

令和 3 年 9 月 10 日

海外特別研究員最終報告書

独立行政法人日本学術振興会 理事長 殿

採用年度 2019 年

受付番号 201960346

氏名

(氏名は必ず自署すること)

海外特別研究員としての派遣期間を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。

なお、下記及び別紙記載の内容については相違ありません。

記

1. 用務地（派遣先国名）用務地： カリフォルニア大学ロサンゼルス校（国名： 米国）

2. 研究課題名（和文）※研究課題名は申請時のものと違わないように記載すること。

生体膜リン脂質の脂肪酸鎖組成変化による脂肪細胞および腸管上皮幹細胞制御機構の解明

3. 派遣期間：令和 元年 9 月 1 日 ~ 令和 3 年 8 月 31 日

4. 受入機関名及び部局名

受入機関名： University of California

部局名： University of California, Los Angeles David Geffen School of Medicine

5. 所期の目的の遂行状況及び成果…書式任意 **書式任意 (A4 判相当 3 ページ以上、英語で記入も可)**

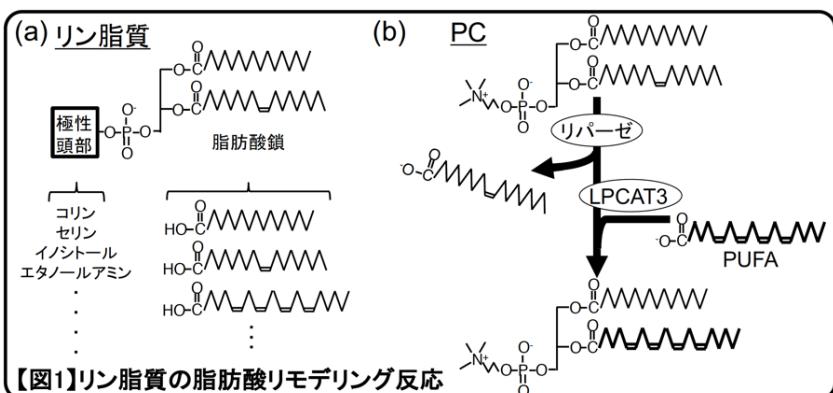
(研究・調査実施状況及びその成果の発表・関係学会への参加状況等)

(注) 「6. 研究発表」以降については様式 10-別紙 1~4 に記入の上、併せて提出すること。

5. 所期の目的の遂行状況及び成果

■■研究課題の背景と目的■■

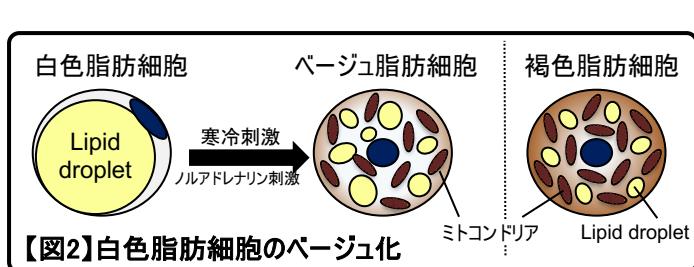
細胞を構成する生体膜はリン脂質の二重層で構成されている。リン脂質は極性頭部の違いに加えて、結合する脂肪酸の炭素数、及び不飽和度（二重結合の数）の違いの組み合わせにより、その種類は10000種類を超える(図1a)。しかし、なぜ膜リン脂質に結合する脂肪酸はこれほど多種多様なの



か、その生理的意義の全貌は明らかでない。特に極性頭部がコリンであるホスファチジルコリン(PC)は膜リン脂質の半数近くを占め、生体機能維持に大きな影響を持つ。膜リン脂質の多種多様な脂肪酸組成は、一度 *de novo* 経路により合成されたリン脂質からリパーゼによって脂肪酸が切り出された後、脂肪酸転移酵素によって脂肪酸が再導入される**脂肪酸リモデリング反応**で生じる。受入研究室は核内受容体のエキスパートであり、PPARs や LXR などの核内受容体の生理的機能を精力的に報告してきた。その中で、LXR が脂肪酸リモデリング酵素 *Lysophosphatidylcholine acyltransferase 3* (LPCAT3) の発現を制御することを見出した。**LPCAT3** は PC に、二重結合を多数含む高度不飽和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid: PUFA) を導入する酵素であり、膜リン脂質の不飽和度維持に必須である(図 1b)。受入研究室はこれまでに、全身性 LPCAT3 欠損マウス (生後すぐ死亡) 及び、各組織選択的 LPCAT3 欠損マウスを作成し、**LPCAT3 欠損が肝臓や腸管上皮幹細胞の脂肪蓄積を引き起こす**ことを報告した。さらに後述の様に、我々は**脂肪組織選択的 LPCAT3 欠損マウス(Ad-LPCAT3 KO)**で**脂肪細胞の特殊なベージュ化が亢進**することをごく最近見出した。そこで本研究では LPCAT3 欠損による脂肪細胞の表現型の分子機構を解明し、**脂肪細胞における膜リン脂質の不飽和度維持の生理的意義を分子レベルで明らかにすることを目的とする**。当初 LPCAT3 欠損マウスにおける腸管上皮幹細胞の表現型の分子機構解明も本派遣目的の一つであったが、脂肪細胞のプロジェクトが想定以上に進展したため、脂肪細胞の研究のみに専念することになった。以下、本派遣によって私が明らかにしたことを記す。

■■LPCAT3 欠損は白色脂肪細胞の新奇ベージュ化を引き起こす■■

白色脂肪細胞は余分なエネルギーを中性脂質としてリピッドドロップレットに蓄える。一方、褐色脂肪細胞はミトコンドリアが発達しており、脂質を積極的に燃焼したエネルギーをミトコンドリア局在熱産生分子 UCP1 を介して熱として発散する。近年、白色脂肪細胞も寒冷刺激やノルアドレナリン刺激によってUCP1の発現が上昇し、褐色様のベージュ細胞に分化し、熱産生をすることが分かった。これをベージュ化と呼ぶ(図 2)。一方で白色脂肪細胞には LPCAT3 が高発現し、PUFA を含むリン脂質が豊富であるが、その生理的意義は明らかでない。



そこで我々は**脂肪組織選択的 LPCAT3 欠損マウス(Ad-LPCAT3 KO)**を作成した。通常飼育条件下では Ad-LPCAT3KO の白色脂肪組織に目立った異常は見られないものの、**膜リン脂質中の PUFA は大幅に減少**していた。そこで高脂肪食負荷を行ったところ、Ad-LPCAT3 KO は野生型に比べ体重の増加が優位に少なく、MRI 解析からこの体重減少が脂肪重量の減少によるものであるとわかった(図 3a)。そして**Ad-LPCAT3 KO の白色脂肪**

組織は野生型と比べて小さく、赤みがかったり、ベージュ化の様相を呈していた(図3b)。実際に白色脂肪組織の遺伝子発現解析をしてみると Ad-LPCAT3 KO では確かに UCP1 やミトコンドリア関連遺伝子の発現が上昇しており、ミトコンドリアによる脂肪酸酸化能の劇的な上昇が見られた(図3c)。次に、この AdLPCAT3KO における高脂肪食負荷時の表現型が、古典的な UCP1

【図3】LPCAT3欠損は白色脂肪組織のベージュ化を亢進させる
(a) Ad-LPCAT3 KOでは高脂肪食負荷時の体重増加が抑制される
(b) Ad-LPCAT3 KOでは高脂肪食負荷時のベージュ化が亢進する
(c) Ad-LPCAT3 KOの白色脂肪組織は、ミトコンドリアによる脂肪酸酸化能力が著しく上昇している。

依存的ベージュ化によるものか解析した。マウスにとって室温(23°C)は軽度の寒冷ストレスに曝露されている状態であり、白色脂肪組織ではアドレナリン刺激による UCP1 の発現上昇による古典的なベージュ化が起きている。そこで AdLPCAT3KO マウスを 30°C の高温条件(thermos neutral)下で飼育し、寒冷ストレスによるベージュ化が引き起こされない条件下で高脂肪食を与えた。すると、30°Cにおいても Ad-LPCAT3 KO は野生型に比べ高脂肪食負荷による体重の増加が優位に少なく、室温条件下と同様の表現型を示した。以上から、AdLPCAT3KO マウスにおけるベージュ化は、古典的なアドレナリン刺激によるものではないことが示唆された。一方で、UCP1 を発現する

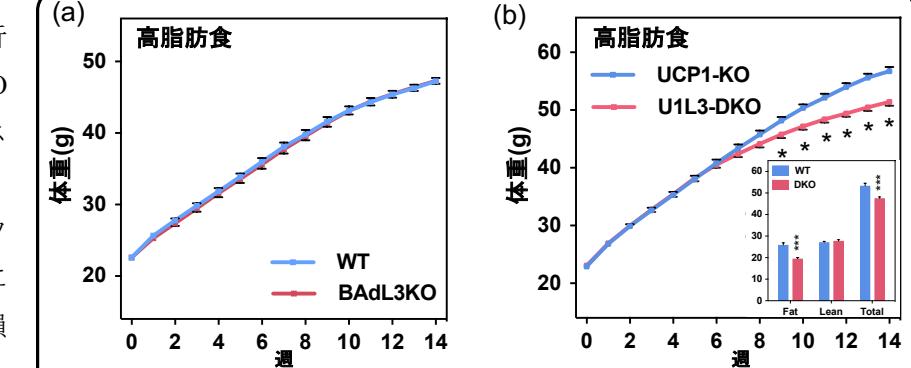
LPCAT3 欠損マウス(UCP1-Cre; LPCAT3^{ff}(BAdL3KO))では表現型が消失した(図4a)

さらに、古典的ベージュ細胞/褐色脂肪細胞の関与をより直接的に解析するために、AdLPCAT3KO マウスを UCP1 欠損マウスと掛け合わせて、UCP1/LPCAT3 二重欠損マウス(DKO)を作成した。非常に興味深いことに、UCP1 欠損条件下においても、

UCP1/LPCAT3 二重欠損マウス(DKO)は UCP1 KO マウ

スよりも体重増下が優位に少なく、依然ベージュ化の様相を呈していた(図4b)。即ち高脂肪食負荷条件下において LPCAT3 欠損による膜リン脂質中の PUFA 欠乏が、寒冷刺激などの古典的な機構を介さない、UCP1 非依存的な白色脂肪のベージュ化を引き起こすことが分かった。

これまでベージュ細胞の機能はアドレナリン刺激による UCP1 発現量の上昇が基本であると定説化され、食事依存的なベージュ化についてはまだ不明な点が多い。ましてやそれが膜リン脂質組成変化によって制御されるという報告は全くない。

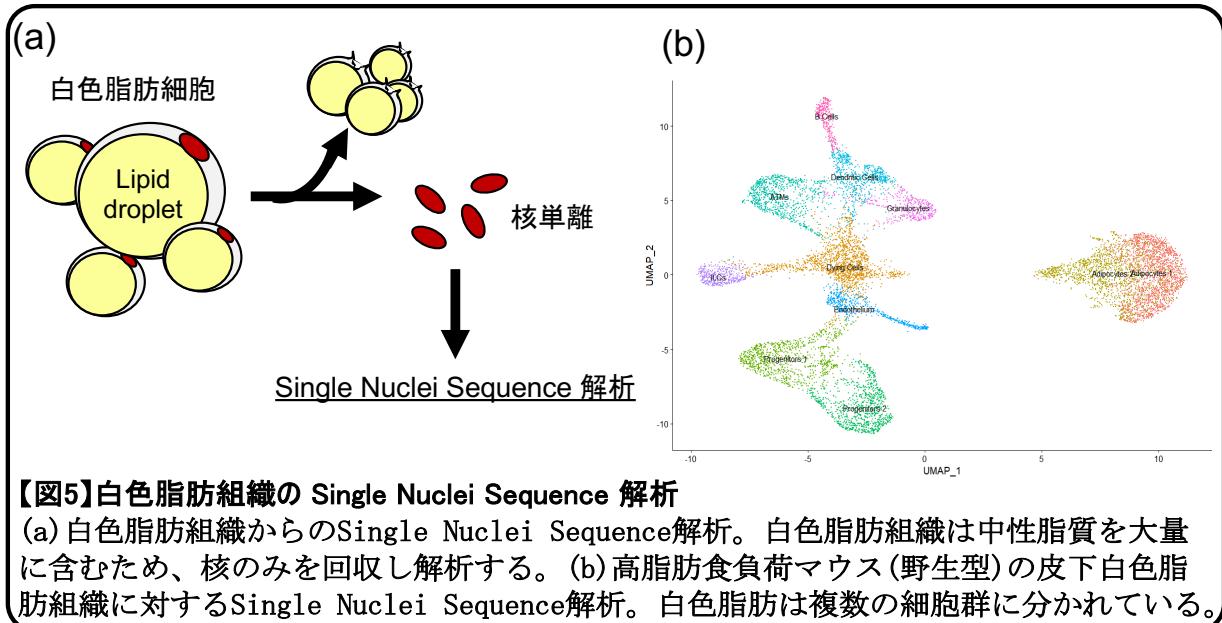


【図4】LPCAT3欠損による白色脂肪組織のベージュ化はUCP1非依存的である
(a) 褐色/ベージュ細胞選択性LPCAT3 KOマウス(BAdL3KO)は高脂肪食負荷時に表現型を示さない
(b) UCP1/LPCAT3 DKOはUCP1 KOに比べ高脂肪食負荷時のベージュ化が亢進する。

■■高脂肪食負荷時の白色脂肪組織に対する single nuclei sequence 解析■■

上述の様に、LPCAT3 を欠損した白色脂肪細胞では、高脂肪食負荷時に脂肪酸酸化に関わる遺伝子発現が上昇しており、脂肪酸酸化によるエネルギー合成が亢進している。これは高脂肪食負荷時に **LPCAT3 欠損**によって白色脂肪組織中の一部の細胞群が新奇ベージュ様細胞に分化していることを示唆している。

この様な細胞群の解析には近年急速に発展している single cell sequence が最適であるが、白色脂肪細胞は巨大でかつ大量の中性脂質を含んでおり、技術的に単細胞を単離して遺伝子解析をすることはできない。そこで我々は**白色脂肪細胞から核のみを単離回収する手法を確立**した(図 5a)。実際に高脂肪食を負荷した野生型および LPCAT3 欠損マウスの皮下白色脂肪組織を回収し、核を単離して解析したところ(single nuclei sequence)、まず白色脂肪組織には白色脂肪細胞、脂肪前駆細胞、内皮細胞、そして多くの免疫細胞が存在していることが明らかとなった(図 5b)。さらに成熟した白色脂肪細胞群についてのみ着目し詳細に解析すると、高脂肪食条件下において**白色細胞は大きく 2 つの細胞群に分かれている**ことが分かった(cluster I, II とする)。興味深いことに、野生型マウスの白色脂肪はほぼ cluster I で構成されているが、LPCAT3 欠損マウスの白色脂肪細胞は両 cluster I と II が共存しており、遺伝子発現の傾向から cluster II が **LPCAT3 欠損によって活性化する新奇ベージュ細胞群**であることが明らかになった。さらに、この新



ベージュ細胞群に発現する遺伝子群を詳細に解析した結果、ある特定の代謝経路が亢進しており、これによりベージュ化が引き起こされていることが明らかとなった。

実際にこの代謝経路は培養脂肪細胞においても LPCAT3 欠損により活性化することを明らかにしており、PUFA 欠乏による細胞の脂肪酸化能の上昇を促す分子機構の全貌が明らかとなりつつある。

ベージュ細胞は余分なエネルギーを熱として発散する脂肪細胞である。従って白色脂肪細胞のベージュ化への誘導は肥満や二型糖尿病の症状を和らげ、新しい治療法として期待されているものの、未だ実用には至っていない。これは、古典的なアドレナリン刺激とそれに伴う UCP1 の役割のみが注目され、アドレナリンや UCP1 刺激非依存的なベージュ化機構の存在など、ベージュ化の全体像が十分に把握できていないことに起因する。本研究によって得られる結果は、食事によって脂肪組織に取り込まれる脂肪酸の種類が白色脂肪組織のベージュ化を制御していることを示しており、**膜リン脂質組成による白色細胞の分化制御という全く新しい概念**を提唱している。さらに本発見を標的とした全く新しい治療法が確立できれば**医療分野にも大きく貢献できる**と考えている。本派遺による成果は 2022 年中を目処に 2 報投稿予定である。