

氏名(本籍) : 泉^{いずみ} 正^{まさ} 之^{ゆき} (宮城県)

学位の種類 : 博士 (歯学) 学位記番号 : 歯博第874号

学位授与年月日 : 令和2年3月25日 学位授与の要件 : 学位規則第4条第1項該当

研究科・専攻 : 東北大学大学院歯学研究科(博士課程) 歯科学専攻

学位論文題目 : マウス前駆脂肪細胞 3T3-L1 に対する漢方薬 加味逍遙散の脂肪蓄積抑制機構の解明

論文審査委員 : (主査) 教授 高橋 信博
教授 洪 光 教授 若森 実

論文内容要旨

脂肪組織における脂質代謝異常は種々の疾患発生と進行に密接に関連している。肥満発生の機序は、過食によるエネルギーの過剰摂取状態と運動不足により、間葉系幹細胞から成熟脂肪細胞への分化が促進し、過剰に脂肪を蓄積し肥大化する複雑な過程を経る。従って、成熟脂肪細胞への分化の過程を制御することは、過度な脂肪蓄積を抑制する点で重要な意味を持つ。加味逍遙散(KSS)は、更年期障害、月経困難症、神経症及び癌の支持療法に使用されてきた伝統的な日本の漢方薬である。KSSが有効性を示す疾患の増悪に、体重の増加や脂肪細胞より分泌されるホルモンやサイトカインが関与している。また、ヒト肝癌由来HepG2細胞でKSSが細胞内のトリグリセリド量を減少させたと報告されているが、脂肪細胞に対するKSSの分子薬理学的作用機序は不明な点が多い。これらのことから、この研究では、マウス前駆脂肪細胞3T3-L1に対するKSSの分子薬理学的作用を明らかにすることを目的にした。本研究では、マウス前駆脂肪細胞3T3-L1を使用し、Dexamethasone (Dex)、3-Isobutyl-1-methylxanthine (IBMX)、insulinよりなる分化誘導剤(DMI)を添加し、成熟脂肪細胞へと分化を誘導した。成熟脂肪細胞への分化度の評価にOil-Red-O染色法を使用した。KSSが3T3-L1細胞数へ及ぼす影響を評価するためにCell Counting Kit-8 (CCK-8)を用いた。分化マーカー遺伝子の発現解析にqPCRを用いた。Glucocorticoid receptor (GR) プロモーター活性は、分化誘導剤の1つでGRのリガンドとして作用するDexを添加した3T3-L1細胞を用いて、Luciferase reporter assayにて評価した。KSSは分化中の脂肪細胞に作用し、細胞内脂肪蓄積量を濃度依存的に減少させた。KSSは10 mg/mL以下では細胞数に影響を及ぼさなかった。更に、KSS構成生薬の牡丹皮(BTP)及びBTPの主要成分であるpaeonolがKSSと同様に濃度依存的に細胞内脂肪蓄積量を減少させた。分化マーカー遺伝子の発現解析では、KSS、BTP、paeonolが分化誘導3日目にCCAAT/enhancer-binding proteins-delta (C/EBP- δ)の遺伝子発現を抑制した。GRプロモーター活性の評価ではKSS、BTP、Paeonolが、GRの活性化を抑制した。

以上のことは、KSSがマウス3T3-L1細胞の分化初期過程において、DexによるGRの活性化を阻害することで、C/EBP- δ 遺伝子の発現を抑制し、結果 成熟脂肪細胞への初期分化を抑制することで脂肪蓄積量を減少させることを示唆する。また、KSSによる脂肪蓄積抑制効果は、構成生薬であるBTP、主要成分であるpaeonolが担っている可能性が明らかになった。

審査結果要旨

現代社会では、食生活を含む生活習慣の変化に伴って肥満が生じやすく、日本人成人の男性三割、女性二割が肥満と見做されている（平成29年度）。肥満は、糖尿病、心疾患、脳血管疾患をはじめとする様々な疾患の原因となり得ることから、肥満予防は健康寿命を延伸する上で喫緊の課題であり、歯学においても、歯科保健・医療における栄養指導という観点から、これまでに増して重要となる課題である。肥満の多くは、過食によるエネルギー過剰摂取と運動不足により、間葉系幹細胞から成熟脂肪細胞への分化が促進し、過剰に脂肪を蓄積し肥大化することで生ずることから、この過程を抑制することによって過度な脂肪の蓄積、すなわち、肥満を予防できるものと考えられる。そこで本研究では、既に更年期障害やがんの支持療法に使用実績が長く、その副次的作用として体重増加抑制や疾患関連ホルモン分泌抑制が示唆されている漢方薬である「加味逍遙散（KSS）」を対象とし、KSSがマウス前駆脂肪細胞3T3-L1株の分化成熟過程に与える影響とそのメカニズムについて、分子薬理学的および組織学的手法を用いて検討した。

その結果、KSSは3T3-L1細胞の分化成熟過程を抑制し、細胞内脂肪蓄積量を減少させた。さらに、KSSを構成する生薬である牡丹皮（BTP）及びBTPの主成分であるpaeonolがKSSと同様の作用を示したことから、KSSの主たる有効成分がpaeonolであることを示唆した。また、そのメカニズムとして、3T3-L1細胞の分化初期過程におけるGlucocorticoid receptorの活性化を阻害する可能性を示すことができた。

本研究は、マウス前駆脂肪細胞3T3-L1株という限られた細胞ではあるものの、KSSの持つ脂肪細胞に対する直接的な脂肪蓄積抑制効果を明らかにし、さらにその責任成分及び作用メカニズムを示唆した優れたものであり、今後の肥満予防並びに肥満治療に対する新たな可能性を開くものである。前述のように、歯科保健・医療においても、栄養指導はその重要性を増しており、その貢献は極めて大きいものと思料される。

以上のことから、本研究論文は博士（歯学）の学位に値するものと判断する。