

令和元年5月30日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09764

研究課題名(和文) 亜鉛シグナルによる脂肪細胞褐色化の分子機構

研究課題名(英文) Molecular mechanism of adipocyte browning via zinc signaling

研究代表者

福中 彩子 (Fukunaka, Ayako)

群馬大学・生体調節研究所・助教

研究者番号：60586402

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)：我々のこれまでの解析から、ZIP13による亜鉛シグナルには特異性が存在し、脂肪細胞褐色化抑制を調節していると考えられる。そこで亜鉛シグナルの特異性が生じる機構を解明するために、ZIP13の褐色化抑制に必要な領域を同定した。さらに、この領域と結合する分子が亜鉛シグナルの特異性を決定しているのではないかと仮定し、ZIP13の褐色化抑制に必要な領域を用いて、yeast two hybrid(Y2H)を行い、結合する分子(結合分子)を3種類選定した。これらの分子をノックダウンや過剰発現することにより、ZIP13と同じ挙動を示す分子Xを同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

「亜鉛シグナル」が生命活動に深く関わるシグナル伝達システムの一端を担うことが明示され、亜鉛シグナルの健康と病気への関与に注目が集まっている。一方で、「亜鉛シグナルがどのように標的分子の発現・活性を制御するのか」という生命現象の重大な命題が解明できていない(Fukunaka A, Int J Mol Sci.2018)。我々は、自身が開発したベージュ脂肪細胞分化系を用いて、ZIP13の直接の標的分子Xを同定することができたが、ZIP13がどのように分子Xを制御し、脂肪細胞褐色化を抑制するかは今後の課題である。

研究成果の概要(英文)：We have previously reported that zinc transporter ZIP13, a protein associated with the recessive human connective tissues disorders (Fukada T, et al., PLoS One, 2008), negatively regulates the adipocyte browning pathway (Fukunaka A, et al., PLoS Genet., 2017). However, underlined mechanism has been obscured.

We have noted that the unique amino acid sequence of ZIP13 facing the cytosol, named intracellular loop2 (Int-L2), which is distinct from the other ZIP family members, is involved in the inhibition of adipocyte browning. We identified binding molecules that associate with the Int-L2 of ZIP13. We are now clarifying the molecular mechanism as to how ZIP13 Int-L2 binding protein X regulate adipocyte browning via ZIP13.

研究分野：亜鉛生物学・代謝学

キーワード：亜鉛シグナル 脂肪細胞褐色化 ベージュ脂肪細胞

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

近年、肥満を伴う2型糖尿病患者数は日本人においても増加の一途をたどっており、その病態の解明と、新規治療薬の開発は急務である。そのため、エネルギーを貯蔵する白色脂肪細胞を、エネルギーを消費する誘導性の褐色脂肪細胞であるベージュ脂肪細胞へと形質転換することによって、太りにくい体質に繋がる食品や薬の開発に注目が集まっている。特に、ヒトベージュ脂肪細胞は、加齢や肥満状態において減少することが報告されていることから、ベージュ脂肪細胞の増加・活性化機構を解明し、その制御に基づく治療法を開発することで、より健康に寿命を全うすることが可能となると考えられる。

我々は、エーラス・ダンロス症候群原因遺伝子をコードする亜鉛トランスポーターZIP13が、ベージュ脂肪細胞の分化を抑制することを見出した(Fukunaka A, *PLoS Genet.*, 2017)。具体的には、*Zip13* 欠損マウスの白色脂肪組織でベージュ脂肪細胞の顕著な増加/エネルギー消費量の亢進/高脂肪食誘導の肥満に抵抗性を示すことを見出した。しかしながら、①なぜ ZIP13 を欠損すると脂肪細胞褐色化が亢進するのか、②*Zip13* 欠損による脂肪細胞褐色化亢進は脂肪細胞自律的に起きているのかなど、ZIP13 を介する脂肪細胞褐色化の制御には不明な点が多く残されている。

2. 研究の目的

本研究では、我々が開発したベージュ脂肪細胞分化系を用いることで、ZIP13 の直接の標的分子を同定し、ZIP13 の脂肪細胞褐色化における役割を明らかにすることを目的とし、肥満糖尿病の理解に貢献することを目指とする。

3. 研究の方法

(1)脂肪細胞褐色化の評価

Zip13 欠損前駆脂肪細胞と WT 前駆脂肪細胞を用いて、ベージュ脂肪細胞への分化誘導を行なった。分化誘導後6日目の成熟脂肪細胞を回収し、遺伝子発現とタンパク質の発現を評価した。褐色化の評価には褐色脂肪細胞マーカー遺伝子(*Ucp1*, *Pgc1α*など)の発現を定量評価した。

(2)脂肪細胞特異的 *Zip13* 欠損マウスの作成

*Zip13*flox マウス (徳島文理大学 深田俊幸教授から分与) と Adiponectin-Cre マウスとの掛け合わせを行い、脂肪細胞特異的 *Zip13* 欠損マウスを作成した。

4. 研究成果

① ZIP13 の標的分子の同定

申請者が開発したベージュ脂肪細胞分化系を用いると、*Zip13* 欠損細胞に ZIP13 を過剰発現させると、脂肪細胞褐色化は抑制できるが、亜鉛輸送能を失った ZIP13 の変異体では脂肪細胞褐色化抑制ができない。また、培地中に過剰量の亜鉛を添加した場合や、同じゴルジ体に局在し、ZIP13 と最も高い相同性を示す亜鉛トランスポーターを発現した場合には、細胞質内の亜鉛量は増加するにも関わらず、脂肪細胞褐色化は抑制できない。ZIP13 による亜鉛シグナルには特異性が存在し、脂肪細胞褐色化抑制を調節していると考えられる。そこで亜鉛シグナルの特異性が生じる機構を解明するために、ZIP13 の褐色化抑制に必要な領域を同定した。さらに、この領域と結合する分子が特異性を決定しているのではないかと仮定し、ZIP13 の褐色化抑制に必要な領域を用いて、yeast two hybrid(Y2H)を行い、結合する分子(結合分子)を3種類選定した。これらの分子をノックダウンや過剰発現することにより、ZIP13 と同じ挙動を示す分子 X を同定した。現在 ZIP13 がどのように ZIP13 結合分子 X を制御するか検討している。

② 脂肪細胞特異的 *Zip13* 欠損マウスの解析

Zip13 欠損による脂肪細胞褐色化亢進は脂肪細胞自律的に起きているのかを調べるために、脂肪細胞特異的な *Zip13* 欠損マウスを作製し、全身の *Zip13* 欠損マウスの表現系と比較した。全身の *Zip13* 欠損マウスは高脂肪食負荷時の体重減少が観察されたので、脂肪細胞特異的な *Zip13* 欠損マウスでも同様の表現系が観察できるか現在検討している。

無機イオンを介するセカンドメッセンジャーによる細胞内シグナルに関しては、これまではカルシウムイオンによる研究が大多数を占めてきたが、近年になって、カルシウムシグナルの役割とされていた現象が、実は亜鉛など他の無機イオンによるものであることが示されるようになった。現在では、「亜鉛シグナル」が生命活動に深く関わるシグナル伝達システムの一端を担うことが明示され、亜鉛シグナルの健康と病気への関与に注目が集まっている。一方で、「亜鉛シグナルがどのように標的分子の発現・活性を制御するのか」という生命現象の重大な命題が解明できていない(Fukunaka A, *Int J Mol Sci.* 2018)。我々は、自身が開発したベージュ脂肪細胞分化系を用いて、ZIP13 の直接の標的分子 X を同定することができたが、ZIP13 がどのように分子 X を制御し、脂肪細胞褐色化を抑制するかは今後の課題である。

Zip13-KO マウスでは結合組織(骨・歯・皮膚)の脆弱性を示し、結合組織形成においては ZIP13 が必須の役割を果たすことから、ZIP13 による肥満糖尿病治療法確立において、脂肪細胞特異的に ZIP13 の機能を阻害することが重要である。今後、脂肪細胞特異的な *Zip13*-KO マウスの解析をさらに進めることで、ZIP13 を利用した肥満糖尿病治療が可能であるか検討できると考えられる。さらに、ZIP13-分子 X の制御機構がベージュ脂肪細胞以外の細胞で保存された機構かを明らかにすることで、ZIP13 のどのような機能を制御すればエーラス・ダンロス症候群を発症せず肥満糖尿病のみを防げるのかが判明する。これらの解明により、ZIP13 を利用した新しいコンセプトの抗肥満糖尿病治療法の開発に繋がることを期待できる。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 件)

1. **Fukunaka A (corresponding author)**, Fujitani Y. Role of zinc homeostasis in the pathogenesis of diabetes and obesity. *Int. J Mol Sci.* 19(2). (2018) (査読有)
2. **Fukunaka A**, Fukada T, Bhin J, Suzuki L, Tsuzuki T, Takamine Y, Bin BH, Yoshihara T, Ichinoseki-Skine N, Naito H, Miyatsuka T, Takamiya, S, Sasaki T, Inagaki T, Kitamura T, Kajimura S, Watada H, Fujitani Y. Zinc transporter ZIP13 Suppresses Beige Adipocyte Biogenesis and energy expenditure by regulating C/EBP- β expression. *PLoS Genet.* 13(8): e1006950. (2017) (査読有)
3. Honda A, Komiya K, Hara A, **Fukunaka A**, Suzuki L, Miyatsuka T, Ogihara T, Fujitani Y, Watada H. Normal pancreatic b-cell function in mice with RIP-Cre-mediated inactivation of p62/SQSTM1. *Endocr J.* (2017) (査読有)

[学会発表] (計 18 件)

1. **Fukunaka A**, 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (FAOPS2019), Mar. 2019, How does ZIP13 control the fate determination of beige fat cells? (**invited talk**)
2. **Fukunaka A**, Fukada T, Kajimura S, Watada H, Fujitani Y. 41th Annual meeting of the Molecular Biology Society of Japan, Nov. 2018, How does ZIP13 control the fate determination of beige fat cells?
3. **Fukunaka A**, Fukada T, Kajimura S, Watada H, Fujitani Y. 4th IMCR symposium on Endocrine and Metabolism, Nov. 2018, How does ZIP13 control the fate determination of beige fat cells? (**invited talk**)
4. **福中彩子** 第 68 回日本体質医学会総会、2018 年 9 月 生活習慣病における亜鉛の役割解明～亜鉛トランスポーターの制御で体質は改善できるのか?～ (**研究奨励賞受賞講演**)
5. **福中彩子**、深田俊幸、梶村真吾、綿田裕孝、藤谷与士夫 第 17 回生体機能研究会、2018 年 7 月 亜鉛トランスポーター ZIP13 の制御に基づくベージュ脂肪細胞の運命決定機構の解明
6. **福中彩子** 第 29 回日本微量元素学会学術集会、2018 年 7 月 亜鉛トランスポーター ZIP13 の制御に基づく脂肪細胞褐色化制御機構の解明 (**招待講演**)
7. **福中彩子**、深田俊幸、梶村真吾、綿田裕孝、藤谷与士夫 第 61 回日本糖尿病学会年次学術集会 第 1 回若手研究助成金 研究報告会、2018 年 5 月 亜鉛トランスポーター ZIP13 の制御に基づくベージュ化決定機構の解明
8. **福中彩子**、深田俊幸、梶村真吾、綿田裕孝、藤谷与士夫 第 61 回日本糖尿病学会年次学術集会、2018 年 5 月 亜鉛トランスポーターの制御による肥満糖尿病治療法開発に向けた分子基盤の解明
9. **Fukunaka A**, 16th International Student Seminar, Feb.2018 My scientific research and career ~ from zinc biology to adipobiology~ (**invited talk**)
10. **福中彩子** 第 16 回 Diabetes research forum in Tokyo,2017 年 10 月 亜鉛トランスポーター ZIP13 は脂肪細胞褐色化を抑制する 脂肪細胞褐色化の新規分子機序解明を目指して (**招待講演**)
11. **福中彩子** 第 22 回アディポサイエンス・シンポジウム、2017 年 8 月 亜鉛トランスポーター ZIP13 による脂肪細胞褐色化制御機構の解明 (**招待講演**)
12. **福中彩子** 第 35 回内分泌代謝学サマーセミナー、2017 年 6 月 亜鉛トランスポーター ZIP13 による脂肪細胞褐色化制御機構の解明 (**招待講演**)
13. **福中彩子**、深田俊幸、梶村真吾、綿田裕孝、藤谷与士夫 第 12 回トランスポーター研究会、2017 年 7 月 亜鉛トランスポーター ZIP13 による脂肪細胞褐色化制御機構の解明
14. **Fukunaka A**. Zinc transporter ZIP13 controls beige adipocyte biogenesis and energy expenditure by the regulation of C/EBP-b. International Society for Zinc Biology meeting Jun. 2017, (**invited talk**)
15. **福中彩子** 第 2 回医歯薬系 3 部局交流シンポジウム・群馬大学生体調節研究所合

同シンポジウム～医薬学の展望～、2017年6月、亜鉛と生活習慣病：亜鉛トランスポーターZIP13は脂肪細胞褐色化を抑制する(招待講演)

16. **福中彩子** 第14回亜鉛栄養治療研究会 2017年2月、大阪、亜鉛と生活習慣病～脂肪代謝からのアプローチ～(招待講演)
17. **福中彩子**、藤谷与士夫、深田俊幸、梶村真吾、綿田裕孝、第5回FFDR 2016年7月 東京 脂肪細胞褐色化における亜鉛トランスポーターZIP13の役割解明(優秀賞受賞)
18. **福中彩子**、藤谷与士夫、深田俊幸、梶村真吾、綿田裕孝、第89回日本内分泌学会、2016年4月、京都、亜鉛トランスポーターZIP13による脂肪細胞褐色化制御機構の解明(若手研究奨励賞受賞)

[図書](計 7 件)

1. **福中彩子**、藤谷与士夫 オートファジー ～胆膵疾患との関わりについて～ オートファジーと糖尿病 胆と膵 39(2): 173-177 (2018)
2. **福中彩子** 2型糖尿病における亜鉛の役割 亜鉛栄養治療 7(2) 37-42 (2017)
3. 藤谷与士夫、**福中彩子** オートファジー 分子メカニズムの理解から病態の解明まで オートファジーと代謝性疾患 198-204(2017)
4. **福中彩子**、藤谷与士夫 金属トランスポーター研究の最前線 臨床検査 61(2):188-192 (2017)
5. **福中彩子**、藤谷与士夫、綿田裕孝 亜鉛シグナル・亜鉛トランスポーター概論 内分泌・糖尿病・代謝内科 43(2):108-114 (2016)
6. **福中彩子**、藤谷与士夫 膵β細胞機能維持におけるオートファジー機構の意義 肝胆膵 73(2):257-263 (2016)
7. **福中彩子**、藤谷与士夫 亜鉛機能と糖尿病 日本臨床 74(7):1132-1137 (2016)

[産業財産権]

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(2)研究協力者

研究協力者氏名：藤谷 与士夫

ローマ字氏名：Yoshio Fujitani

※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。