

高橋亮子 論文内容の要旨

主論文

Rapid Inhibition of Leptin Signaling by Glucocorticoids in Vitro and in Vivo

(グルココルチコイドによるレプチンシグナルの急性抑制効果—*in vitro*・*in vivo*において)

Ryoko Ishida-Takahashi, Shigeo Uotani, Takahiro Abe, Mikako Degawa-Yamauchi, Tetsuya Fukushima, Naruhiro Fujita, Hiroyuki Sakamaki, Hironori Yamasaki, Yoshihiko Yamaguchi, and Katsumi Eguchi

(The Journal of Biological Chemistry 279, 19658-19664, 2004)

長崎大学大学院医学研究科
(指導教授：江口勝美教授)

【緒言】レプチンは脂肪細胞から分泌され、視床下部弓状核に発現するレプチンレセプター (OBRb) を介し摂食とエネルギー消費をコントロールしている。OBRb は、IL-6, LIF などのクラス1 サイトカインレセプターファミリーに属し JAK/STAT 経路を介してシグナルを伝達する。肥満者で高レプチン血症が見られることなどから、レプチン抵抗性の存在が示唆されその病態に関して研究が進められている。生体内でグルココルチコイド (GCs) が過剰になると、中心性肥満、高インスリン血症、高レプチン血症をきたすことが知られている。GCs は多くのサイトカインの合成を抑制し、一部にはそのシグナルも抑制する。これまで *in vivo* で、GCs がレプチンの作用に拮抗することが報告されている。しかし、両者のシグナル伝達のクロストークについては不明である。そこで、デキサメサゾン (DEX) が、レプチンシグナルにおよぼす影響を、*in vitro* および *in vivo* で検討した。

【対象と方法】ヒト肝細胞癌細胞株 (Huh7) に、OBRb 発現ベクターを一過性遺伝子導入。レプチンで刺激後、可溶化し、ウエスタンブロッティング (WB) を行った。Sprague-Dawley (S-D) ラット第三脳室にカニューレシ DEX、レプチンを投与した後、摂食量を測定。

視床下部を摘出後、同様に WB を行った。

【結果】 OBRb 過剰発現 Huh7 細胞を 0-10 nM DEX で 60 分間前処理、1nM レプチンで 15 分間刺激、STAT3 のリン酸化を検討した。DEX は 0.1 nM から濃度依存性に STAT3 のリン酸化を抑制し、10 nM では完全に抑制した。10 nM DEX で 0~60 分間前処理での STAT3 リン酸化は 5 分後から抑制され、60 分後には完全に抑制された。しかし、DEX は IL-6、LIF による STAT3 のリン酸化には影響をしなかった。次に、STAT3 上流の JAK2 への DEX の影響を検討した。10 nM DEX での 60 分間前処理で、レプチン依存性 JAK2 リン酸化も抑制されていた。しかし、DEX で細胞表面の OBRb 数は不変であった。S-D ラット第三脳室内にレプチンを単独投与すると、24 時間後の摂餌量は著明に減少したが、DEX とレプチンを同時投与では、レプチン単独投与と比較し約 3 倍の摂餌量を示した。この時、視床下部のレプチン依存性 STAT3 リン酸化は *in vitro* と同様に DEX で抑制されていた。DEX の効果が急速なことから、その抑制効果は既存のタンパクを介さないことが示唆された。そこで、MAP キナーゼ (MAPK) 上流の MEK 阻害剤である PD98059 を用いて、DEX の抑制効果を Huh7 細胞で検討したところ、JAK/STAT 経路に 対する DEX の効果は PD98059 によって減弱した。

【考察】 *in vitro* で DEX は、レプチン依存性 JAK/STAT 経路を急速に抑制した。この時の DEX の濃度 (0.1 nM) は、臨床的に DEX がヒトへ投与された際に得られる血中濃度に相当した。また同時に IL-6 と LIF のシグナル伝達への影響も検討したが DEX による抑制効果は見られなかった。その理由として OBR が有する IL-6 や LIF レセプターとは異なる構造的、機能的特徴の関与がすることが考えられる。これまで、正常ラットの摂食に影響しない低濃度レプチンを、副腎摘出し内因性 GCs を欠損させたラットの脳室内に投与すると摂食量、体重が減少することが報告されている。このことから GCs がレプチンに拮抗的に作用することが示唆されている。我々は *in vivo* でも DEX が直接レプチン依存性 STAT3 リン酸化を減弱させ、さらに摂食抑制作用を阻害していることを明らかにした。次に *in vitro* で、GCs がレプチンシグナルを抑制する機序について検討した。DEX は、細胞表面の成長ホルモン (GH) レセプターの数減少させることで GH のシグナルを抑制することが報告されているが、OBRb ではその数は変化させず GH の場合とは異なる機序が考えられた。最近、GCs には、核内での遺伝子調節作用の他、細胞内シグナル伝達作用があることが報告されている。DEX のレプチンシグナル抑制効果が急速であることから、後者の GCs 作用の関与を考えた。その一つとして最近、GCs が MAP (ERK1/2) キナーゼを活性化することが報告されている。我々は、エタノールが p38 MAPK を介しレプチンシグナルを抑制することを報告した。今回、GCs では MEK-ERK カスケードを介しレプチンシグナル抑制していることが示された。このことは、MAPK ファミリーがレプチンシグナルの重要な修飾因子であることを示唆するものである。