

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06128

研究課題名(和文)細胞外リン脂質代謝に基づく脂肪細胞のベージュ化機構の解明

研究課題名(英文)Mechanisms of adipocyte browning based on extracellular phospholipid metabolism

研究代表者

佐藤 弘泰 (Sato, Hiroyasu)

東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・助教

研究者番号：50546629

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では脂肪細胞のベージュ化の観点からsPLA2群による代謝調節の新しいメカニズムの解明を試みた。我々は、(1)sPLA2-IIIDはおそらく細胞外微粒子などのリン脂質選択的に 3脂肪酸を遊離することで脂肪組織の慢性炎症を抑制するとともに、脂肪細胞のベージュ化を促進して熱産生を増大させ肥満を防ぐこと、(2)sPLA2-IIIEはおそらく細胞外微粒子などのリン脂質から遊離脂肪酸を産生することで脂肪細胞のベージュ化を促進して熱産生を増大させること、(3)sPLA2受容体の欠損は脂肪細胞のベージュ化を促進して熱産生を増大させることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、3脂肪酸の肥満予防効果に新たな学術的理解を与えるとともに、脂肪組織の微小環境において3脂肪酸が内因的に動員されるメカニズムを解明した。sPLA2-IIID-3脂肪酸経路を賦活化する戦略は、肥満や糖尿病などの生活習慣病の新規予防・治療法の開発につながる可能性があり社会的にも重要な成果である。また新たに細胞外リン脂質代謝による脂肪細胞ベージュ化の新たな調節機構の一端を見出したことから学術的な意義が高い。

研究成果の概要(英文)：I aim to obtain new insights into novel regulatory mechanisms for metabolic diseases by sPLA2-driven extracellular phospholipid metabolism.

We found that (1) sPLA-IIID, which preferentially releases 3 PUFAs possibly from phospholipids in extracellular vesicles, promotes adipocyte browning and thermogenesis, thereby counteracting obesity-associated metabolic complications and WAT inflammation; (2) sPLA-IIIE, which produce free fatty acids possibly from phospholipids in extracellular vesicles, promotes adipocyte browning and thermogenesis; (3) sPLA2 receptor deficiency promotes adipocyte browning and thermogenesis.

研究分野：脂質生物学

キーワード：脂肪細胞ベージュ化 ホスホリパーゼA2 メタボリックシンドローム リン脂質代謝 脂肪酸 リピドミクス

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肥満の形成は、食事摂取や吸収の増加とエネルギー消費低下のバランスに依存する。肥満の病態を形成する脂肪細胞には、皮下脂肪や内臓脂肪などの白色脂肪細胞と褐色脂肪細胞の2種類が存在する。白色脂肪細胞は過剰なエネルギーを脂肪として蓄え、褐色脂肪細胞はミトコンドリアの脱共役蛋白質 UCP1 を介して蓄積されたエネルギーを熱へと変換する。近年これに加えて、白色脂肪組織中に褐色脂肪細胞と同様の応答性を示す褐色様脂肪細胞（ベージュ脂肪細胞）が誘導されることが明らかになった。従来、ヒト成人には褐色脂肪細胞は存在しないと言われていたが、ベージュ脂肪細胞の発見はヒト成人においても褐色様脂肪組織を増やすことができることを示唆しており、白色脂肪細胞のベージュ細胞への分化誘導は肥満症や糖尿病の新規かつ根本的な治療方法として注目されている。したがって、白色脂肪細胞のベージュ化を規定する因子の同定とその作用機序の解明は重要な課題である。これまでに様々なベージュ化調節因子が同定されており、その中には機能性脂質が含まれる。しかしながら、ベージュ化のプロセスにおいて機能性脂質が動員される分子機構は十分に理解されていない。

様々な生理的条件下における脂質の本質的役割を理解するためには、組織固有の時空間的な脂質のフローを捉える事が重要である。この課題にアプローチするために、研究代表者の所属グループはリン脂質を分解して脂肪酸とリゾリン脂質を生成するホスホリパーゼ A₂ (PLA₂) に着目した研究を推進してきた。中でも世界に先駆けて分泌性酵素 sPLA₂ 分子群の欠損マウスを総合的に展開し、異なる基質選択性を示す各 sPLA₂ が組織微小環境において細胞外リン脂質を代謝することで多様な疾患に関わることを明らかにしてきた (*J Clin Invest* 2010, *Nat Immunol* 2013, *J Exp Med* 2013 etc)。研究代表者は特にメタボリックシンドロームを中心にその一翼を担ってきたが、最近、肥満の白色脂肪細胞において sPLA₂-V (Metabolic sPLA₂) が誘導され、リポタンパク質のリン脂質から不飽和脂肪酸(オレイン酸)を遊離して脂肪組織の脂質バランスを調節することで、脂質メディエーターを介さずに肥満の慢性炎症を調節することを報告した (*Cell Metab* 2014)。研究代表者はさらにこの研究路線を展開し、肥満の増悪または改善の表現型を示す sPLA₂ 欠損マウス系統を複数同定した。しかしながら、なぜ各 sPLA₂ の欠損により本表現型が生じるのか、如何なる機能性脂質が動員されているのかは不明であった。

2. 研究の目的

研究代表者は sPLA₂ 群欠損マウスの一部系統において、寒冷下で脂肪細胞ベージュ化に変容が生じることを見出した。脂肪細胞ベージュ化はエネルギー消費を亢進することから、肥満の表現型を説明し得る。そこで本研究では、脂肪細胞ベージュ化に変容を生じる欠損マウス系統に焦点を絞り、sPLA₂ 群による代謝調節の新しいメカニズムの解明を試みる。すなわち、脂肪細胞ベージュ化との関連が示唆される sPLA₂-IID, sPLA₂-IIE とその受容体様分子 PLA2R1 に着目し、脂肪細胞のベージュ化において各 sPLA₂ を起点として動員される機能性脂質とそれによる代謝の新規調節機構を解明することを目的とする。もって、脂肪細胞ベージュ化の新規調節因子としての sPLA₂ の位置付けを確立し、細胞外リン脂質代謝による代謝調節の新機軸の創成を目指す。

3. 研究の方法

本研究では、2種の sPLA₂ とそのクリアランス受容体 PLA2R1 について、それぞれの欠損マウスを用いて脂肪細胞ベージュ化の調節機構を解析した。全身性および組織特異的欠損マウスに寒冷暴露およびβ3 アドレナリン受容体作動薬投与を施し、脂肪組織の組織学的評価、体温測定、脂肪組織の熱産生関連遺伝子の定量的 PCR による発現解析等を行い、各 sPLA₂ 欠損の白色脂肪ベージュ化、熱産生、全身のエネルギー代謝に及ぼす影響を総合評価した。各 sPLA₂ 欠損マウスから調整した前駆脂肪細胞からの脂肪細胞の分化およびβ3 アドレナリン受容体作動薬による脂肪細胞のベージュ化を野生型と比較精査した。寒冷刺激を施した際の白色脂肪組織のリピドミクスを実施し、脂肪酸、リゾリン脂質、またはその代謝物を網羅的に探索した。当該候補脂質を培養脂肪細胞に添加し、熱産生関連遺伝子の発現を指標に白色脂肪細胞のベージュ化に関わる候補脂質を絞り込む。さらに当該候補脂質を野生型マウスおよび欠損マウスに投与し、個体レベルでの白色脂肪細胞のベージュ化の機能を検証する。

4. 研究成果

(1) sPLA₂-IID による代謝調節機構

(1-1) *Pla2g2d*欠損マウスでは白色脂肪組織のベージュ化が抑制される

全身性およびマクロファージ特異的*Pla2g2d*欠損マウスでは食事条件によらずエネルギー消費の減少が見られた。エネルギー消費の増加の要因の一つとして白色脂肪細胞のベージュ化がある。そこで、脂肪細胞のベージュ化が促進されるβ3アドレナリン受容体アゴニスト (CL316,243)

投与すると、*Pla2g2d*欠損マウスの皮下脂肪では対照マウスと比較して*Ucp1*や*Cidea*などの熱産生関連遺伝子の発現誘導が有意に減少した。また、*Pla2g2d*欠損マウスを低温（4°C）下に置くと、 $\beta 3$ アゴニスト投与と同様に*Ucp1*、*Cidea*の発現誘導が有意に減少した。さらに、マクロファージ特異的*Pla2g2d*欠損マウスについても全身性の*Pla2g2d*欠損マウスと同様に、 $\beta 3$ アドレナリン受容体アゴニスト投与および低温下において、脂肪組織における*Ucp1*の発現誘導が抑えられた。*Ucp1*の発現誘導の減少と合致して、*Pla2g2d*欠損マウスの低温下での直腸体温は対照マウスと比較して有意に低下した。また、低温にさらした対照マウスでは組織学的に皮下脂肪組織内にUCP1陽性の多房性脂肪細胞、すなわちベージュ脂肪細胞が多数出現したが、欠損マウスではこれがほとんど認められなかった。以上のことから、sPLA₂-IIDの欠損により白色脂肪細胞のベージュ化が抑えられてエネルギー消費が減少すると推察される。

(1-2) *Pla2g2d*欠損マウスの脂肪組織では高度不飽和脂肪酸が減少する

sPLA₂-IIDが動員する脂質代謝物を同定するために、脂肪組織のリピドミクスを行った。*Pla2g2d*欠損マウスでは対照マウスと比較して、脂肪組織中の高度不飽和脂肪酸（PUFA）が減少していた。この脂肪酸選択性は、これまでに明らかとなっているsPLA₂-IIDの基質特異性と一致していた。一方、PUFAの代謝産物については、*Pla2g2d*欠損マウスと対照マウスの間で有意な差は認められなかった。このことから、PUFAの減少そのものがsPLA₂-IID欠損の表現型の要因となっているものと考えられた。

(1-3) $\omega 3$ 脂肪酸はGPR120依存的に初代培養脂肪細胞の*Ucp1*の発現を亢進する

そこで次に脂肪細胞におけるPUFAの効果を調べた。初代培養脂肪細胞に $\omega 3$ 脂肪酸を添加すると*Ucp1*の発現が有意に増加した。この応答は脂肪酸受容体であるGPR120のアンタゴニストの添加により抑えられたことから、 $\omega 3$ 脂肪酸はGPR120依存的に初代培養脂肪細胞の*Ucp1*の発現を亢進することが確かめられた。

(1-4) $\omega 3$ 脂肪酸の補充により*Pla2g2d*欠損マウス脂肪組織の*Ucp1*発現が回復する

*Pla2g2d*欠損マウスに $\omega 3$ 脂肪酸を補充すると、表現型がレスキューされるか確かめた。Control dietを与えた群では、*Pla2g2d*欠損マウスの体重は対照マウスより有意に増加したが、 $\omega 3$ rich dietを与えた群は体重が増加しにくく、*Pla2g2d*欠損マウスと対照マウスの間で差が見られなくなった。さらに、Control diet群の皮下脂肪組織では $\beta 3$ アゴニストの投与により*Ucp1*発現が*Pla2g2d*欠損マウスで有意に減少した。しかしながら、 $\omega 3$ rich dietを与えると*Ucp1*が誘導され、*Pla2g2d*欠損マウスと対照マウスの間で差がなくなった。このことから、sPLA₂-IID欠損の表現型は $\omega 3$ 脂肪酸の補充によりレスキューされることが確かめられた。

(2) sPLA₂-IIIによる代謝調節機構

(2-1) *Pla2g2e*欠損マウスでは白色脂肪組織のベージュ化が抑制される

UCP1の免疫組織染色の結果、寒冷刺激した*Pla2g2e*欠損マウスでは対照マウスと比べて皮下脂肪組織にUCP1陽性のベージュ脂肪細胞がほとんど見られなかった。それと合致して、寒冷刺激した*Pla2g2e*欠損マウスの皮下脂肪組織の*Ucp1*発現が対照マウスより有意に減少していた。このことからsPLA₂-IIIも脂肪細胞のベージュ化に関わることがわかった。

(2-2) 寒冷刺激した*Pla2g2e*欠損マウスの皮下脂肪組織では遊離脂肪酸が減少する

sPLA₂-IIIの下流で動く脂質代謝物を同定するために、寒冷刺激1日の脂肪組織のリピドミクスを行った。その結果、寒冷刺激した*Pla2g2e*欠損マウスでは対照マウスと比較して、脂肪組織中脂肪組織中の遊離脂肪酸が減少していた。しかしながらリゾリン脂質については両者の間で差は認められなかった。このことから、遊離脂肪酸の減少が*Pla2g2e*欠損マウスの表現型の要因となっているものと考えられた。

(3) sPLA₂のクリアランス受容体としてのPLA2R1の代謝調節機構

(3-1) *Pla2r1*欠損マウスの皮下脂肪組織では白色脂肪組織のベージュ化が抑制される

*Pla2r1*の全身組織での発現を定量的PCRにより調べると、白色脂肪組織に高く発現していることがわかった。さらに白色脂肪組織において*Pla2r1*はstromal vascular fraction (SVF)画分に多く分布しており、その中でも非免疫細胞（前駆脂肪細胞）画分に分布している。*Pla2r1*はThermoneutralの皮下脂肪組織に高発現しており、寒冷刺激により*Pla2r1*の発現は減少した。 $\beta 3$ アドレナリン受容体アゴニストを*Pla2r1*欠損マウスに3日間連続投与し、脂肪細胞のベージュ化について評価した。*Pla2r1*欠損マウスの皮下脂肪組織では対照マウスと比較して*Ucp1*や*Cidea*などの熱産生関連遺伝子の発現が増加していた。また、*Pla2r1*欠損マウスを低温（4°C）下に置くと*Pla2r1*欠損マウスはThermoneutralの状態では直腸体温が対照マウスと比べ有意に高く、また低温に晒しても*Pla2r1*欠損マウスでは対照マウスと比べ体温の低下が抑えられた。以上のこと

から、PLA2R1 の欠損により白色脂肪細胞のベージュ化が促進されエネルギー消費が増加すると推察される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Murakami M, Miki Y, Sato H, Murase R, Taketomi Y, Yamamoto K.	4. 巻 1864
2. 論文標題 Group IID, IIE, IIF and III secreted phospholipase A2s.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.	6. 最初と最後の頁 803-818
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbalip.2018.08.014.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 佐藤弘泰、武富芳隆、三木寿美、村上誠
2. 発表標題 脂肪細胞のベージュ化に関わるThermogenic sPLA2の同定
3. 学会等名 第92回日本生化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroyasu Sato, Yoshitaka Taketomi, Yoshimi Miki, Kei Yamamoto, Makoto Murakami
2. 発表標題 Group IID Phospholipase A2 Promotes Browning of White Adipose Tissue and Limits Diet-induced Obesity
3. 学会等名 60th International Conference on the Bioscience of Lipids (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤 弘泰、武富 芳隆、三木 寿美、村上 誠
2. 発表標題 白色脂肪細胞のベージュ化に関わるThermogenic sPLA2の同定
3. 学会等名 第60回日本脂質生化学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 武富 芳隆、佐藤 弘泰、宮崎 拓郎、三木 寿美、山崎 文義、瀬藤 光利、村上 誠
2. 発表標題 III型分泌性ホスホリパーゼA2は動脈硬化の新規増悪因子である
3. 学会等名 第60回日本脂質生化学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 佐藤弘泰、村上誠	4. 発行年 2019年
2. 出版社 メディカルレビュー社	5. 総ページ数 11
3. 書名 The Lipid	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>東京大学大学院 医学系研究科 疾患生命工学センター 健康環境医工学部門ホームページ https://1mmhs.m.u-tokyo.ac.jp/home_j.html https://1mmhs.m.u-tokyo.ac.jp/home_j.html</p>
--

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------