

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09025

研究課題名(和文)多房性脂肪細胞におけるオートファジーがエネルギー代謝を制御するメカニズムの解明

研究課題名(英文)Elucidation of the mechanism by which autophagy regulates energy metabolism in multilocular 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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では褐色脂肪細胞でのオートファジーと脂肪分解およびエネルギー代謝について研究を行った。多房性を示す培養3T3-L1脂肪細胞では血清除去でオートファジーが亢進し細胞内中性脂肪含量も減少したが、オートファジー抑制剤であるクロロキン処理で中性脂肪量の低下が抑制された。FSP27欠損マウスの褐色脂肪細胞では、多房性の脂肪滴が単房化し、オートファジーと細胞内脂肪含量の低下が抑制されたが、マウスの呼吸代謝では呼吸商が増加し、脂質利用の低下が推測された。褐色脂肪細胞では多房性脂肪滴形態がオートファジー亢進に関与し脂肪分解を制御することで全身のエネルギー代謝に影響する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脂肪細胞ではリパーゼ以外による脂肪分解経路については検討がほとんどなされていなかった。さらに細胞内脂肪滴形態とエネルギー代謝の関連を検討した研究もほぼ皆無であった。褐色脂肪細胞は細胞内で脂肪酸を酸化してエネルギーを産生する細胞である事を考えると、多房性脂肪滴という特徴的形態がオートファジーを活性化し、リポファジーによる脂肪分解がリパーゼによる脂肪分解に追加され、脂質を基質としたエネルギー産生を亢進させることが示唆された事は興味深い。また褐色脂肪細胞にオートファジーを誘導できれば、全身のエネルギー代謝にも影響を及ぼす可能性があり肥満治療を見据えても意義深い。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated autophagy, lipolysis, and energy metabolism in brown adipocytes. In cultured 3T3-L1 adipocytes with multilocular lipid droplets, autophagy was enhanced by serum removal and the intracellular triglyceride content was reduced, but the reduction in triglyceride content was suppressed by treatment with chloroquine, an autophagy inhibitor. In brown adipocytes of FSP27-deficient mice, multilocular lipid droplets were changed to monolocular lipid droplet formation. In addition, fasting-induced autophagy and the following decrease of intracellular lipid mass were suppressed in brown adipocytes of these mice. However, respiratory quotient was increased in the respiratory metabolism of FSP27-deficient mice, indicating the decreased lipid utilization. It was suggested that in brown adipocytes, multilocular lipid droplet formation is involved in the enhancement of autophagy, and may affect systemic energy metabolism by regulating lipolysis induced by autophagy.

研究分野：糖尿病代謝

キーワード：褐色脂肪細胞

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

脂肪細胞における脂肪分解とオートファジーには共に絶食で活性化され、エネルギー涸渇時にエネルギー源を供給するという共通点をもつ。単房性脂肪に代表される白色脂肪細胞の場合、細胞質リパーゼである ATGL と HSL が脂肪滴表面で中性脂肪を分解する。分解で生じた脂肪酸やグリセロールは循環血中へ放出され、筋肉や肝臓で利用される。一方、多房性脂肪細胞においては、細胞質リパーゼに加え、オートファジーによる脂肪分解(リポファジー)が併存し、オートリソソーム中で酸性リパーゼによる分解で生じた脂肪酸は自身の細胞内(ミトコンドリア)で利用されると推測される。今まで、肝臓ではリポファジーが機能し、その障害は脂肪肝の原因となることが報告されているが、脂肪細胞ではオートファジーの研究はほとんど進んでおらず、またその研究も脂肪細胞の分化に関与するものが主である。多房性脂肪蓄積を示すエネルギー消費型脂肪細胞でオートファジーが活性化しているとすれば、オートファジーが仲介する脂肪分解が、エネルギー消費型脂肪細胞(褐色脂肪細胞)のエネルギー代謝にも関連している可能性が高い。

### 2. 研究の目的

褐色脂肪細胞におけるオートファジーがエネルギー代謝の制御に関わっているかどうかを明らかにする事が目標である。褐色脂肪細胞において、オートファジーは活性化しているのか、また活性化しているなら如何なるメカニズムでオートファジーが活性化しているのかを明らかにする。またオートファジーが脂肪分解の亢進に関与しているのかを明らかにする(リポファジーの亢進)。そして、褐色脂肪細胞ではオートファジーが活性化された結果、ミトコンドリアへ熱産生の基質である脂肪酸を十分に供給し、エネルギー代謝を維持できることが、褐色脂肪細胞におけるオートファジーの生理的機能の1つであることを示す。

### 3. 研究の方法

C57BL/6 マウスを用い、絶食で白色および褐色脂肪組織にオートファジーを誘導し、その程度および細胞内脂肪量を観察することで、オートファジーの脂肪含量に対する効果を検討する。また培養脂肪細胞である 3T3-L1 脂肪細胞は多房性に脂肪を蓄積し、脂肪蓄積形態は褐色脂肪細胞様である。血清除去で培養することでオートファジーを誘導した 3T3-L1 脂肪細胞を、絶食状態におけるマウスの褐色脂肪細胞のモデルと考え、オートファジーと細胞内脂肪量を検討する。また多房性脂肪滴を形成するのに重要と考えられている FSP27 を欠損するマウス(FSP27 欠損マウス)の褐色脂肪細胞は単房性脂肪蓄積を示すが、このマウスを絶食にして、褐色脂肪細胞にオートファジーを誘導したときのオートファジーの程度および細胞内脂肪量を観察する。同時に FSP27 欠損マウスのエネルギー代謝を検討する。

### 4. 研究成果

#### 1. マウス褐色脂肪細胞におけるオートファジーの活性化

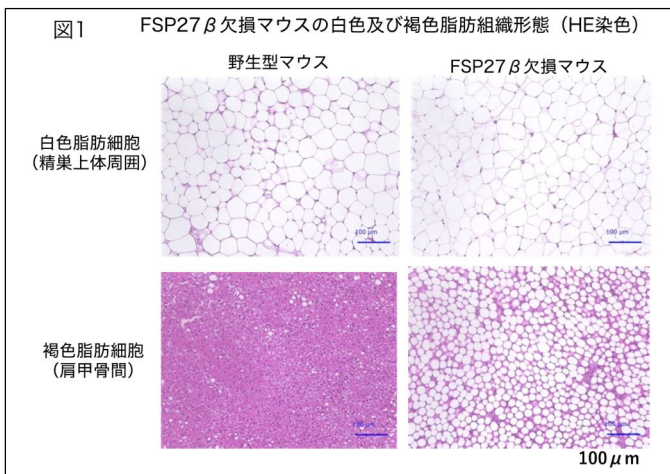
C57BL/6 マウスを 18 時間絶食にすると、白色脂肪細胞の脂肪滴サイズには著明な変化を認めないが、褐色脂肪細胞の多房性脂肪滴はほぼ消失する。このマウスの褐色脂肪組織をウェスタンブロットに供したところ、オートファジーの亢進を示唆する LC3-II タンパク発現が増加すると共に、オートファジーにおいて重要な役割を担うユビキチン化活性化酵素である atg7 の発現も増加した。

#### 2. 多房性脂肪蓄積を示す 3T3-L1 培養脂肪細胞における検討

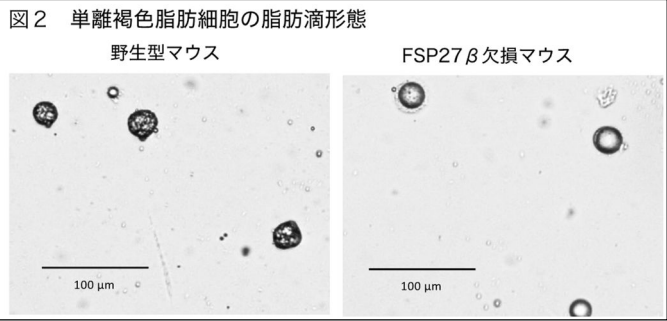
多房性に脂肪を蓄積する 3T3-L1 成熟脂肪細胞を血清除去による starvation を行ったところ、ウェスタンブロットにて LC3-II の発現増加を認め、実際にオートファジーの誘導が確認できた。また atg7 タンパク発現も増加した。同時にオイルレッド O 脂肪染色を用いて脂肪含量を検討したところ、血清除去により細胞内の中性脂肪含量は低下したが、オートファジー阻害剤であるクロロキン処理を行った細胞では中性脂肪含量の低下が抑制された。

#### 3. FSP27 欠損マウスの褐色脂肪組織における検討

Fat specific protein 27 (FSP27) には と の 2 つ の splicing variant が存在する。我々は、FSP27 は白色脂肪細胞で単房性巨大脂肪滴を形成するのに必須であり、FSP27 は褐色

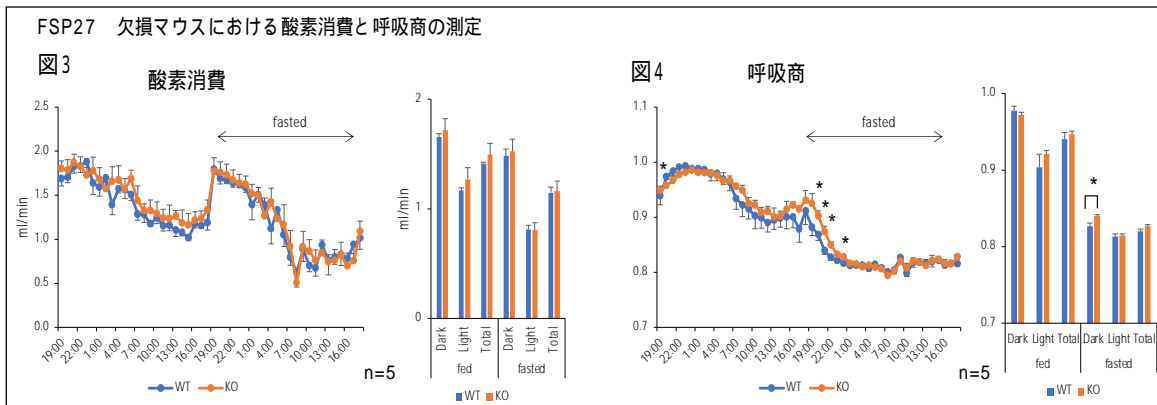


脂肪細胞の多房性脂肪滴形成に重要な機能を果たす事を見出している。このFSP27 欠損マウスは、組織の HE 染色にて、白色脂肪細胞の脂肪滴形態に著変は示さないが、褐色脂肪細胞は単房性脂肪滴形態に変化する(図1)。FSP27 欠損マウスの褐色脂肪細胞の単房化は単離褐色脂肪細胞においても確認された(図2)。このマウスの褐色脂肪細胞では、野生型に比べて LC3-II タンパクの低下を認めオートファジーが抑制されていることが示唆された。また FSP27 欠損マウスの褐色脂肪細胞の脂肪滴は絶食でほとんどそのサイズが不変であった。



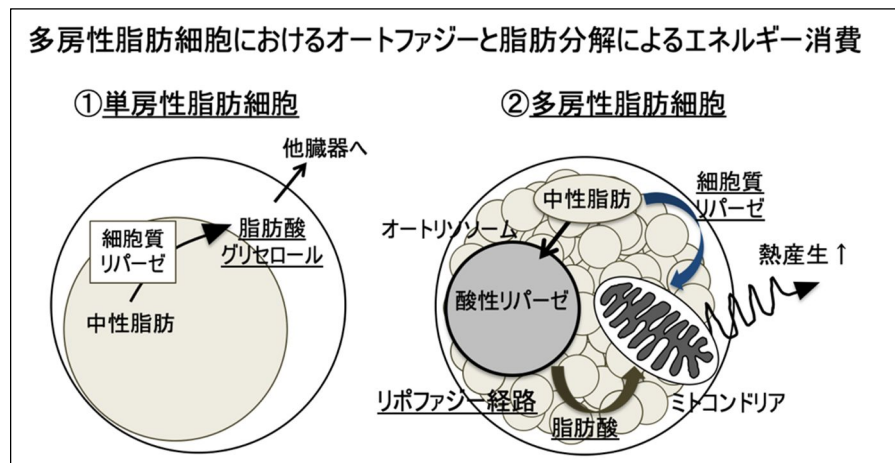
4. FSP27 欠損マウスのエネルギー代謝

FSP27 欠損マウス (KO) の呼吸エネルギー代謝を検討したところ、野生型 (WT) と比較して、酸素消費に有意な差を認めなかったが(図3)、呼吸商は野生型に比べて、特に暗期では有意に高値であった(図4)。これは褐色脂肪細胞の脂肪滴が単房化したことで、体内で利用されるエネルギー基質が脂質から糖質にシフトしたことが示唆される。単房化した褐色脂肪細胞でオートファジーとこれによるリポリシスが低下すると、脂質のエネルギー基質としての利用が低下し、これを代償するため、糖利用が亢進していることが予測される。



5. 多房性脂肪細胞におけるオートファジーと脂肪分解によるエネルギー代謝 (予想モデル)

エネルギー消費型の褐色脂肪細胞では、通常のリパーゼによる脂肪分解の結果産生された脂肪酸の供給に加えて、オートファジーによるリポファジーを介した脂肪分解に起因する脂肪酸供給経路の存在が想定され、これがエネルギー消費型の多房性脂肪滴蓄積細胞における効率的なエネルギー基質の供給メカニズムになっている可能性がある(下図)。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岩橋泰幸, 西本祐希, 細岡哲也, 森岡裕香, 小川渉, 田守義和
2. 発表標題 FSP27 はマウス褐色脂肪組織の多房性小脂肪滴形成に寄与する
3. 学会等名 第42回日本肥満学会
4. 発表年 2021年 ~ 2022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
---------	---------