

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09005

研究課題名(和文) ベージュ脂肪細胞の機能維持に必要な因子の探索と機能解析

研究課題名(英文) Identification of transcriptional factors to maintain the function of beige adipocytes.

研究代表者

大野 晴也 (Ohno, Haruya)

広島大学・医系科学研究科(医)・助教

研究者番号：60725894

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：熱産生脂肪細胞のひとつであるベージュ脂肪細胞は長期の寒冷刺激や薬剤投与によって白色脂肪細胞中に誘導されるが、分化刺激が失われると急速にその機能を失ってしまう。我々はベージュ脂肪細胞の機能維持において、核内受容体スーパーファミリーに属するPPAR (peroxisome proliferator-activated receptor) が熱産生関連遺伝子の発現を制御していることを明らかとし、さらに食事誘導性の肥満モデルマウスにおいて、PPAR アゴニストの投与が白色脂肪組織中のベージュ脂肪細胞の機能維持を可能とし、体重増加を抑制する作用を持つ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

長期の寒冷刺激やカテコラミン刺激により、ヒト成人においてもベージュ脂肪細胞は誘導されることが知られている。しかし長期間にわたるそれらの過剰な刺激は血圧上昇や心機能低下などを引き起こしてしまう。一度誘導されたベージュ脂肪細胞を維持することを目標とすることで、既知のベージュ脂肪細胞分化誘導経路とは別の機序で、かつ多臓器への影響は最小限に抑えることができるものと期待される。PPAR アゴニストは脂質異常症治療薬として広く臨床使用されている薬剤であり、本研究の知見でベージュ脂肪細胞における役割が明らかとなり、今後の肥満症や糖尿病治療への応用も期待される。

研究成果の概要(英文)：Beige adipocytes, one of the thermogenic adipocytes, are induced in white adipose tissue by long term cold stimulation or drug administration. However, once the stimulation is lost, the thermogenic function of beige adipocytes disappear rapidly. We newly identified PPAR, a transcriptional factor, plays a pivotal role for maintaining the thermogenic function of beige adipocytes and revealed that in a diet induced obesity mice model, continuous administration of PPAR agonists enables the maintenance of thermogenic function of beige adipocytes and suppresses body weight gain after high fat diet load.

研究分野：糖尿病

キーワード：褐色脂肪細胞 ベージュ脂肪細胞

1. 研究開始当初の背景

脂肪細胞はエネルギーを脂質として蓄える白色脂肪細胞と、ミトコンドリアに存在するタンパクである UCP1 などを通して熱を散逸させる褐色脂肪細胞とに分けられる。さらに褐色脂肪細胞のうち、長期の寒冷刺激などの環境要因により白色脂肪組織中に誘導されるものを特に「ベージュ脂肪細胞」と呼び、いわゆる古典的な褐色脂肪細胞との解剖学的な位置や発生学上の違いなどが区別されて理解されるようになってきている。ヒト成人に認められる褐色脂肪組織は古典的褐色脂肪細胞よりはベージュ脂肪細胞の特徴を持つこと、ベージュ脂肪細胞を誘導することで体重減少作用・糖代謝改善作用が認められることなどの報告より、ベージュ脂肪細胞の分化制御機構の解明や機能解析を通じてその量や活性を増やすことができれば、ヒト成人における肥満症や糖尿病などの代謝疾患治療へと応用が可能になることが期待される。

寒冷刺激やカテコラミン刺激などにより誘導されたベージュ脂肪細胞は褐色脂肪細胞と同等の熱産生能を持つが、分化誘導刺激がなくなるとすぐにその機能や特性を失い、白色脂肪細胞へと戻ってしまう可塑性の高い細胞である。

2. 研究の目的

本研究では、この白色脂肪細胞への脱分化を抑制して、ベージュ脂肪細胞の数と機能の維持を可能にする新規因子を探索しその機序を解明すること、およびベージュ脂肪細胞の機能維持が全身の代謝に与える影響を検討することを目的とする。

長期の寒冷刺激やカテコラミン刺激により、ヒト成人においてもベージュ脂肪細胞は誘導されることが知られている。しかし長期間にわたるそれらの過剰な刺激は血圧上昇や心機能低下などを引き起こしてしまう。一度誘導されたベージュ脂肪細胞を維持することを目標とすることで、既知のベージュ脂肪細胞分化誘導経路とは別の機序で、かつ多臓器への影響は最小限に抑えることができるものと期待される。

3. 研究の方法

In vitro では、マウス鼠径部白色脂肪組織より単離し不死化した脂肪前駆細胞へ Rosiglitazone (1 μM) を 6 日間投与し十分にベージュ脂肪細胞を誘導し、その後分化刺激である Rosiglitazone を中止した群と継続した群での遺伝子群の発現を RNA シークエンスで検討した。*In vivo* では、7 週齢 BL6/J マウスへ C316,243 を 1mg/kg・BW、10 日間腹腔内投与しマウス鼠径部白色脂肪組織中にベージュ脂肪を誘導した後、投与を中止し 14 日、30 日後のマウス鼠径部白色脂肪組織中の遺伝子群の発現を RNA シークエンスで検討した。それぞれ有意に低下した遺伝子につき pathway 解析を行った。

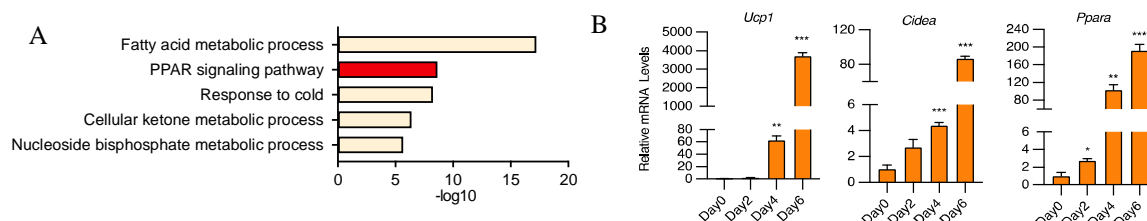
次に、培養ベージュ脂肪細胞の分化刺激を PPAR アゴニストに切り替えて、熱産生関連遺伝子発現を qPCR 法で、酸素消費量をクラーク式の酸素濃度測定器を用いて測定した。

さらにマウスを 30 週で 1 週間飼育した後、C316,243 (1mg・kg⁻¹・BW) を 1 週間マウスへ投与し鼠径部白色脂肪組織中にベージュ脂肪を誘導した。その後 4 週間、刺激を vehicle とした Off 群、PPAR アゴニスト (1mg・kg⁻¹・BW) を腹腔内投与した群 (PPAR アゴニスト) に分け、さらに高脂肪食負荷 (60% HFD) を行った。対照として、試験期間中 vehicle のみ腹腔内投与した群をコントロール群とした。鼠径部白色脂肪組織における熱産生遺伝子の発現を qPCR で測定し、体重増加を毎週記録した。

4. 研究成果

(1) ベージュ脂肪細胞の機能維持機構における PPAR の同定

マウスに 3 アドレナリン受容体作動薬である C316,243 を 1 週間皮下注射することで、鼠径部白色脂肪組織にベージュ脂肪細胞を誘導できるが、アドレナリン受容体刺激の除去後のベージュ脂肪細胞の遺伝子発現を解析すると *Ucp1* に代表される熱産生遺伝子群の低下を認め、また RNA シークエンスで解析した pathway 解析では PPAR signaling pathway が上位となっていた (図 1A)。また転写因子に絞って解析すると最も発現が低下した因子は PPAR であった。*In vitro* の Rosiglitazone によるベージュ脂肪細胞の機能維持解析の結果と合わせ、転写因子 PPAR の役割に注目した。培養ベージュ脂肪細胞の分化過程において、*Ppara* は *Ucp1* や *Cidea* などの熱産生関連遺伝子と同様の増加パターンを示していた (図 1B)。

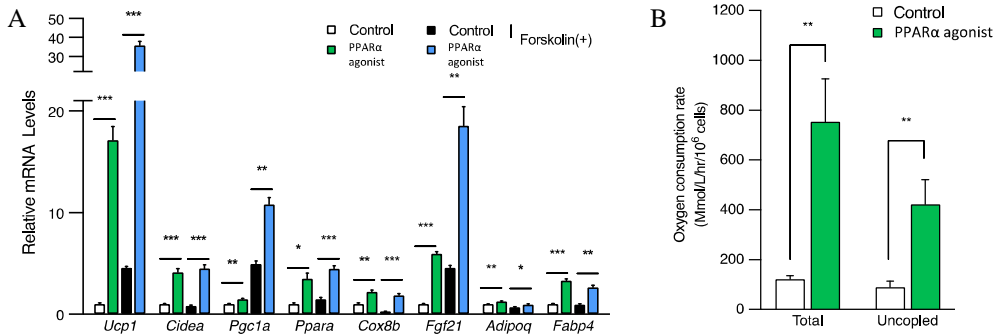


(図 1)A アドレナリン受容体刺激の除去後のベージュ脂肪細胞の遺伝子発現を RNA シークエンスで検討し、有意に低下した遺伝子群で pathway 解析を行った。

B 培養ベージュ脂肪細胞の分化過程での *Ucp1*、*Cidea*、*Ppara* 遺伝子発現の検討。

(2)PPAR アゴニストはベージュ脂肪細胞の機能維持を可能とする。

ベージュ脂肪細胞に分化させた後に PPAR アゴニストを添加することで熱産生遺伝子は維持されていた(図 2A)。さらに酸素消費量を評価すると、PPAR アゴニスト投与により、培養ベージュ脂肪細胞の総酸素消費量、脱共役酸素消費量は増加していた(図 2B)。

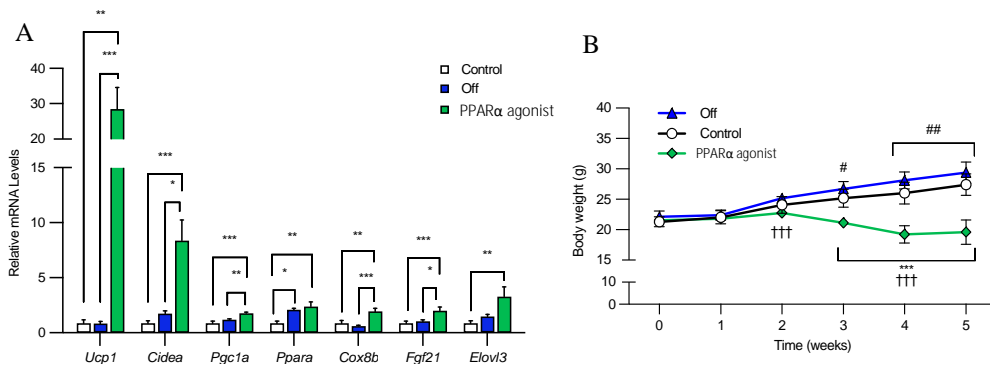


(図 2)A 培養ベージュ脂肪細胞の分化刺激を除去後に、PPAR アゴニストを投与し、さらに Forskolin の投与を行い、熱産生関連遺伝子の発現性変化を検討した。

B 培養ベージュ脂肪細胞の分化刺激除去後に PPAR アゴニスト投与を行い、酸素消費量を測定した。

(3) PPAR アゴニストは誘導したベージュ脂肪の熱産生遺伝子発現を維持し、肥満誘導マウスにおける糖代謝異常ならびに体重増加を抑制する

マウスに CL316,243 を 1 週間投与した後に、熱中性下で高脂肪食負荷を行い、鼠径部白色脂肪組織を採取し、熱産生遺伝子群の遺伝子について評価すると、PPAR アゴニスト群では、Control 群、Off 群と比較し熱産生関連遺伝子が有意に増加していた(図 3A)。体重変化については、コントロール群、Off 群では高脂肪食負荷開始後から有意に増加したが、PPAR アゴニスト群では体重増加は有意に抑制された(図 3B)。以上より、PPAR アゴニスト投与により食事誘導性肥満モデルマウスの白色脂肪組織中のベージュ脂肪細胞の機能は維持され、体重増加を抑制する作用を持つことが明らかとなった。



(図 3)A 高脂肪食負荷マウスの鼠径部白色脂肪組織における PPAR アゴニスト投与後の熱産生寒冷遺伝子発現の検討。

B 高脂肪食負荷マウスの体重増加における PPAR アゴニスト投与の影響。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0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 大野晴也	4. 巻 36
2. 論文標題 脂肪組織の種類と意義 - その多様性と可塑性 -	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 臨床画像	6. 最初と最後の頁 236-243
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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13件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 江草 玄太郎, 大野 晴也, 長野 学, 佐川 純司, 一町 澄宜, 小武家 和博, 沖 健司, 米田 真康
2. 発表標題 Selective activation of PPAR maintains thermogenic capacity of beige fat
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大野 晴也
2. 発表標題 脂肪細胞の質的变化制御による肥満症および2型糖尿病治療応用への可能性
3. 学会等名 第56回糖尿病学の進歩（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 江草 玄太郎, 長野 学, 大野 晴也, 佐川 純司, 一町 清澄, 小武家 一博, 沖 健司, 米田 真康
2. 発表標題 選択的 PPAR モジュレーターによるベージュ脂肪細胞の identity 維持機構の解明
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大野晴也
2. 発表標題 MAT1I によるベージュ脂肪細胞の分化および熱産生能制御機構の解明
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大野晴也
2. 発表標題 褐色脂肪細胞の機能制御による糖尿病治療
3. 学会等名 第55回糖尿病学の進歩（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 江草 玄太郎, 大野 晴也, 長野 学, 佐川 純司, 一町 澄宜, 小武家 一博, 沖 健司, 米田 真康
2. 発表標題 PPAR アゴニストによるベージュ脂肪細胞転写調節維持機構の解明
3. 学会等名 第41回日本肥満学会・第39回日本肥満症治療学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大野 晴也, 佐川 純司, 江草 玄太郎, 長野 学, 小武家 和博, 一町 澄宜, 沖 健司, 米田 真康
2. 発表標題 褐色脂肪細胞機能制御による肥満症の薬物療法
3. 学会等名 第41回日本肥満学会・第39回日本肥満症治療学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大野 晴也, 佐川 純司, 江草 玄太郎, 長野 学, 小武家 和博, 一町 澄宜, 沖 健司, 米田 真康
2. 発表標題 熱産生脂肪細胞の機能制御と生活習慣病治療への応用
3. 学会等名 日本薬学会 第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 江草 玄太郎, 大野 晴也, 長野 学, 沖 健司, 米田 真康
2. 発表標題 ベージュ脂肪細胞の機能維持にPPAR アゴニストが与える影響
3. 学会等名 第40回日本肥満学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大野晴也
2. 発表標題 褐色脂肪細胞のBiologyと代謝制御
3. 学会等名 第69回日本体質医学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長野 学, 大野 晴也, 佐川 純司, 江草 玄太郎, 森田 好美, 小武家 和博, 一町 澄宜, 沖 健司, 米田 真康
2. 発表標題 褐色脂肪の分化と機能を制御するエピジェネティック機構
3. 学会等名 第69回日本体質医学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 江草 玄太郎, 大野 晴也, 長野 学, 沖 健司, 米田 真康
2. 発表標題 PPAR アゴニストがベージュ脂肪細胞の分化・機能維持に与える影響
3. 学会等名 第24回アディポサイエンス・シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 江草 玄太郎, 大野 晴也, 長野 学, 沖 健司, 米田 真康
2. 発表標題 ベージュ脂肪細胞の機能維持に必要な因子の検討
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

〔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

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