

令和 6 年 5 月 11 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06733

研究課題名（和文）核内脂肪滴の新規生理機能

研究課題名（英文）Physiological functions of nuclear lipid droplets

研究代表者

大崎 雄樹 (Ohsaki, Yuki)

札幌医科大学・医学部・教授

研究者番号：00378027

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）：中性脂質をリン脂質一重膜が覆う構造である脂肪滴は、通常小胞体膜から形成される細胞質オルガネラであるが、核内にも存在する。我々は肝由来細胞とそれ以外の細胞で異なる核内脂肪滴形成機構を見出した。核内脂肪滴は肝由来細胞ではホスファチジルコリン合成を活性化させ小胞体ストレスを軽減する装置として働くことを示した。一方グリオーマ由来細胞において脂肪滴-PML複合体が癌形成促進因子の転写制御に関与することを見出した。他方、実際に肝疾患疑い患者の肝細胞内で高頻度に核内脂肪滴が頻繁に形成されることを見出した。さらに核内脂肪滴形成および核膜陥入に影響を及ぼす新たな分子ファミリーを同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

半世紀以上謎の構造であった核内脂肪滴の形成機構と複数の生理的意義を明らかにした。特異な疎水性構造であるが、表面にリン脂質一重膜を持つ脂肪滴は、従来の膜を持たない核内構造体（PML小体、核小体など）に新たな機能を付加する可能性があり、新たな創薬標的の基礎研究拡大が期待される。さらに実際の人肝疾患患者で高頻度に核内脂肪滴が形成されており、従来の脂肪肝指標である細胞質脂肪滴蓄積と必ずしも関連しなかったことから、特定の肝疾患に対して新たな特徴として定義づけられれば、原因不明の肝炎等の鑑別診断、治療の一助となる可能性が高い。

研究成果の概要（英文）：Lipid droplets (LD) composed of neutral lipids and phospholipids monolayer can exist not only in the cytoplasm but in the nucleus. We identified different nuclear LD biogenesis mechanisms; one is specific to hepatic cells in which nuclear LDs are derived from lipoprotein precursors in the ER lumen, and another is for general cells in which LDs can be formed by a series of the enzymes of neutral lipid synthesis in the inner nuclear membrane. As functions of nuclear LDs, they were involved in phosphatidylcholine de novo synthesis and ameliorated ER stress in hepatic cells. In glioma cells, nuclear LD-PML complex bodies were related in the transcriptions of several tumor promoting factors. On the other hands, we found that nuclear LDs are frequently formed in human hepatocytes derived from biopsy of patients with various types of hepatic diseases. Further, we also found a family of ER/nuclear membrane proteins that can regulate the amount of nuclear LDs and nuclear membrane invagination.

研究分野：細胞生物学

キーワード：脂肪滴 中性脂質 PML 核膜変形 核内構造体

## 1. 研究開始当初の背景

脂肪滴 (Lipid droplet; LD)は小胞体膜で合成された中性脂質 (トリアシルグリセロール; TAG、コレステロールエステル; CE)をリン脂質一重膜が被って形成される、細胞質オルガネラとして長らく理解されてきた。一方で哺乳動物の肝由来細胞、一部の非肝由来細胞、さらに特定条件下の酵母、植物でも核内脂肪滴の存在が報告されてきたが、その形成機序と意義は長らく不明であった。研究代表者らは、特に核内脂肪滴が豊富な肝由来細胞においては、小胞体内腔で過剰に滞留したリポプロテイン前駆体顆粒が、空間の続いた核膜槽、さらに核膜陥入構造を伝播して、核質内に移行したものが、核内脂肪滴形成の主要機構であることを見出していた (図2左, *Soltysik, Ohsaki et al., Nat Commun 10:473, 2019*)。しかし、リポプロテイン合成能を持たない非肝由来細胞における核内脂肪滴形成機序は不明であった。また核内脂肪滴の意義としては、肝由来細胞においては脂肪滴表層でホスファチジルコリン (PC)新規合成経路律速酵素 CCTalpha が活性化され、PC合成を亢進させて、小胞体ストレスを軽減することを見出していたが、他の生理機能については不明であった。

他方、CE/TAG比率が一定以上高い脂肪滴の液晶化現象が、脂肪滴表層からのアンカー力によって規定されていること、内部脂質組成の違いが表層のリン脂質環境の違いと相関し得ることを見出していた (*Shimobayashi and Ohsaki, PNAS USA 116:25440-25445, 2019*)。脂肪滴表層の分子は組織細胞種ごと、細胞環境ごと、さらに細胞内の個々の脂肪滴ごとに異なっており、その分子局在は内部脂質組成によっても規定されている可能性を想定した。

## 2. 研究の目的

本計画では脂肪滴の形成機構と機能解明のため、以下の3項目の解析を行った。

(A)核内脂肪滴の非肝由来細胞における形成機序の解明

(B)脂肪滴-核内構造体の相互作用

(C)脂肪滴脂質のコア脂質の相転移と脂肪滴局在分子との関連

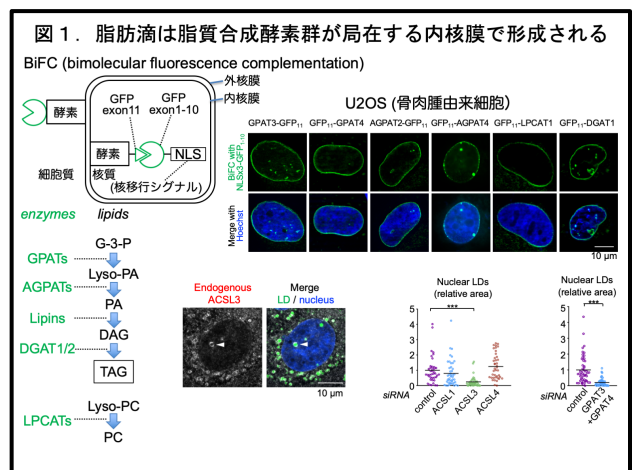
## 3. 研究の方法

- BiFC (二分子蛍光補完) : GFP 遺伝子エクソンを分割し、一方には NLS (核内移行シグナル)を結合させ核質内に発現させる。解析対象脂質合成酵素に GFP エクソンの他方を結合させ同細胞に発現させ、核室内に酵素が局在した時のみ蛍光発する。
- 研究同意済みの肝疾患疑い患者の肝生検資料の電顕解析は、名古屋大学ならびに札幌医科大学の倫理委員会認可の下行った。

## 4. 研究成果

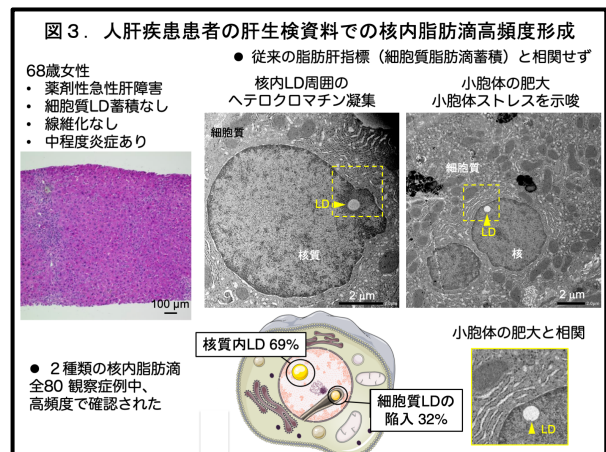
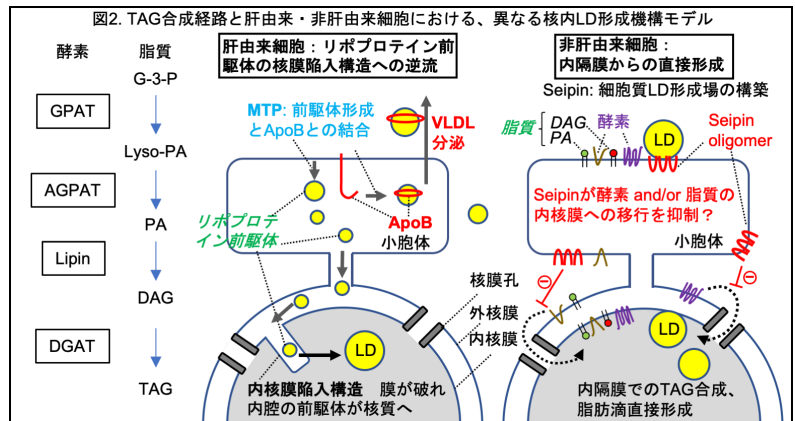
(A) 核内脂肪滴の非肝由来細胞における形成機序の解明

非肝由来細胞における新規の核内脂肪滴形成機序を探索した結果、内核膜には本来小胞体に局在する脂質合成酵素群が存在し、核内で直接、中性脂質合成と脂肪滴形成が行われることを明らかにした (図1, 図2右)。さらに細胞質脂肪滴の形成に重要な小胞体膜貫通タンパク質 Seipin が、ジアシルグリセロール (DAG)合成酵素である Lipin1 beta の転写を抑制することで核内脂肪滴の形成を負に制御することを見出した。これらの成果は国際学術誌 (*Soltysik et al., J Cell Biol 229:e202005026, 2021*)および国内学会において報告した。



肝生検由来の人肝細胞観察により、核質内脂肪滴（真の核内脂肪滴）の他に細胞質脂肪滴の核膜陥入が存在することが判明した。肝疾患疑い患者の70%で核内脂肪滴が観察され、さらに従来の脂肪肝（細胞質脂肪滴の蓄積）を伴わない核内脂肪滴形成例も多かったことから、原因不明の肝炎障害の中で、核内脂肪滴形成を軸とした新たな鑑別法の樹立は当該臨床分野において有効であると考えられ、引き続き症例解析を継続する。これらの成果は国際学術誌 (*Imai, Ohsaki et al., Sci Rep 13: 6851, 2023*) および国内学会において報告した。

さらに核内脂肪滴形成に関与する新規分子機構探索の結果、小胞体膜、核膜の変形に関与し、その遺伝的変異がジストニアの原因であることが報告されている、Torsin およびファミリー分子について、肝由来細胞 Huh7 を用いて発現量抑制を行ったところ、核膜陥入および核内脂肪滴形成量の増加とともに細胞分泌機構が障害された。また別のファミリー分子の過剰発現、発現抑制では細胞周期の異常とともに核内脂肪滴が顕著に減少した。これらの成果は国内学会において報告した。



### (B) 脂肪滴-核内構造体の相互作用

核内脂肪滴はタンパク質修飾や遺伝子発現制御に関与する PML 小体と複合体を形成して存在することを以前に報告していた (*Ohsaki et al., J Cell Biol 212:29-38, 2016*)。本計画では東北大学との共同研究者と共に、U251 グリーマ細胞において脂肪酸結合タンパク質 FABP7 が核内脂肪滴形成および脂肪滴-PML 複合体形成を促進し、癌形成促進因子の転写を亢進することを見出した。その遺伝子発現調節は、該当遺伝子上流のプロモーター領域のヒストンアセチル化亢進を介したものであった。これらの成果は国際学術誌に発表した (*Umaru et al., FEBS J 290:1798-1821, 2023*)。

一方、核内脂肪滴は、液-液滴相分離によって形成される構造と考えられる PML 小体と高頻度で複合体を形成するが、その結合機構および融合機序は不明であった。蛋白質結合機構の一つである SUMO 化の抑制が、脂肪滴-PML 複合体形成を一部抑制することを見出した。膜を持つ脂肪滴と膜を持たない核内構造体との会合様式をさらに解明し、核内生理現象の制御を試みる。

### (C) 脂肪滴脂質のコア脂質の相転移と脂肪滴局在分子との関連

脂肪細胞分化モデル 3T3-L1 細胞において、分化誘導中にコレステロールを与えて CE 形成を促進させると、脂肪滴の液晶化を示す偏光像が検出されたことから、細胞内脂肪滴が中性脂質組成量に応じて液体-液晶相転移する現象の普遍性が明らかになった。動物個体組織における CE/TAG 比率解析を可能とするプローブ開発にはなお課題が多く、基礎研究を継続する。今後は表面蛋白質組成が異なる脂肪滴を標識蛋白質のセルソーターでの分離により細胞質/核内からそれぞれ抽出し、各々の脂質組成解析を行い、脂肪滴のコア中性脂質/リン脂質/コレステロールの組成と表面局在蛋白質との相関関係を明らかにしていく。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Konno Takumi, Kohno Takayuki, Kikuchi Shin, Kura Arisa, Saito Kimihito, Okada Tadahi, Shimada Hiroshi, Yamazaki Yuya, Sugiyama Tomoki, Matsuura Motoki, Ohsaki Yuki, Saito Tsuyoshi, Kojima Takashi	4. 巻 -
2. 論文標題 The interplay between the epithelial permeability barrier, cell migration and mitochondrial metabolism of growth factors and their inhibitors in a human endometrial carcinoma cell line	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Tissue Barriers	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/21688370.2024.2304443	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 Chaki Tomohiro, Tachibana Shunsuke, Kumita Sho, Sato Satoshi, Hirahata Tomoki, Ikeshima Yuta, Ohsaki Yuki, Yamakage Michiaki	4. 巻 13
2. 論文標題 I-gel Plus acts as a superior conduit for fiberoptic intubation than standard i-gel	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 18381
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-023-45631-0	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 Imai Norihiro, Ohsaki Yuki, Cheng Jinglei, Zhang Jingjing, Mizuno Fumitaka, Tanaka Taku, Yokoyama Shinya, Yamamoto Kenta, Ito Takanori, Ishizu Yoji, Honda Takashi, Ishigami Masatoshi, Wake Hiroaki, Kawashima Hiroki	4. 巻 13
2. 論文標題 Distinct features of two lipid droplets types in cell nuclei from patients with liver diseases	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6851
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-023-33977-4	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 Sawada Atsushi, Kumita Sho, Nitta Asako, Ohsaki Yuki, Yamakage Michiaki	4. 巻 0
2. 論文標題 Modified thoracoabdominal nerve block through perichondrial approach (M-TAPA): an anatomical study to evaluate the spread of dye after a simulated injection in soft embalmed Thiel cadavers	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Regional Anesthesia and Pain Medicine	6. 最初と最後の頁 1~5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1136/rapm-2022-104275	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 Kodesho Taiki, Kato Takuya, Nakao Gakuto, Yokoyama Yu, Saito Yuhei, Watanabe Kota, Ohsaki Yuki, Katayose Masaki, Taniguchi Keigo	4. 巻 0
2. 論文標題 Effects of superficial tissue and intermuscular connections on rectus femoris muscle shear modulus heterogeneity	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Ultrasound	6. 最初と最後の頁 1~6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s40477-022-00769-x	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 Umaru Banlanjo Abdulaziz, Kagawa Yoshiteru, Ohsaki Yuki, Pan Yijun, Chen Chuck T., Chen Daniel K., Abe Toshiaki, Shil Subrata Kumar, Miyazaki Hirofumi, Kobayashi Shuhei, Maekawa Motoko, Yamamoto Yui, Wannakul Tunyanat, Yang Shuhan, Bazinet Richard P., Owada Yuji	4. 巻 290
2. 論文標題 Oleic acid bound <scp>FABP7</scp> drives glioma cell proliferation through regulation of nuclear lipid droplet formation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The FEBS Journal	6. 最初と最後の頁 1798~1821
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/febs.16672	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 ISOBE Mari, SUZUKI Yumika, SUGIURA Hideshi, SHIBATA Masahiro, OHSAKI Yuki, KAMETAKA Satoshi	4. 巻 43
2. 論文標題 Novel cell-based system to assay cell-cell fusion during myotube formation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomedical Research	6. 最初と最後の頁 107~114
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2220/biomedres.43.107	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 Kikuchi Shin, Kohno Takayuki, Kojima Takashi, Tatsumi Haruyuki, Ohsaki Yuki, Ninomiya Takafumi	4. 巻 43
2. 論文標題 Oxygen?Glucose Deprivation Decreases the Motility and Length of Axonal Mitochondria in Cultured Dorsal Root Ganglion Cells of Rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cellular and Molecular Neurobiology	6. 最初と最後の頁 1267~1280
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10571-022-01247-y	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 Soltysik Kamil, Ohsaki Yuki, Tatematsu Tsuyako, Cheng Jinglei, Maeda Asami, Morita Shin-ya, Fujimoto Toyoshi	4. 巻 220
2. 論文標題 Nuclear lipid droplets form in the inner nuclear membrane in a seipin-independent manner	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Cell Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1083/jcb.202005026	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12件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 大崎 雄樹、 和田 亘弘、 菊池鴻太、 酒井恒
2. 発表標題 脂肪滴のDNA損傷修復機構への関与
3. 学会等名 第129回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 大崎 雄樹、 和田 亘弘、 本城愛子、 室松悠希
2. 発表標題 生体組織における脂肪滴の異所性形成の意義
3. 学会等名 第55回日本臨床分子形態学会
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 大崎 雄樹、 和田 亘弘、 本城愛子、 室松悠希
2. 発表標題 核内脂肪滴形成に関与する核膜形態維持分子
3. 学会等名 第96回日本生化学会大会
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 大崎雄樹
2. 発表標題 脂肪滴の核内での生成機序と意義
3. 学会等名 第67回日本生化学会北海道支部例会（招待講演）
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 大崎雄樹
2. 発表標題 脂肪滴の核内での形成機構と生理機能の形態学的解析
3. 学会等名 日本顕微鏡学会第79回学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 大崎 雄樹、 和田 亘弘、 程 晶磊、 今井 則博
2. 発表標題 脂肪滴の新たな核内生理機能プラットフォームとしての可能性
3. 学会等名 第128回日本解剖学会総会・全国学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 大崎 雄樹、 今井 則博、 程 晶磊、 立松 寛人、 菊地 鴻太
2. 発表標題 核内脂肪滴の新規生理機能
3. 学会等名 第54回日本臨床分子形態学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 大崎 雄樹
2. 発表標題 核内脂肪滴形成を制御する新たな分子機序
3. 学会等名 日本解剖学会第68回 東北・北海道連合支部学術集会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 大崎 雄樹
2. 発表標題 脂肪滴の核内での生理的意義
3. 学会等名 第64回 日本脂質生化学会（招待講演）
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 大崎 雄樹、立松 寛人、程 晶磊
2. 発表標題 核内脂肪滴形成に影響する核膜変形制御分子の探索
3. 学会等名 第62回日本組織細胞化学会総会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 大崎 雄樹、立松 寛人、程 晶磊
2. 発表標題 核内脂肪滴代謝に影響をあたえる核膜形態変化
3. 学会等名 第94回日本生化学大会
4. 発表年 2021年～2022年



1. 発表者名 大崎 雄樹、立松 寛人、程 晶磊
2. 発表標題 脂肪滴の核内形成機序に影響する核膜形態制御分子の検索
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
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
研究協力者	程 晶磊  (Cheng Jinglei)	名古屋大学・全学技術センター・技術職員	
研究協力者	今井 則博  (Imai Norihiro)	名古屋大学・医学部附属病院・助教	
研究協力者	多喜 正泰  (Taki Masayasu)	名古屋大学・トランスフォーマティブ生命分子研究所・准教授	
研究協力者	酒井 恒  (Sakai Wataru)	神戸大学・バイオシグナル総合研究センター・助教	
研究協力者	下林 俊典  (Shimobayashi Shunsuke)	京都大学・iPS細胞研究所・准教授	

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