

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 30 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15000

研究課題名(和文) 視床下部タニサイトの脂肪酸センシングにおけるFABP5の機能解明

研究課題名(英文) The potential role of FABP5 in hypothalamic tanycytes

研究代表者

安本 有希 (Yasumoto, Yuki)

東北大学・医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：40779352

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：視床下部弓状核は栄養(アミノ酸、グルコース、脂質)を感知する脳の重要な部分である。申請者は脂肪酸結合タンパク質のサブタイプ(FABP3、5、7)ごとに、その局在を明らかにした。グリアに発現するFABP7の発現量と相関して、脂肪滴の大きさや数が変化すること、外部ストレスに対する細胞死に対し、FABP7が保護的に働くことを明らかにした。FABP5が、タニサイトという放射状グリア様の一種に発現していること、アラキドン酸に高い結合能を有するFABP3が視床下部の血管や神経細胞に発現しており、FABP3KOマウスの分離微小血管やニューロンでは、アラキドン酸の取り込みが低下してい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

脂肪酸結合タンパク質の視床下部弓状核における発現は、サブタイプごとに異なっており、FABP7はグリアの脂肪滴の大きさや数の制御に関与し細胞保護に働くこと、FABP5は、FABP3は血管とニューロンにおけるアラキドン酸の取り込みに関与することをそれぞれ明らかにした。また、ミトコンドリア呼吸鎖複合体を構成するNdufs4は、細胞内ROSの産生やGnRHをはじめとする視床下部ホルモン分泌に関与していることが分かった。以上の結果は、視床下部を構成する各種細胞では、血液中の脂肪酸への細胞応答やミトコンドリア機能変化が、内分泌系や自律神経系の活動と密接に関連していることを示唆している。

研究成果の概要(英文)：Hypothalamic arcuate nucleus is an important brain part to sense the nutrient, such as amino acids, glucose and lipids. I revealed the localization of the FABP family (FABP 3, 5 and 7) in the hypothalamus by immunohistochemistry. The expression level of FABP7 in glia correlated with the number and size of lipid droplets. Also, FABP7 worked protectively to external-stress induced apoptosis. FABP5 expressed in tanycytes in the hypothalamus. FABP3 which has a high affinity to arachidonic acid expressed in the blood vessels and neurons in the hypothalamus. FABP3 KO mice showed the decrease of intake of arachidonic acid into the isolated blood vessels and neurons.

研究分野：脳神経科学、代謝、神経免疫

キーワード：脂肪酸結合タンパク質 視床下部 タニサイト 脂肪滴 ミトコンドリア 脂肪酸

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

申請者はこれまで視床下部弓状核グリアに発現する FABP7 が、視床下部ニューロンのレプチン感受性に関与することを発見した (Yasumoto et al., Mol Neurobiol, 2018)。この研究過程において、FABP のサブタイプのひとつである FABP5 が、タニサイトという放射状グリア様的一种に発現していることを発見した。別のサブタイプである FABP7 は、アストロサイトとオリゴデンドロサイト前駆細胞という別のグリアに発現しており、FABP3 は視床下部の血管やニューロンに発現していた。この局在の違いがひいては栄養、脂肪酸感知機能の細胞種による差異をもたらしているのではないかという仮説を持つに至った。

2. 研究の目的

これまでの研究により FABP5、3 は長鎖脂肪酸をリガンドとし、細胞質から核内受容体などに運搬することで転写因子の活性化に関わることがわかっている。しかし特に栄養・ホルモン感知に重要なタニサイトやニューロンにおける、FABP5、3 の生体内での機能は不明である。そこで本研究では、FABP5+タニサイト、FABP3+ニューロンの 1. 摂食行動への関与、2. 洞様毛細血管形成への関与、3. タイトジャンクション形成への関与、4. 脳への脂肪酸取り込み、5. 細胞内脂質代謝制御メカニズム、を明らかにすることが目的であった。

3. 研究の方法

野生型 (WT)、FABP5、FABP3 ノックアウト (KO) マウスを用い、以下の点を比較する。

(1) 摂食行動への関与を調べるため、通常食、高脂肪食 (60% 脂質) 摂取、24 時間絶食後における摂食量、体重増加を測定する。

(2) 洞様毛細血管形成への関与を調べるため、正中隆起に存在する洞様毛細血管のマーカーである MECA-32 と毛細血管マーカーである PDGFR β の二重染色を行い、血管数とその分布を調べる。腹腔内にエバンスブルー (EB) を投与し、正中隆起洞様毛細血管の透過性を調べる。視床下部弓状核と正中隆起からタニサイトのみを採取し、MECA-32 の発現を qPCR により定量する。

(3) FABP5+タニサイトの第 3 脳室周囲タイトジャンクション形成への関与を、タイトジャンクションマーカー (ZO-1) による免疫染色を行う。側脳室に EB を投与し、第三脳室から視床下部弓状核への透過性を調べる。

(4) FABP5+タニサイトの核内受容体シグナル制御機構調べるため、分離したタニサイトにおける PPAR β/δ の下流分子の発現を解析する。FABP5 リガンド候補 (レチノイン酸、長鎖脂肪酸) を脳室内・脳内投与、食餌により投与し、核内受容体シグナルの解析を行い、タニサイトに発現する FABP5 がどのような脂肪酸感知に重要であるのか、調べる。

(5) FABP5+タニサイトの細胞内脂質代謝制御メカニズムを明らかにするためにミトコンドリア、脂肪滴、小胞体などに着目し、細胞内小器官連関の解析を形態学的解析により調べる。

4. 研究成果

(1) 通常食、高脂肪食 (60% 脂質) 摂取、24 時間絶食後における摂食量、体重増加に対する影響は FABP5、FABP3KO マウスにおいて認められなかった。

(2) 洞様毛細血管形成へのタニサイトの関与を調べるため、正中隆起に存在する洞様毛細血管のマーカーである MECA-32 と通常の毛細血管マーカーである PDGFR β の二重染色を行い、血管数とその分布を WT と FABP5KO マウスで比較したところ、FABP5KO マウスでは弓状核に

おける洞様毛細血管の伸長が低下している可能性が示唆された。

(3) FABP5⁺タニサイトの第3脳室周囲タイトジャンクション形成への関与を調べるため、タイトジャンクションマーカー (Zo-1) による免疫染色を行い、タイトジャンクションの形成を形態学的に調べたが、WT と FABP5KO マウスで差は認められなかった。

(4) FABP ファミリーの中でもアラキドン酸に高い結合能を有する FABP3 が視床下部の血管やニューロンに発現しており、FABP3KO マウスの分離微小血管やニューロンでは、アラキドン酸の取り込みが低下していることが明らかになった。

(5) タニサイト同様に Glial fibrillary acidic protein (GFAP) を発現するアストロサイトにおいて、FABP5 および 7 の脂質滴 (LD) 形成について検討を加えた。興味深いことに FABP7 の発現量と相関して、LD の大きさや数が変化することを明らかにし、さらに外部ストレスに対する細胞死に対して、FABP7 が保護的に働くことを明らかにした (Islam et al, Mol Neurobiol, 2018)。

(6) ミトコンドリア呼吸鎖複合体を構成する Ndufs4 が視床下部弓状核に高い発現を示し、Ndufs4KO マウスの視床下部弓状核では、ニューロンやグリア細胞の形態には大きな変化が見られないものの、細胞内 ROS の産生や GnRH をはじめとする視床下部ホルモン分泌に変化が生じていることが分かった。

以上の結果は、視床下部を構成する各種細胞では、血液中の脂肪酸への細胞応答やミトコンドリア機能変化が、内分泌系や自律神経系の活動と密接に関連していることを示唆している。

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 Islam A, Kagawa Y, Miyazaki H, Shil SK, Umaru BA, Yasumoto Y, Yamamoto Y, Owada Y.	4. 巻 in press
2. 論文標題 FABP7 protects astrocytes against ROS toxicity via lipid droplet formation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mol Neurobiol	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12035-019-1489-2	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0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------------------------	-----------------------	----