

令和元年6月11日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09748

研究課題名(和文) 脂肪細胞のエネルギー代謝を規定する脂肪滴形態とミトコンドリア量の制御機構の解明

研究課題名(英文) Investigation of the mechanism controlling lipid droplet formation and mitochondrial volume that regulate energy metabolism in adipocytes

研究代表者

田守 義和 (TAMORI, YOSHIKAZU)

神戸大学・医学研究科・特命教授

研究者番号：90379397

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：エネルギー貯蔵型の白色脂肪細胞は単房性の巨大な脂肪滴を形成する。白色脂肪細胞には、脂肪滴膜に局在する蛋白であるCideファミリーのうち、主にFSP27 が発現しており、これが単房性の巨大脂肪滴の形成に寄与していることを明らかにした。さらに、エネルギー消費型の褐色脂肪細胞には、同ファミリーのうち、主にCideAとFSP27 が発現しており、この2つのアイソフォームがヘテロダイマーを形成することで多房性の小脂肪滴の形成を可能にしているメカニズムを解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

エネルギーを貯蔵する白色脂肪細胞は多房性の脂肪蓄積を示し、エネルギーを消費する褐色脂肪細胞は多房性の脂肪蓄積を示す。しかし、この脂肪滴の形態を制御するメカニズム、特に褐色脂肪細胞において多房性に脂肪滴を形成する分子機構は全く不明であった。我々の研究は世界に先駆け、褐色脂肪細胞における貯蔵脂肪滴形態を制御するメカニズムを明らかにした。近年、肥満の予防、治療面からも褐色脂肪細胞の役割が注目されており、今回の成果は褐色脂肪細胞のエネルギー代謝機構の全容を解明する上でも極めて意義深いものであった。

研究成果の概要(英文)：Energy-storing white adipocytes show unilocular large lipid droplet formation. We found that FSP27, one of Cide family proteins that were localized on lipid droplet surface was mainly expressed in white adipocytes and this isoform contributes to the unilocular large lipid droplet formation in white adipocytes. In addition, we clarified that other Cide family proteins, CideA and FSP27 were mainly expressed in brown adipocytes and the heterodimerization of these two isoforms were important for the multilocular small lipid droplet formation in brown adipocytes.

研究分野：糖尿病代謝

キーワード：脂肪細胞 脂肪滴 白色脂肪細胞 褐色脂肪細胞 エネルギー代謝 ミトコンドリア

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脂肪細胞にはエネルギー貯蔵型の白色脂肪細胞と、エネルギー消費型の褐色脂肪細胞がある。ヒトにおいても褐色脂肪細胞が存在し、エネルギー消費を高めて、肥満に対して抑制的に機能するとともに、寒冷刺激が褐色脂肪細胞を誘導することが確認された。このため褐色脂肪細胞の分化・機能の研究は肥満治療への応用も見据えて非常にホットなエリアとなっている。

白色、褐色脂肪細胞の形態上の相違点は、白色脂肪細胞が単房性に脂肪を蓄積し、ミトコンドリアの発達が著明では無いのに対し、褐色脂肪細胞は多房性の脂肪蓄積形態をとり、ミトコンドリアが豊富に発達していることである。この脂肪滴の形態上の違いが両脂肪細胞のエネルギー代謝の差を反映している可能性がある。

脂肪滴膜に局在し、脂肪滴形成に関与する Cide ファミリーとして、褐色脂肪細胞には CideA が発現し、白色脂肪細胞には FSP27 が発現している事が確認されている。しかし、この2種の蛋白は、単独ではともに脂肪滴サイズを増大させる事が報告されているものの、これらの蛋白がどのようなメカニズムで白色・褐色両脂肪細胞のそれぞれの脂肪滴サイズや形態を制御しているか明らかではない。しかも、現在までのところ、白色および褐色脂肪細胞で、細胞内脂肪滴の蓄積形態と細胞のエネルギー代謝の関連性は不明であり、これを制御する分子メカニズムも明らかにされていない。

この研究を開始するのと前後して、新たに FSP27 の新規アイソフォームである FSP27 β が同定された (従来型の FSP27 が FSP27 α)。FSP27 β は alternative splicing により、FSP27 α と同じ遺伝子から転写され、FSP27 α のアミノ末端に 10 アミノ酸だけが付加された構造をもっている。肝臓では FSP27 β は転写因子 CREBH によって発現が制御されていることが報告されていたが、脂肪細胞での発現制御機構は明らかではない。我々はこの FSP27 β が褐色脂肪細胞の多房性脂肪滴形成やエネルギー代謝の亢進に重要な機能を果たしているのではないかと推測し研究を開始した。

2. 研究の目的

従来型の FSP27 α と新規アイソフォームである FSP27 β が、白色および褐色脂肪細胞において、脂肪の蓄積形態およびエネルギー代謝をどのように制御しているか分子メカニズムを解明する。

3. 研究の方法

(1) mRNA および蛋白レベルにおける FSP27 α と FSP27 β の局在の検討

マウスの白色脂肪組織、褐色脂肪組織、肝臓から mRNA および蛋白を抽出して、RT-PCR 法および immunoblot 法にて、各臓器における FSP27 α と FSP27 β の発現レベルを検討した。

(2) COS 細胞における CideA、FSP27 α 、FSP27 β の脂肪滴形成機能の解析

pcDNA や pIRES-DSRed2 プラスミドによって CideA、FSP27 α 、FSP27 β を COS 細胞に過剰発現して、細胞内の脂肪滴を BODIPY で染色することで脂肪滴を観察し、それぞれの蛋白の脂肪滴形態に対する効果を検討した。

(3) 褐色培養細胞細胞 (HB2 細胞) における FSP27 β の脂肪滴形態に対する効果の検討

HB2 褐色脂肪細胞でエレクトロポレーションにより細胞を透過性にし、その後 siRNA を用いて FSP27 β の蛋白発現を低下させたときの脂肪滴の形態とサイズを検討した。

(4) CideA と FSP27 β の複合体形成の検討

まず COS 細胞に pcDNA 発現プラスミドを用いて、CideA と FSP27 β を過剰発現し、CideA に付加した HA tag に対する抗体で免疫沈降した後、FSP27 の抗体で immunoblot 法を行い、両者の共沈を確認することで、複合体の形成の有無を検討した。

さらに HB2 培養褐色脂肪細胞において、CideA の抗体で免疫沈降して、FSP27 の抗体で immunoblot を行い、両者の共沈を確認することで、実際脂肪細胞においても内因性 CideA と FSP27 β の複合体の形成の有無を検討した。

4. 研究成果

(1) FSP27 α と FSP27 β の局在

従来型の FSP27 アイソフォームである FSP27 α は mRNA レベルでも蛋白レベルでも白色脂肪細胞特異的に豊富な発現が認められ、褐色脂肪細胞や肝臓では発現量が少なかった。いっぽう、新規アイソフォームである FSP27 β は mRNA レベルでも蛋白レベルでも、褐色脂肪細胞に特異的に豊富な発現が認められ、白色脂肪細胞や肝臓では発現が少なかった。つまり、Cide ファミリーのうち、FSP27 α は主に白色脂肪細胞に発現するのに対して、FSP27 β と CideA は主に褐色脂肪細胞に発現することが明らかとなった (図 1)。

(2) Cide ファミリー (CideA、FSP27 α 、FSP27 β) の脂肪滴形成に対する機能検討

COS 細胞に Cide ファミリーを過剰発現すると、CideA と FSP27 α はほぼ同等のサイズの巨大な脂肪滴を形成した。しかし FSP27 β の過剰発現では脂肪滴サイズは対照群と変わらず、小さい脂肪滴のままであった。

また HB2 褐色培養脂肪細胞で FSP27 β をノックダウンすると、脂肪滴サイズは増大した。

(3) 褐色脂肪細胞における CideA と FSP27 β の脂肪滴形成に対する機能の検討

褐色脂肪細胞に発現する Cide ファミリーは CideA と FSP27 β であることから、褐色脂肪細胞の Cide ファミリーの

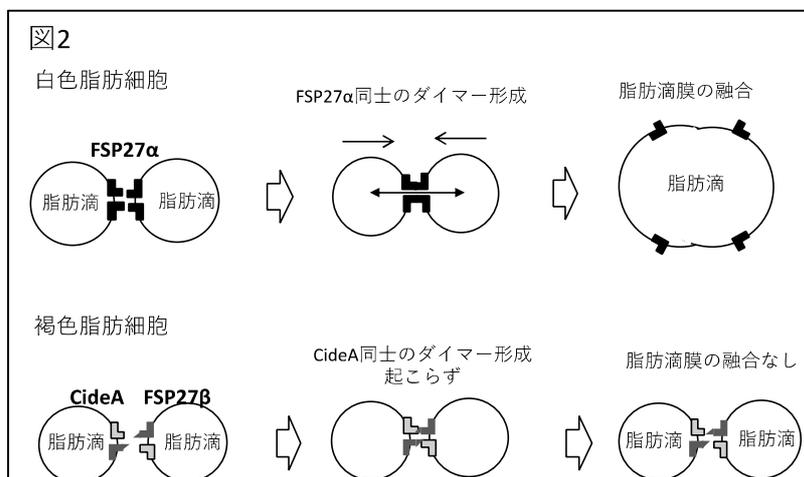
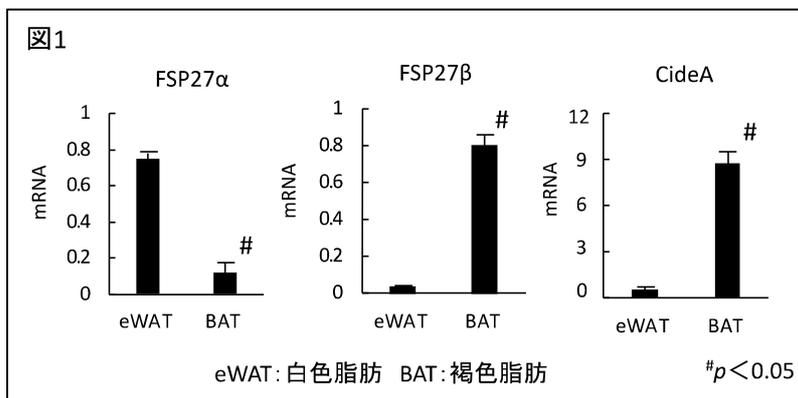
発現パターンを COS 細胞で再現するべく、COS 細胞に CideA と FSP27 β を共発現させたところ、両者を発現している細胞では CideA による脂肪滴サイズの増大が FSP27 β の発現量依存性に抑制された。

また、免疫沈降と immunoblot 法によって、過剰発現した FSP27 β は、CideA と複合体を形成するとともに、CideA のホモダイマーの形成を抑制していることも確認された。さらに HB2 褐色培養脂肪細胞においても、内因性 CideA と FSP27 β が複合体を形成していることが示された。

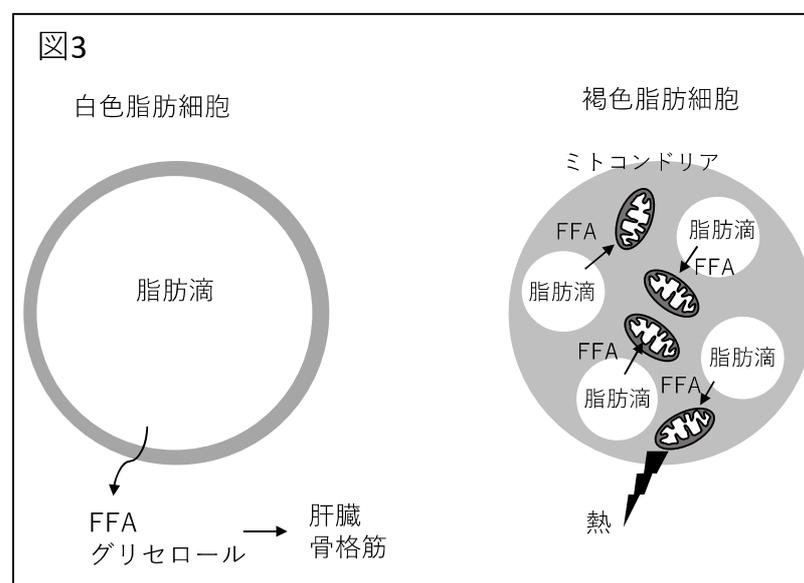
(4) 褐色脂肪細胞における多房性脂肪滴形成の分子メカニズムの解明

以上のデータから、白色脂肪細胞では FSP27 α がホモダイマーを形成してサイズの大きな脂肪滴形成を担っているが、褐色脂肪細胞では FSP27 β が CideA に結合してヘテロダイマーを形成し、CideA のホモダイマー形成による脂肪滴サイズ増大作用を抑制しているというメカニズムが推測された(図2)。

白色脂肪細胞と褐色脂肪細胞の脂肪滴サイズを制御するメカニズムは今まで解明されておらず、今回の我々の検討により、初めて分子メカニズムが明らかになった(図2)。



さらに、この脂肪滴サイズと形態の変化は、脂肪細胞のエネルギー特性を反映していると考えられる。つまり空腹時、中性脂肪を分解し、遊離脂肪酸(FFA)やグリセロールを細胞外へ放出する白色脂肪細胞では脂肪分解が細胞膜直下で起こる単房性脂肪滴形態が好都合であり、分解した中性脂肪から生じる遊離脂肪酸(FFA)を細胞質内で脂肪滴と隣接するミトコンドリアで利用する褐色脂肪細胞では多房性の小脂肪滴が有利であると考えられる(図3)。



Cide ファミリーは脂肪滴サイズと形態の制御を通して、これら脂肪細胞の効率的なエネルギー代謝の制御に関与していると想像され、これは世界的に見ても新しい概念である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

1. Nishimoto Y, Tamori Y.: CIDE Family-Mediated Unique Lipid Droplet Morphology in White Adipose Tissue and Brown Adipose Tissue Determines the Adipocyte Energy Metabolism. J Atheroscler Thromb (査読なし) 24:989-998, 2017.
2. Nishimoto Y, Nakajima S, Tateya S, Saito M, Ogawa W, Tamori Y.: J Biol Chem (査読あり) 292:10824-10834, 2017.
3. 西本祐希, 田守義和: 褐色脂肪細胞が多房性の小脂肪滴を形成して効率よくエネルギー消費を行うメカニズム 内分泌・糖尿病・代謝内科 (査読なし) 44 巻, 438-442, 2017.

〔学会発表〕(計 4 件)

1. 中島進介, 岩橋泰幸, 西本祐希, 楯谷三四郎, 小川渉, 田守義和 多房性脂肪滴蓄積を示す FSP27 欠損マウスの白色脂肪細胞ではオートファジーの亢進が脂肪分解に寄与する 第 61 回日本糖尿病学会年次学術集会 2018 年
2. 西本祐希, 中島進介, 楯谷三四郎, 小川渉, 田守義和 Cidea と FSP27 による褐色脂肪細胞の脂肪滴サイズの制御機構の解明 第 37 回日本肥満学会総会 2016 年
3. 西本祐希, 中島進介, 楯谷三四郎, 小川渉, 田守義和 CIDEA と FSP27 による褐色脂肪細胞の脂肪滴サイズの制御機構の解明 第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会 2016 年
4. 西本祐希, 中島進介, 楯谷三四郎, 小川渉, 田守義和 Cidea と FSP27 による褐色脂肪細胞の脂肪滴サイズの制御機構の解明 第 21 回アディポサイエンス・シンポジウム 2016 年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年:
国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.kobe-u.ac.jp/im2/doctor/activity/acti-05.html>

6. 研究組織

- (1)研究分担者: なし
- (2)研究協力者: なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。