考えられた。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>本研究により、Cushing症候群モデルにおいて、脂肪細胞GRはAdipose Healthy Expansionの抑制、インスリン抵抗性や脂肪肝に寄与することが明らかとなった。そのメカニズムとして、脂肪細胞GRを介した脂肪分解、脂肪細胞のコラーゲンターンオーバー抑制、前駆脂肪細胞増殖抑制、糖利用低下などが考えられる。</p>	