

脂肪細胞脂肪蓄積の分子基盤解析による 抗メタボリックシンドローム研究

Studies on molecular mechanisms of lipid accumulation in
adipocytes for anti-metabolic syndrome

佐藤 隆一郎 (SATO RYUICHIRO)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授



研究の概要

メタボリックシンドロームは、内臓脂肪蓄積による腹部肥満をもとに生じる疾病であり、脂肪細胞内での脂肪滴過剰蓄積の分子機構を明らかにすることが、発症機序の解明、予防に不可欠であると言えます。その分子基盤を分子細胞生物学的手法により明らかにし、さらには予防効果を有する食品成分の探索に結びつける研究を展開します。

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：食品生化学、栄養生化学

1. 研究開始当初の背景

高齢社会をすでに迎えた日本において、高齢者の全人口に閉める割合は20%を超えており、2015年までには25%を突破する勢いです。高齢化に伴い、生活習慣病患者の増加、付随的な医療費の膨大化は避けがたい現実です。多くの生活習慣病高齢者を抱えた高齢社会では、医療費が社会経済を疲弊させ、活力ある社会発展を期待できません。このような現実を少しでも改善する試みとして、食品機能を活用した健康維持、疾病予防が考えられます。食の活用は医療費高騰をもたらさず、逆に医療を必要とする患者数を減少させ医療費軽減化への寄与が期待されます。

2005年には、予防医学的な見地からメタボリックシンドロームの診断基準が設けられ、内臓脂肪の蓄積が種々の生活習慣病の原因として、第一の診断基準に挙げられています。内臓脂肪組織から分泌される種々の活性因子が糖尿病、高血圧、高脂血症の引き金となることから、これを抑止する事が強く望まれています。肥満はエネルギー摂取過剰が脂肪細胞への脂肪蓄積を誘引した結果である事は周知の事実ですが、脂肪細胞内で脂肪滴がどのような機構で形成され、またその結果として種々の増悪因子を分泌亢進する機構に関する分子レベルでの解明は十分に行われていません。本研究課題では、脂肪細胞内での脂肪滴形成の分子基盤を明らかにし、それに伴う増悪因子の発現、分泌機構を発生工学的手法を駆使して実験動物レベルで解明し、

さらにこれらを抑制する食品成分の探索系の樹立、ならびに食品因子の探索を行います。メタボリックシンドロームを誘発するどの経路のどの部位に食品成分が分子として作用するのかを、分子細胞生物学的手法により明らかにする、先端的食品科学研究を進展させる事も本研究の目的の一つと挙げられます。

2. 研究の目的

脂肪細胞内でPerilipin発現に呼応して脂肪滴が形成される分子機構の全容を明らかにする事を目標としています。その解析により、種々の細胞内タンパク質の関与が明らかにされる事が予想されます。そして、脂肪滴形成プロセスに関与する細胞内因子は、すべて抗肥満の標的候補となり得ます。エネルギー余剰のシグナルがどのような経路を介して脂肪滴形成を促すのか、発生工学的手法をも駆使して、培養細胞レベル、個体レベルの双方から解析を進め、その複雑な機構を明らかにしていきます。さらに、そのような基礎知見に基づき、脂肪滴肥大化を抑制する活性を有する食品成分の評価系を構築し、活性因子の探索を試みます。基礎研究と応用研究を結びつけ、先端的食品科学研の潮流を創出する事を目指します。

3. 研究の方法

前駆脂肪細胞から成熟脂肪細胞への分化過程において発現が亢進する核内受容体に

着目し、その機能を追跡します。核内受容体の多くは脂質リガンドを結合し、活性化されることから、脂肪細胞分化により細胞内でリガンド濃度が高まり、活性化した受容体が分化あるいは脂肪滴形成に関与する可能性が高くあります。このような核内受容体の一つとして ROR α に着目し、その機能解析を行ないました。脂肪細胞へと分化時に、レンチウイルス発現系を用い、ROR α 過剰状況下、あるいは shRNA を用いてノックダウン状況下で、分化進行、脂肪滴蓄積の変化を追跡します。

また、脂肪細胞脂肪滴表面タンパク質 Perilipin 欠損マウスを用い、脂肪組織での遺伝子発現解析、脂肪組織より前駆脂肪細胞を調製し、これを脂肪細胞へと分化させ、脂肪滴形成が低下した状況下での分化の進行を追跡します。

4. これまでの成果

(1) インスリンシグナルの下流に位置してそのシグナル伝達を軽減する作用が知られている TRB3 タンパク質の脂肪細胞内での機能解析を行いました。脂肪細胞分化モデル細胞の 3T3-L1 を分化させると、TRB3 は分化初期に発現低下するものの、その後上昇することが確認され、脂肪細胞分化時に何らかの機能を発揮していることが予想されました。そこで 3T3-L1 細胞にレンチウイルスを用い、TRB3 を過剰発現させると分化が抑制され、脂肪滴蓄積の減少が見られました。一方、siRNA を用いて TRB3 発現を抑制させると、分化は亢進しました。この作用点を明らかにすべく、分化のマスターレギュレーターである PPAR γ への TRB3 の作用を解析したところ、阻害活性が見出されました。TRB3 は PPAR γ にタンパク質-タンパク質結合をすることを、in vitro、in vivo で確認しました。以上の結果より、TRB3 は PPAR γ 活性を負に制御することにより脂肪細胞分化を抑制する作用を持つことが明らかとなりました。

(2) ApoC-III は、肝臓において合成され、VLDL の表面タンパク質として血中に分泌されます。これまで肝臓が主たる合成臓器と考えられてきましたが、脂肪細胞分化の過程で数百倍に発現が上昇する因子として、今回新たに見出しました。ApoC-III は分化に伴い、RXR リガンドにより発現の亢進が認められました。プロモーター解析の結果、RXR 応答配列が同定され、RXR がホモ二量体で作用することが示唆されました。発現量としては、肝臓、小腸に比べるとごく微量であり、脂肪組織周辺において機能することが想定されます。

(3) 脂肪細胞分化過程で発現上昇し、機能が期待される因子として核内受容体 ROR α に着目しました。ROR α は生理的なリガンドが不明であり、その機能も不確

かな点が多い分子です。過剰発現、ノックダウン実験の結果、ROR α は分化を抑制する因子であることが判明しました。その機序は、PPAR γ によるペリリピン遺伝子発現抑制を介して脂肪滴形成を負に制御するものです。ROR α は肝臓においては、インスリン抵抗性を促す因子ですが、脂肪組織においては分化を負に制御し、脂肪滴蓄積を抑制するという、組織特異的な機能を発揮する因子であることが明らかになりました。

5. 今後の計画

脂肪滴形成の分子基盤を明らかにする目的で、脂肪細胞表面タンパク質 Perilipin 欠損マウスを用いた研究を展開中です。脂肪滴形成低下が脂肪細胞分化に及ぼす影響について、分子細胞生物学的手法を駆使して解析していきます。さらに、脂肪滴形成を抑制するための分子標的を明らかにし、食品成分に抑制効果活性を持つものを探索していきます。

6. これまでの発表論文等

(1) Takahashi Y, Ohoka N, Hayashi H and Sato R (2008) TRB3 suppresses adipocyte differentiation by negatively regulating PPAR γ transcriptional activity. *J. Lipid Res.* 49: 880-892.

(2) Arito M, Horiba T, Hachimura S, Inoue J and Sato R (2008) Growth factor-induced phosphorylation of sterol regulatory element-binding proteins inhibits sumoylation, thereby stimulating the expression of their target genes, low density lipoprotein uptake, and lipid synthesis. *J. Biol. Chem.* 283; 15224-15231.

(3) Takahashi Y, Inoue J, Kagechika H and Sato R (2009) ApoC-III gene expression is sharply increased during adipogenesis and is augmented by retinoid X receptor (RXR) agonists. *FEBS Lett.* 583; 493-497.

(4) Ohoka N, Kato S, Takahashi Y, Hayashi H, and Sato R. (2009) The orphan nuclear receptor ROR α restrains adipocyte differentiation through a reduction of C/EBP β activity and perilipin gene expression. *Mol Endocrinol.* 23: 759-771.

(5) Irisawa M, Inoue J, Ozawa N, Mori K and Sato R (2009) The sterol-sensing ER membrane protein TRC8 hampers ER-to-Golgi transport of SREBP-2/SCAP and reduces SREBP-2 cleavage. *J. Biol. Chem.* 284, 28995-29004.

ホームページ等

<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/food-biochem/>