

令和 6 年 6 月 15 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06063

研究課題名（和文）局所細胞外リン脂質代謝による全身的代謝免疫変容の新規調節機構

研究課題名（英文）Novel regulatory mechanisms of metabolic syndrome by local 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） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：sPLA2-IIIEは寒冷曝露時に脂肪組織から分泌される細胞外小胞のリン脂質を標的として高度不飽和脂肪酸（PUFA）を動員し、褐色脂肪細胞の活性化や白色脂肪細胞のベージュ化を促進してエネルギー消費の亢進に寄与するものと想定された。sPLA2-IIIの欠損は2型免疫の亢進による脂肪細胞のベージュ化を通じてエネルギー消費を高め、肥満の病態に抑制的に作用する可能性が示唆された。また大腸上皮に発現しているsPLA2-Xが、腸内細菌叢の調節を介して 3 PUFA-短鎖脂肪酸の相互作用を制御し、それによって二次的に全身の代謝に影響を与えることを明らかとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の最大の特色は、sPLA2分子群の欠損マウスを駆使し、メタボリックシンドロームにおけるsPLA2の機能を明らかにしてきた点である。本研究では、メタボリックシンドロームに関して脂質の視点から新たな学術的理解を与えるとともに、現在の代謝研究領域において重要な課題である「褐色脂肪細胞によるエネルギー代謝」や「代謝の遠隔組織変容」に細胞外リン脂質代謝の独創的視点からアプローチすることで、メタボリックシンドロームの病態発症メカニズムに関する革新的概念の創成が期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, sPLA2-IIIE mobilizes polyunsaturated fatty acid (PUFA) by targeting phospholipids in extracellular vesicles secreted from adipose tissue upon cold exposure, which is assumed to promote brown adipocyte activation and white adipocyte browning to enhance energy expenditure. Deficiency of sPLA2-III may increase energy expenditure by promoting type 2 immunity and white adipocyte browning, suggesting that sPLA2-III may have an inhibitory effect on the pathogenesis of obesity. We also found that colonic sPLA2-X orchestrates 3 PUFA-SCFA interplay via modulation of gut microbiota, thereby secondarily affecting systemic metabolism.

研究分野：脂質生物学

キーワード：リン脂質代謝 ホスホリパーゼA2 脂肪酸 リゾリン脂質 メタボリックシンドローム

1. 研究開始当初の背景

現在、肥満は増加の一途をたどり、今や BMI 25kg/m²以上の人口が世界の3分の1を占める。脂質の異常はメタボリックシンドロームに密接に関連しているが、詳細な分子メカニズムは未だ不明な点が多い。メタボリックシンドロームの病態が生じる原因として代謝組織固有に生じる変容がある。例えば代謝組織である脂肪組織にはエネルギーを脂肪として貯める白色脂肪細胞と脂肪を燃焼し熱を産生する褐色脂肪細胞が存在し、さらにベージュ脂肪細胞と呼ばれる第二の熱産生脂肪細胞の存在が近年明らかにされた。これら熱産生脂肪細胞の活性化はエネルギー消費(熱産生)を高めることで肥満に対して抑制的に働くのに対し、その破綻はメタボリックシンドロームの増悪を招く。一方で、代謝系臓器以外の遠隔臓器の変容から二次的にメタボリックシンドロームの病態が生じることが提唱されている。この遠隔臓器変容には、局所から他臓器への免疫細胞の遊走のほか、細胞外微粒子による脂質や miRNA の組織間運搬、腸内細菌叢やそれが産生する代謝物の変化、自律神経を介した中枢・末梢組織連関、等のメカニズムが想定される。申請者の所属グループはリン脂質を分解する酵素「PLA₂ 分子群」の研究を推進してきた。中でも sPLA₂ 分子群の欠損マウスにリポドミクスを総合的に展開し、異なる基質選択性を示す各 sPLA₂ が組織微小環境の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 Exp Med.* 2013 & 2015, *Nat Immunol.* 2013, *J Clin Invest.* 2010 etc)。この中で申請者は sPLA₂ とメタボリックシンドロームの関連を世界で初めて発見した。すなわち、肥満の進行に伴い白色脂肪細胞に発現誘導される sPLA₂-V が、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肥満の慢性炎症を調節すること (Metabolic sPLA₂; *Cell Metab.* 2014)、M2 マクロファージに発現している sPLA₂-IID が、白色脂肪組織中で抗炎症性の ω3 脂肪酸を遊離して脂肪組織の慢性炎症を抑えるとともに、白色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で肥満を防ぐこと (Thermogenic sPLA₂; *Cell Rep.* 2020)を報告した。申請者はさらに、sPLA₂ 群の欠損マウスに網羅的に高脂肪食肥満モデルを展開し、上記以外の sPLA₂ の欠損マウスにおいても肥満の増悪または改善が見られることを見出した。興味深いことに、本研究で対象とする各 sPLA₂ は従来の肥満研究で中心であった白色脂肪細胞には発現しておらず、其々が固有の細胞に発現している。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未解決であった。本研究の狙いは、この未解決課題を展開し、sPLA₂ による代謝制御の全貌を解明することである。

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、(1) 褐色/ベージュ脂肪細胞(熱産生脂肪細胞)ならびに(2) 上皮系組織(表皮、大腸上皮)に変容が生じることを見出した。熱産生脂肪細胞は脂肪の燃焼を介してエネルギー消費を亢進する。表皮バリアの破綻は2型免疫の亢進を招き、脂肪細胞のベージュ化の促進や熱放散の増加によりエネルギー消費の増大に結びつく。また腸管バリアの破綻は慢性炎症の増悪や腸内細菌叢の乱れを引き起こし、その影響は全身に波及する。したがって、これらの変容はいずれもメタボリックシンドロームの表現型に影響を与え得る。そこで本研究では、(1) 褐色脂肪細胞に発現誘導される sPLA₂ とそれが動員する機能性脂質に着目し、各分子の時空間的相互作用を追跡しつつ、エネルギー代謝調節の作用メカニズムを解明する。(2) 上皮組織(表皮、大腸上皮)に固有に発現している sPLA₂ による局所の機能性脂質の動員が全身の代謝調節に結びつく上皮-代謝連関の動作原理を解明する。以上より、各 sPLA₂ を起点として動員される未知の脂質代謝様式とそれによる代謝の新規調節機構を解明する。

3. 研究の方法

(1) 褐色脂肪細胞に基づくエネルギー代謝調節

sPLA₂-IIE 欠損マウスにおける褐色脂肪細胞の機能評価

sPLA₂-IIE 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、脂肪組織の組織像、体温、熱産生関連遺伝子の発現、酸素消費量、脂肪組織中の免疫細胞、高脂肪食肥満の表現型を精査し、熱産生、エネルギー代謝に及ぼす影響を総合評価した。

sPLA₂ が動員する機能性脂質の同定

寒冷暴露した褐色脂肪組織のリポドミクスを実施し、sPLA₂-IIE の欠損により減少する脂肪酸、リゾリン脂質、またはその代謝物を網羅的に探索した。

(2) 遠隔臓器変容に基づく代謝調節

表皮から代謝への遠隔変容

皮膚特異的 sPLA₂-III 欠損マウスに高脂肪食を与え、全身欠損マウスと同様に肥満の表現型が改善するかを検証するとともに、2型免疫へのシフトや白色脂肪細胞のベージュ化を精査した。

大腸から代謝への遠隔変容

sPLA₂-X 欠損マウスに高脂肪食を負荷して肥満増悪を確認するとともに、この時の大腸における脂質の変動について、特に ω 3 脂肪酸とその代謝物に着目してリポドミクスを行った。大腸上皮バリアの状態を蛍光色素の粘膜下浸透により評価した。腸内細菌叢と関連して、野生型マウスとの同居飼育 (co-housing) や抗生物質の投与によって *Pla2g10* 欠損マウスの肥満・インスリン抵抗性の表現型が消失するのかが検討した。sPLA₂-X 欠損マウスにおいて糞便中の微生物ゲノムを次世代シーケンサーにより分析した。sPLA₂-X 欠損マウスにおいて血漿、糞便中の短鎖脂肪酸量を測定した。*Pla2g10* 欠損マウスに短鎖脂肪酸や ω 3 脂肪酸を補充すると肥満の表現型が消失するのかが検討した。

4. 研究成果

(1) 褐色脂肪細胞に基づくエネルギー代謝調節

褐色脂肪細胞の活性化や白色脂肪細胞のベージュ化を促進する寒冷 (4°C) 曝露、あるいは β 3 アドレナリン受容体 (β 3AR) アゴニストの投与により、sPLA₂-IIE は褐色・白色脂肪組織で発現が誘導され、特に褐色脂肪組織で顕著であった。また、培養系において、褐色脂肪細胞の分化誘導に伴い sPLA₂-IIE の発現上昇がみられた。寒冷曝露あるいは β 3AR の投与により、野生型マウスでは褐色脂肪組織や白色皮下脂肪組織において *Ucp1* などの熱産生関連遺伝子の発現が誘導されたが、sPLA₂-IIE 欠損マウスではこの応答が有意に減少し、これに呼応して体温の低下が認められた。褐色脂肪組織のリポドミクス解析の結果、sPLA₂-IIE 欠損マウスでは野生型マウスと比較して高度不飽和脂肪酸 (PUFA) が一括的に減少していた。

(2) 遠隔臓器変容に基づく代謝調節

表皮から代謝への遠隔変容

sPLA₂-III は代謝関連組織ではほとんど発現しておらず、表皮に高発現している。高脂肪食 (HFD) した皮膚特異的 sPLA₂-III 欠損マウスは、全身性 sPLA₂-III 欠損マウスと同様に肥満、脂肪組織の炎症、インスリン抵抗性、耐糖能異常が改善した。通常食下において、皮膚特異的 sPLA₂-III 欠損マウスの皮下脂肪で熱産生関連遺伝子の発現が増加していた。表皮バリア異常は傷害表皮角化細胞からの IL-33 の遊離と経皮的な異物侵入を招き、全身の免疫系が 2 型免疫へと配向する。表皮バリアの異常は体表からの熱放散の増加、2 型免疫の亢進による脂肪細胞のベージュ化を通じてエネルギー消費を高め、肥満の病態に抑制的に作用する。sPLA₂-III 欠損マウスでは表皮バリアが乱れ、2 型免疫の亢進によりアレルギーが増悪する一方で、高脂肪食肥満が軽減することから、sPLA₂-III 欠損マウスにおける肥満の軽減は、表皮バリア異常から 2 型免疫の亢進を経て代謝系へと波及する遠隔臓器変容がベースにあると考えられる。皮膚特異的 sPLA₂-III 欠損マウスを寒冷曝露すると皮下脂肪組織の熱産生関連遺伝子の発現が増加していた。このことから、sPLA₂-III の欠損は 2 型免疫の亢進による脂肪細胞のベージュ化を通じてエネルギー消費を高め、肥満の病態に抑制的に作用する可能性が示唆された。

大腸から代謝への遠隔変容

sPLA₂-X は大腸上皮細胞に高発現しており、 ω 3 脂肪酸を動員して大腸の急性炎症を抑制する。sPLA₂-X は脂肪組織、肝臓、筋肉などの代謝に関わる組織をはじめ免疫系や神経系にもほとんど発現していないが、HFD を負荷した *Pla2g10* 欠損マウスは肥満、脂肪組織の炎症、インスリン抵抗性が増悪し、大腸において炎症マーカーの増加や上皮バリア機能の低下が見られた。大腸のリポドミクス解析の結果、HFD 負荷 *Pla2g10* 欠損マウスでは野生型マウスと比較して高度不飽和脂肪酸やリゾリン脂質が有意に減少していた。*Pla2g10* 欠損マウスの肥満・インスリン抵抗性の表現型は、野生型マウスとの同居飼育 (co-housing) や抗生物質の投与により消失した。*Pla2g10* 欠損マウスと野生型マウスの腸内細菌叢を比較解析すると、HFD 負荷 *Pla2g10* 欠損マウスでは、*Clostridium* 属の一部に減少が見られた。*Clostridium* 属が産生する短鎖脂肪酸にはエネルギー代謝や免疫応答を改善する作用があるが、HFD 負荷 *Pla2g10* 欠損マウスでは野生型マウスと比べ血漿や糞便中の短鎖脂肪酸が減少していた。*Pla2g10* 欠損マウスに短鎖脂肪酸や ω 3 脂肪酸を補充すると肥満の表現型が消失した。以上より、sPLA₂-X が欠損すると、 ω 3 脂肪酸の減少により大腸の慢性炎症が増悪し、腸内細菌叢が乱れ、短鎖脂肪酸が減少し、二次的に全身の代謝に影響が及ぶものと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Murakami M, Sato H, Taketomi Y.	4. 巻 317
2. 論文標題 Modulation of immunity by the secreted phospholipase A2 family.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Immunol Rev.	6. 最初と最後の頁 42-70
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/imr.13205.	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 -
1. 著者名 Hirabayashi T, Kawaguchi M, Harada S, Mouri M, Takamiya R, Miki Y, Sato H, Taketomi Y, Yokoyama K, Kobayashi T, Tokuoka SM, Kita Y, Yoda E, Hara S, Mikami K, Nishito Y, Kikuchi N, Nakata R, Kaneko M, Kiyonari H, Kasahara K, Aiba T, Ikeda K, Soga T, Kurano M, Yatomi Y, Murakami M.	4. 巻 42
2. 論文標題 Hepatic phosphatidylcholine catabolism driven by PNPLA7 and PNPLA8 supplies endogenous choline to replenish the methionine cycle with methyl groups	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cell Rep .	6. 最初と最後の頁 111940
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/imr.13205.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 佐藤弘泰、村上誠	4. 巻 282
2. 論文標題 ホスホリパーゼA2と代謝性疾患	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 医歯薬出版	6. 最初と最後の頁 55-62
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 -
1. 著者名 武富芳隆、佐藤弘泰、村上誠	4. 巻 92
2. 論文標題 機能性脂質がつかなく臓器連環と心血管病	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 循環器内科	6. 最初と最後の頁 675-681
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3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佐藤弘泰, 武富芳隆, 村瀬礼美, 三木寿美, 原俊太郎, 細見晃司, 朴鐘旭, 水口賢司, 國澤純, 村上誠
2. 発表標題 sPLA2-Xは腸内細菌叢の調節を介してメタボリックシンドロームを制御する
3. 学会等名 第65回日本脂質生化学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐藤弘泰, 武富芳隆, 村上誠
2. 発表標題 寒冷曝露により脂肪組織に誘導されるsPLA2-IIIEはエネルギー恒常性を制御する
3. 学会等名 第96回日本生化学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐藤弘泰, 武富芳隆, 村瀬礼美, 三木寿美, 原俊太郎, 細見晃司, 朴鐘旭, 水口賢司, 國澤純, 村上誠
2. 発表標題 sPLA2-Xは腸内細菌叢の調節を介してメタボリックシンドロームを制御する
3. 学会等名 第95回 日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

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://1mhs.m.u-tokyo.ac.jp/home_j.html
--

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