

## 学位論文審査の要旨

申請者は、*in vivo* および *in vitro* 実験系を駆使することにより、セレンタンパク質であるセレノプロテイン P (SelP) が、インスリン標的細胞である脂肪細胞にインスリン抵抗性を惹起させる新たな可能性を見出した。以下に本学位論文の審査結果を示す。

これまでの前向き研究や疫学研究の結果から、セレン摂取量あるいは血中セレン濃度が栄養生理レベル（推奨量～耐容上限量）内であっても、2型糖尿病発症のリスクが高い集団が存在することが報告されている。加えて、肥満はインスリン抵抗性を惹起する要因の一つとして重要であると考えられる。しかし、栄養生理レベル内でのセレン摂取とインスリン抵抗性惹起との関連性については未だ明らかとはなっていない。本研究は、セレンの栄養生理レベル条件下におけるインスリン抵抗性惹起とセレンタンパク質発現との関連性の解明を試みたものである。

まず、生体内のセレンレベルとインスリン抵抗性惹起との関連性を明らかにするために、2型糖尿病マウスモデルである NSY マウスに高脂肪飼料（HFD）を摂取させることにより、インスリン抵抗性マウスモデルを作製した。さらに、セレノ-L-メチオニン (SeMet) を上記の栄養生理レベル内で摂取させることによってセレンタンパク質発現とインスリン抵抗性惹起との関連性について解析を行ったところ、インスリン抵抗性マウスモデルのプロテインチロシンホスファターゼ (PTP) 活性の上昇、ならびにグルタチオンペルオキシダーゼ (GPx) 1 および SelP 発現量の増加が観察され、SeMet がインスリン抵抗性の惹起に関与することが推察された。

次に申請者は、セレンタンパク質の機能解析の研究遂行に、より有効な *in vitro* 実験系を導入し、上記の GPx1 と SelP の発現制御因子の解明のほか、肝臓から分泌された SelP が他のインスリン標的細胞にどのような影響を与えるかについて検討することで、インスリン抵抗性惹起に対する GPx1 および SelP が有する新たな生理機能の解明を試みた。その結果、Hepal-6 肝癌細胞の GPx1 発現量は SeMet 曝露による細胞内のセレン濃度に依存し、一方、SelP 発現量は遊離脂肪酸 (FFA) 曝露による活性酸素種 (ROS) 産生に依存していることが明らかとなった。さらに、肝癌細胞において、3T3-L1 脂肪細胞から分泌された FFA が PTP1B mRNA の発現量を上昇させるとともに、グルコーストランスポーター4

(GLUT4) mRNA 発現量を減少させることにより、インスリン抵抗性を惹起させることが示唆された。また、脂肪細胞においても、肝癌細胞から分泌された SelP が GLUT4 mRNA 発現量の低下に伴って、そのインスリン抵抗性を惹起する可能性が推察された。

最後に申請者は、Hepa1-6 肝癌細胞を用いて、細胞内の SelP 発現がインスリンシグナル伝達において重要な役割を担っている Akt のリン酸化に関係するかどうかについて検討を行った。その結果、肝癌細胞への FFA 曝露は、Akt のリン酸化を抑制した一方で、同細胞への SeMet 曝露ではそのリン酸化に影響を及ぼさなかった。そこで申請者は、SelP 発現量が低減した細胞系を新たに作製し、細胞内 SelP がインスリンシグナル伝達に及ぼす影響に関する検討に着手した。その結果、SelP をノックダウンした細胞では、FFA 曝露によって低下する Akt のリン酸化には殆ど影響を及ぼさないことが観察されたことから、細胞内の SelP はインスリンシグナル伝達に直接的には関与してしないことを推察した。すなわち、FFA 曝露によって惹起される ROS 産生とそれに伴って起こる PTP 活性の上昇のほか、PTP1B 発現量の増大による Akt のリン酸化の低下現象には、SelP は関与していないことが推察された。この推察は、SelP がインスリン標的組織のインスリン抵抗性惹起に寄与している可能性を示唆するものである。

以上の結果を総合すると、本研究では、作製したインスリン抵抗性マウスモデル、およびインスリン標的細胞を用いた詳細な検討から、FFA の曝露による ROS 産生と PTP1B 発現の増大、さらには PTP 活性の上昇と伴ってインスリン抵抗性が惹起されるとともに、セレンタンパク質である SelP 発現量も肝臓で増加することが明らかとなった。加えて、SeMet の摂取量が栄養生理レベル内であっても耐糖能の低下が促進されること、ならびに肝臓の GPx1 発現量が増加することが観察された。一方、細胞内の GPx1 や SelP は上述のインスリンシグナル伝達の抑制によるインスリン抵抗性惹起には直接的には関与していないことが示唆された。

本研究で得られた、栄養生理学的セレンレベルでのインスリン抵抗性に関する SelP の新たな生理作用の知見等は、ヒトの肥満等により誘発される糖尿病の発症予防の策定のための有益な情報を提供できるものと考えられる。加えて、インスリン抵抗性の評価指標の 1 つとして SelP 発現量を活用することにより、インスリン抵抗性改善の治療戦略構築のための基礎的知見となりうることが期待される。以上の観点から、本論文は博士（薬学）の学位論文として十分に相応しいものと認定した。