

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790936

研究課題名(和文) 脂肪細胞分化における亜鉛トランスポーターの役割解明

研究課題名(英文) The role of zinc transporter in adipocyte differentiation

研究代表者

福中 彩子 (Fukunaka, Ayako)

順天堂大学・医学部・研究員

研究者番号：60586402

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、亜鉛トランスポーターZIP13と脂肪細胞との関連について調べたところ以下の結果を得た。(1)Zip13-KOマウスでは、皮下脂肪組織で褐色脂肪細胞のマーカ遺伝子の発現上昇が見られ、これはex vivo培養実験から脂肪細胞自律的に起こることが判明した。(2)Zip13-KOマウスでは高脂肪食負荷による体重上昇が抑制される。(3)Zip13-KOマウスではインリン感受性の亢進とエネルギー消費量の増加が認められる。

研究成果の概要(英文)：We investigated the role of ZIP13 in adipocyte tissues, and recently we obtained the following preliminary data.

(1) Zip13-KO mice showed a reduction in subcutaneous WAT mass and visceral WAT mass as expected, while interestingly the expression levels of several BAT markers including Ucp1 were increased in the subcutaneous WAT from Zip13-KO mice. (2) This browning phenotype of Zip13-KO cells occurs in a cell autonomous manner: namely, preadipocytes derived from subcutaneous WAT of Zip13-KO mice significantly induced the expression of several BAT markers in ex vivo cultures in response to a brown induction cocktail. (3) Zip13-KO mice showed a remarkable obesity-resistant phenotype when fed on a high fat diet. (4) Enhancement of insulin sensitivity was observed in Zip13-KO mice.

研究分野：医歯薬

科研費の分科・細目：代謝

キーワード：亜鉛トランスポーター 脂肪細胞 褐色化 エネルギー消費

1. 研究開始当初の背景

脂肪細胞にはエネルギーを貯蔵する白色脂肪細胞と、エネルギーを消費する褐色脂肪細胞がある。最近になって、寒冷刺激を行うと白色脂肪組織中に褐色脂肪細胞特有の遺伝子発現を誘導するベージュ細胞が発見され、この形質変換機序の理解と人為的な形質変換方法の開発は肥満対策の観点から注目されている。

亜鉛は様々なタンパク質の機能に要求される。近年、ヒト遺伝子の約 1 割が亜鉛結合配列をコードすることや、亜鉛がシグナル分子として機能すること、さらに亜鉛トランスポーターが制御する亜鉛シグナルが生命活動に深く関わることを示されており、亜鉛の健康と病気への関わりに関心が高まっている。従来から脂肪細胞の機能や代謝における亜鉛の関与が指摘されていた。例えば白色脂肪の分化と細胞内亜鉛量の増加が相関することや、脂肪細胞の機能に関わる多くの分子が亜鉛結合部位を持つことが示されている。しかしながら、脂肪細胞の白色化や褐色化の分化誘導や分化決定における亜鉛の実質的な役割は全く解明されていない。

亜鉛トランスポーター *Zip13* のノックアウトマウス (*Zip13*-K0 マウス) や変異型 ZIP13 を保持するエーラスダンロス症候群患者では脂肪萎縮症の存在が指摘されていたことから、脂肪組織における ZIP13 の役割に着目して解析を進めた。

2. 研究の目的

本研究では、亜鉛トランスポーター ZIP13 の脂肪組織での役割解明と、その生活習慣病における意義を明らかにすることを目標とする。

3. 研究の方法

本研究では(1)脂肪組織における ZIP13 の役割解明と(2)ZIP13 の生理機能の解明を行った。以下に具体的な方法を示す。

(1)脂肪組織における ZIP13 の役割解明

Zip13-K0 マウスの脂肪組織を用いて、形態学的な変化と遺伝子発現変化を観察した。また、*Zip13*-K0

マウスの肩甲骨(褐色脂肪になる細胞が存在する)と鼠蹊部(白色脂肪と褐色脂肪どちらにもなることができる細胞が存在する)周りから前駆脂肪細胞を抽出して、分化誘導を行い(*ex vivo* 培養)、組織で観察された結果が脂肪細胞自律的に起こる現象であるか調べた。

(2)ZIP13 の生理機能の解明

Zip13-K0 マウスを用いてエネルギー代謝解析(酸素消費量)を測定した。さらに高脂肪食飼育下での体重の増加を観察し、ZIP13 の生理機能について明らかにした。

4. 研究成果

(1)脂肪組織における ZIP13 の役割解明

Zip13-K0 マウスの皮下脂肪組織、内臓脂肪組織、褐色脂肪組織(当該マウスは深田俊幸博士から分与)を詳細に観察したところ、皮下脂肪組織像が褐色脂肪様に変化していることを見出した。この褐色脂肪組織様転換は、皮下脂肪組織における褐色脂肪細胞のマーカー遺伝子の異所性発現上昇により、さらに裏付けられた。そこで、皮下脂肪組織の褐色化が脂肪細胞自律的に起こる現象であるかを調べるために、*ex vivo* 培養を実施した。その結果、鼠蹊部周辺の前駆脂肪細胞に褐色化の誘導を行うと褐色脂肪細胞のマーカー遺伝子の発現が *Zip13*-K0 マウス由来の細胞で有為に上昇することがわかった。この際、機能的な褐色脂肪細胞が増加しているかを調べるために熱産生に関わる遺伝子(*Ucp1*、*Pgc1*)の発現変化を観察した。褐色化の分化誘導を行い成熟した脂肪細胞に Forskolin で刺激し、細胞内の cAMP の濃度を上昇させると熱産生に関わる遺伝子発現が *Zip13*-K0 マウス由来の細胞で有為に上昇することが判明した。現在 ZIP13 が関わる褐色化制御の分子機序を解析中である。

(2)ZIP13 の生理機能の解明

ZIP13 は褐色化を制御することから、*Zip13*-K0 マウスで褐色化が亢進することにより生体に及ぼす

影響について調べた。Zip13-K0 マウスを用いてエネルギー代謝変化を調べたところ酸素消費量が明期、暗期ともに Zip13-K0 マウスで亢進していることがわかった。また野生型マウスでは高脂肪食下で飼育した場合、通常食で飼育したものと比較して体重が増加し肥満を呈する一方で、Zip13-K0 マウスでは高脂肪食を負荷しても体重の増加は見られず肥満にならないことが判明した。これらの結果から Zip13-K0 マウスでは褐色化が亢進し、エネルギー消費量が増えるために肥満に抵抗性を示す可能性が考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計4件)

1. Shigihara N[#], Fukunaka A[#](equal contribution), Hara A[#], Komiya K, Honda A, Uchida T, Abe H, Toyofuku Y, Tamaki M, Ogihara T, Hiddinga HJ, Sakagashira S, Koike M, Uchiyama Y, Yoshimori T, Eberhardt NL, Fujitani Y[#], Watada H. Human IAPP-induced pancreatic beta-cell toxicity and its regulation by autophagy. *J Clin Invest.* (2014) in press
2. Bin BH, Hojyo S, Hosaka T, Bhin J, Kano H, Miyai T, Ikeda M, Kimura-Someya T, Shirouzu M, Cho EG, Fukue K, Kambe T, Ohashi W, Kim KH, Seo J, Choi DH, Nam YJ, Hwang D, Fukunaka A, Fujitani Y, Yokoyama S, Superti-Furga A, Ikegawa S, Lee TR and Fukada T. Molecular pathogenesis of Spondylocheirodysplastic Ehlers-Danlos syndrome caused by mutant ZIP13 proteins. *EMBO Molecular Medicine* (2014) in press
3. Tamaki M, Fujitani Y, Hara A, Uchida T, Tamura Y, Takeno K, Kawaguchi M, Watanabe T, Ogihara T, Fukunaka A, Shimizu T, Mita T, Kanazawa A, MO. Imaizumi, Abe T, Kiyonari H, Hojyo S, Fukada T, Kawauchi T, Nagamatsu S, Hiraono T, Kawamori R,

Watada H. The diabetes susceptible gene SLC30A8/ZnT8 regulates hepatic insulin clearance. *J Clin Invest.* 123(10): 4513-4524. (2013)

4. Taniguchi M, Fukunaka A, Hagihara M, Watanabe K, Kamino S, Kambe T, Enomoto S, Hiromura M. Essential role of the zinc transporter Zip9/SLC39A9 in regulating the activation of Akt and Erk in B-cell receptor signaling pathway in DT40 cells. *PLoS One.* 8(3): e58022. (2013)

[学会発表](計5件)

1. 福中彩子、嶋原奈弓、原朱美、小宮幸次、本田彬、藤谷与士夫、綿田裕孝 第51回日本臨床分子医学会学術集会、東京、2014年4月 ヒト IAPP が誘導する膵 細胞傷害とオートファジーによる制御
2. 福中彩子 第3回 Metabolism Scientific forum、東京 2013年12月(招待講演) ヒト IAPP が誘導する膵 細胞傷害とオートファジーによる制御
3. 福中彩子、嶋原奈弓、原朱美、小宮幸次、本田彬、藤谷与士夫、綿田裕孝 第25回分子糖尿病シンポジウム、大阪、2013年12月 ヒト IAPP が誘導する膵 細胞傷害とオートファジーによる制御
4. 福中彩子 第8回 Diabetes Research Forum in Tokyo、東京、2013年10月(招待講演) Human IAPP とオートファジーの膵 細胞における関連性について
5. 福中彩子 トランスポーター研究会 2012、京都、2012年6月(招待講演) 亜鉛トランスポーター複合体による亜鉛要求性酵素の活性化機構の解明

[図書](計6件)

1.福中彩子、宮塚健、綿田裕孝 細胞の発生・分化と可塑性 内分泌・糖尿病・代謝内科. 38(5): 389-392. (2014)

2.福中彩子、藤谷与士夫、綿田裕孝 1 型糖尿病 免疫疾患イラストレイティッド 第 3 部-13.1 272-276 羊土社(2013)

3.福中彩子、藤谷与士夫 亜鉛と糖尿病 亜鉛の機能と健康 第 8 章 189-207 (2013)

4.福中彩子、綿田裕孝 VGF に由来するペプチドは膵 細胞の生存と機能を高めることにより 2 型糖尿病の発症を抑制する diabetes update. 2(3): 2-3. (2013)

5.福中彩子、藤谷与士夫、綿田裕孝 膵臓の発生における Rfx6 の役割 内分泌・糖尿病・代謝内科. 36(3): 231-236. (2013)

6.福中彩子、藤谷与士夫、綿田裕孝 膵 細胞増殖における PDGF の役割 内分泌・糖尿病・代謝内科. 35(3): 238-241 (2012)

6 . 研究組織

研究代表者

福中彩子 (FUKUNAKA, Ayako)

順天堂大学・医学部・研究員

研究者番号 : 60586402