

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 26 日現在

機関番号：34413

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460079

研究課題名(和文) 極長鎖脂肪酸伸長酵素Elovl3の肥満制御における機能と分子機構の解明

研究課題名(英文) Function and its regulatory mechanism of Elovl3 in obesity

研究代表者

藤森 功 (Fujimori, Ko)

大阪薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：70425453

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：肥満を始めとする代謝異常疾患の制御には多くの因子が関わっている。肥満や脂肪細胞の分化制御において、核内受容体であるPPARは重要である。我々は、脂肪細胞において、Elovl3 (Elongation of very long chain fatty acid)が合成するC18:1およびC20:1の極長鎖脂肪酸がPPARによって転写誘導され、一方で、極長鎖脂肪酸が直接、PPARに結合することを明らかにした。また、マウスElovl3に対する抗体を作製し解析を行った。さらに、Elovl3欠損マウスの解析に着手し、現在も進行中であり、作製出来次第、解析を行う。

研究成果の概要(英文)：Many factors are involved in the regulation of obesity. PPAR, a nuclear receptor plays a central role in the regulation of obesity. We identified that the expression of the Elovl3 (Elongation of very long chain fatty acid) gene was activated by PPAR in adipocytes, and the enzymatic products of Elovl3, C18:1 and C20:1 fatty acids bind with PPAR as ligands. We also constructed mouse Elovl3 antibody, and used for analysis. Moreover, the Elovl3 KO mice are constructing.

研究分野：生化学

キーワード：極長鎖脂肪酸 肥満

1. 研究開始当初の背景

脂肪細胞の分化制御において核内受容体である PPAR は中心的な役割を果たしている。本研究の開始前に、主に炭素数 20 個以上からなる極長鎖脂肪酸の伸長酵素である Elovl3 (Elongation of very long chain fatty acid) によって合成される一価不飽和脂肪酸が PPAR のリガンド活性を有することを見出した (Kobayashi and Fujimori, 2012, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*)。そこで、脂肪細胞における Elovl3 の機能およびその制御機構の解明を行うこととした。

2. 研究の目的

Elovl3 の脂肪細胞における役割を調べるために、その遺伝子発現調節機構を解明する。また、生体内での Elovl3 の発現と局在を調べるために、新たに Elovl3 抗体を作製する。さらに、脂肪細胞特異的な Elovl3 遺伝子欠損マウスを作製し、肥満や肥満に起因する代謝異常疾患の制御における Elovl3 と極長鎖脂肪酸の生理的意義と分子制御機構を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

1) ヒト内臓脂肪組織由来初代培養細胞およびマウス 3T3-L1 脂肪細胞の分化過程において発現している極長鎖脂肪酸合成酵素遺伝子について調べた。

2) マウス Elovl3 ポリクローナル抗体を作製した。

3) 3T3-L1 細胞における Elovl3 遺伝子の詳細な発現調節機構を解析した。

4) 脂肪細胞特異的な Elovl3 発現マウスの作製を開始した。

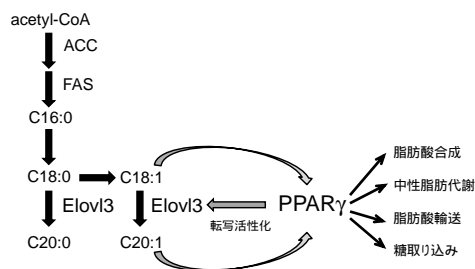
4. 研究成果

肥満の進展過程における白色脂肪組織において、極長鎖脂肪酸合成酵素の一つである Elovl3 が C18:0、C18:1 および C20:0 の極長鎖脂肪酸の伸長反応を触媒することを見出した。Elovl3 は主に肝臓で発現しているが、白色脂肪細胞でも発現していることが分かった。さらに、脂肪細胞においては、脂肪細胞の分化の進展に伴い、発現レベルが上昇した。

使用可能なマウス Elovl3 抗体はないことから、新たにマウス Elovl3 の抗体作製に着手した。他の Elovl ファミリータンパク質と相同性のない (低い) 領域を選定し、アミノ末端及びカルボキシ末端の2箇所のペプチドを合成し、ウサギに免疫してポリクローナル抗体を作製した。その結果、カルボキシ末端側のペプチドを用いて作製した抗体は機能しなかったものの、アミノ末端側のペプチドを用いて作製した抗体は機能し、ウェスタンブロット解析に用いた。しかしながら、Elovl3 は膜タンパク質であるため、その検出には限られた

条件での検出となり、還元剤等での変性タンパク質での検出は可能であったものの、未変性の Elovl3 の検出はできなかった。

マウス脂肪細胞において、Elovl3 の遺伝子発現は、PPAR により制御されることが分かった。また、Elovl3 によって合成される極長鎖脂肪酸である C18:1、C18:2 および C20:1 は PPAR に結合し、その活性を上昇させることが分かった。さらに、複数の核内受容体が Elovl3 の遺伝子発現に関与していることを同定し、現在、詳細な解析を行っている。



Elovl3 欠損マウスの解析に着手し、現在も進行中であり、作製出来次第、解析を行っていく予定である。

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12件)

1. Nagai, S., Wakai, E., Shibano, M., and Fujimori, K. (2016) Anti-obesity effects of Asian dayflower, *Commelina communis*, in mice with high-fat diet-induced obesity and in 3T3-L1 cells. 査読有 *J. Funct. Foods* 22: 490-503. 10.1016/j.jff.2016.02.012
2. Bessho, T., Okada, T., Kimura, C., Shinohara, T., Tomiyama, A., Imamura, A., Kuwamura, M., Nishimura, K., Fujimori, K., Shuto, S., Ishibashi, O., Kubata, K., and Inui, T. (2016) Novel characteristics of *Trypanosoma brucei* guanosine 5'-monophosphate reductase distinct from host animals. 査読有 *PLoS Negl. Trop. Dis.* 10: e0004339. 10.1371/journal.pntd.0004339
3. Watanabe, M., Hisatake, M., and Fujimori, K. (2015) Fisetin suppresses lipid accumulation in mouse adipocytic 3T3-L1 cells by repressing GLUT4-mediated glucose uptake through inhibition of mTOR-C/EBP signaling. 査読有 *J. Agric. Food Chem.* 63: 4979-4987. 10.1021/acs.jafc.5b00821
4. Yuyama, M. and Fujimori, K. (2014) Suppression of adipogenesis by

- valproic acid through repression of USF1-activated fatty acid synthesis in adipocytes. 査読有 *Biochem. J.* 459: 489-503. 10.1042/BJ20131476
5. Fujimori, K., Yano, M., Miyake, H., and Kimura, H. (2014) Termination mechanism of CREB-dependent activation of COX-2 expression in early phase of adipogenesis. 査読有 *Mol. Cell. Endocrinol.* 384: 12-22. 10.1016/j.mce.2013.12.014
 6. Kimura, H. and Fujimori, K. (2014) Activation of early phase of adipogenesis through Krüppel-like factor KLF9-mediated, enhanced expression of CCAAT/enhancer-binding protein in 3T3-L1 cells. 査読有 *Gene* 534: 169-176. 10.1016/j.gene.2013.10.065
 7. Gohda, K., Fujimori, K., Teno, N., Wanaka, K., and Tsuda, Y. (2014) Synthetic substrates specific to activated plasmin can monitor the enzymatic functional status in situ in breast cancer cells. 査読有 *Chem. Biol. Drug Des.* 83: 52-57. 10.1111/cbdd.12232
 8. Fujimori, K. and Shibano, M. (2013) Avicularin, a plant flavonoid, suppresses lipid accumulation through repression of C/EBP β -activated GLUT4-mediated glucose uptake in 3T3-L1 cells. 査読有 *J. Agric. Food Chem.* 61: 5139-5147. 10.1021/jf401154c
 9. Yasuda, K., Cline, C.B., Vogel, P., Onciu, M., Fatima, S., Sorrentino, B.P., Thirumaran, R.K., Ekins, S., Urade, Y., Fujimori, K. and Schuetz, E.G. (2013) Drug transporters on arachnoid barrier cells contribute to the blood-cerebrospinal fluid barrier. 査読有 *Drug Metabol. Dispos.* 41: 923-931. 10.1124/dmd.112.050344
 10. 若井恵里、天野富美夫、裏出良博、藤森 功 (2015) プロスタグランジン D₂ 受容体を介した脂肪蓄積促進機構の解明 脂質生化学研究 57: 254-256. 査読無
 11. 藤森 功 (2014) 脂質メディエーターによる肥満初期の進展制御機構の解明 薬学研究所の進歩 30: 51-56. 査読無
 12. 藤森 功 (2014) 脂質メディエーターの産生制御による肥満抑制を目指した新規肥満抑制剤の開発 大和証券ヘルス財団研究業績集 37: 114-118. 査読無
- 〔学会発表〕(計 35 件)
1. 若井恵里、天野富美夫、裏出良博、藤森 功 脂肪分解におけるプロスタグランジン D₂ の機能解明 日本薬学会第 136 年会 2016 年 3 月 29 日 パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)
 2. 松村美紀、岸保有里奈、天野富美夫、藤森 功 甲状腺ホルモンによる脂肪滴蓄積促進の分子機構 日本薬学会第 136 年会 2016 年 3 月 29 日 パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)
 3. 中尾友香梨、吉原秀人、天野富美夫、藤森 功 バイカレインは脂肪細胞の分化初期の進展を抑制する 日本薬学会第 136 年会 2016 年 3 月 29 日 パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)
 4. 渡邊 稜子、黒瀬拓己、天野富美夫、藤森 功 フィセチンによる 6-OHDA 誘導細胞死の抑制効果の検討 日本薬学会第 136 年会 2016 年 3 月 29 日 パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)
 5. 馬場 静、上野靖明、菊地 崇、天野富美夫、田中麗子、藤森 功 温州ミカンの未熟果皮に含まれる成分による脂肪細胞における脂肪蓄積抑制機構の解析 日本薬学会第 136 年会 2016 年 3 月 29 日 パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)
 6. 福田衣純、木村紘子、天野富美夫、藤森 功 COX-2 プロモーターのメチル化による脂肪細胞の分化制御機構の解明 日本薬学会第 136 年会 2016 年 3 月 29 日 パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)
 7. 若井恵里、天野富美夫、裏出良博、藤森 功 プロスタグランジン D₂ 受容体を介した脂肪分解抑制機構の解明 第 38 回日本分子生物学会・第 88 回日本生化学会合同大会 2015 年 12 月 3 日 神戸国際展示場(兵庫県神戸市)
 8. 松村美紀、岸保有里奈、天野富美夫、藤森 功 甲状腺ホルモンによる脂肪細胞の分化活性化機構の解析 第 65 回日本薬学会近畿支部大会 2015 年 10 月 17 日 大阪大谷大学(大阪府河内長野市)
 9. 中尾友香梨、吉原秀人、天野富美夫、藤森 功 バイカレインによる脂肪細胞分化初期における抑制機構の解明 第 65 回日本薬学会近畿支部大会 2015 年 10 月 17 日 大阪大谷大学(大阪府河内長野市)
 10. 若井恵里、天野富美夫、裏出良博、藤森 功 脂肪細胞におけるプロスタグランジン D₂ 受容体を介した脂肪分解調節機構の解析 第 65 回日本薬学会近畿支部大会 2015 年 10 月 17 日 大阪大谷大学(大阪府河内長野市)
 11. 若井恵里、天野富美夫、裏出良博、藤森 功 プロスタグランジン D₂ 受容体を介し

- た脂肪分解抑制機構の解明 フォーラム 2015：衛生薬学・環境トキシコロジー 2015年9月17日 神戸学院大学(兵庫県神戸市)
12. 松村美紀、岸保有里奈、天野富美夫、藤森 功 甲状腺ホルモンによる脂肪細胞の分化促進機構 フォーラム 2015：衛生薬学・環境トキシコロジー 2015年9月17日 神戸学院大学(兵庫県神戸市)
 13. 中尾友香梨、吉原秀人、天野富美夫、藤森 功 植物フラボノイドであるバイカレインによる脂肪細胞分化抑制機構の解明 フォーラム 2015：衛生薬学・環境トキシコロジー 2015年9月17日 神戸学院大学(兵庫県神戸市)
 14. 若井恵里、天野富美夫、裏出良博、藤森 功 プロスタグランジン D₂ 受容体を介した脂肪蓄積促進機構の解明 第57回日本脂質生化学会大会 2015年5月29日 一橋大学一橋講堂(東京都千代田区)
 15. 若井恵里、天野富美夫、裏出良博、藤森 功 プロスタグランジン D₂ 受容体を介した脂肪滴蓄積促進機構の解明 第62回日本生化学会近畿支部例会 2015年5月16日 立命館大学(滋賀県草津市)
 16. 松村美紀、岸保有里奈、天野富美夫、藤森 功 甲状腺ホルモンによる脂肪滴蓄積促進機構の解明 第62回日本生化学会近畿支部例会 2015年5月16日 立命館大学(滋賀県草津市)
 17. 中尾友香梨、吉原秀人、天野富美夫、藤森 功 バイカレインによる脂肪細胞分化抑制機構の解明 第62回日本生化学会近畿支部例会 2015年5月16日 立命館大学(滋賀県草津市)
 18. 佐野春佳、角出啓輔、天野富美夫、藤森 功 プロスタグランジン F₂ による筋細胞分化調節機構の解析 日本薬学会第135回大会 2015年3月28日 神戸学院大学(兵庫県神戸市)
 19. 松村美紀、岸保有里奈、天野富美夫、藤森 功 甲状腺ホルモンによる脂肪滴蓄積促進の調節機構の解明 日本薬学会第135回大会 2015年3月28日 神戸学院大学(兵庫県神戸市)
 20. 中尾友香梨、吉原秀人、天野富美夫、藤森 功 バイカレインによる脂肪細胞における脂肪滴蓄積抑制機構の解明 日本薬学会第135回大会 2015年3月28日 神戸学院大学(兵庫県神戸市)
 21. Fujimori, K., Aritake, K., Lazarus, M., Nagata, N., Kamauchi, S., Maruyama, T., Amano, F., and Urade, Y. Acceleration of obesity by prostaglandin D₂ and its metabolites. 6th International Conference on Phospholipase A₂ and lipid mediators (PLM2015) 2015年2月10~12日 京王プラザホテル(東京都)
 22. 櫻本翔子、辻田彩夏、村田幸久、有竹浩介、矢崎美里、天野富美夫、裏出良博、藤森 功 プロスタグランジン D₂ 産生の分子制御機構の解析 第37回日本分子生物学会年会 2014年11月26日 パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)
 23. 藤森 功、若井恵里、有竹浩介、Michael Lazarus、永田奈々恵、天野富美夫、裏出良博 プロスタグランジン類による肥満制御 第35回日本肥満学会大会 2014年10月24日 シーガイア・リゾート(宮城県宮崎市)
 24. 藤森 功、若井恵里、有竹浩介、Michael Lazarus、永田奈々恵、鎌内慎也、丸山敏彦、天野富美夫、裏出良博 プロスタグランジン D₂ とその代謝物による肥満制御 第87回日本生化学会大会 2014年10月16日 京都国際会館(京都府京都市)
 25. 永田奈々恵、柏木香保里、山本利義、有竹浩介、藤森 功、裏出良博 マウス脳に発現する新規 SOX5 スプライシングアイソフォームの機能解析 第87回日本生化学会大会 2014年10月16日 京都国際会館(京都府京都市)
 26. 久武三紘、渡辺真梨奈、天野 富美夫、藤森 功 フィセチンによる脂肪細胞の分化制御の検討 第64回日本薬学会近畿支部大会 2014年10月17日 同志社女子大学(京都府京田辺市)
 27. 永井詩織、天野富美夫、芝野真喜雄、藤森 功 オオボウシバナ(青花)由来フラボノイドによる脂肪細胞の分化抑制第64回日本薬学会近畿支部大会 2014年10月17日 同志社女子大学(京都府京田辺市)
 28. 永島真里子、藤森 功、石橋 宰、乾隆 ヘム代謝産物誘導性神経細胞死に対するヒト由来リポカリン型プロスタグランジン D 合成酵素の保護効果 第36回日本分子生物学会年会 2013年12月6日 神戸国際展示場(兵庫県神戸市)
 29. 永井詩織、天野富美夫、芝野真喜雄、藤森 功 オオボウシバナ(青花)由来フラボノイドによる脂肪細胞の分化抑制 第63回日本薬学会近畿支部大会 2013年10月12日 京都薬科大学(京都府京都市)
 30. 三宅永華、矢野睦美、木村紘子、天野富美夫、藤森 功 脂肪細胞分化初期におけるCOX-2遺伝子の発現調節機構 第63回日本薬学会近畿支部大会 2013年10月12日 京都薬科大学(京都府京都市)
 31. 久武三紘、渡辺真梨奈、天野富美夫、藤森 功 フィセチンによる脂肪細胞の分化抑制機構 第63回日本薬学会近畿支部大

会 2013年10月12日 京都薬科大学（京都府京都市）

32. 岸保有里奈、天野富美夫、藤森 功 甲状腺ホルモンは脂肪細胞の脂肪滴蓄積を促進する フォーラム2013：衛生薬学・環境トキシコロジー 2013年9月13日 九州大学百年講堂（福岡県福岡市）
33. 永田奈々恵、柏木香保里、山本利義、黄志力、藤森 功、裏出良博 成熟マウス脳に発現する新規 SOX5 スプライシングアイソフォームの機能解析 第86回日本生化学会大会 2013年9月13日 パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）
34. 渡辺真梨奈、久武三紘、天野富美夫、藤森 功 植物フラボノイドであるフィセチンによる脂肪蓄積抑制機構の解析第86回日本生化学会大会 2013年9月13日 パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）
35. 永田奈々恵、柏木香保里、山本利義、黄志力、藤森 功、裏出良博 マウス脳に発現する新規 SOX5 スプライシングアイソフォームの機能解析 日本睡眠学会第38回定期学術集会 2013年6月27日 秋田キャッスルホテル（秋田県秋田市）

〔図書〕(計1件)

1. Fujimori, K. and Urade, Y. (2014) Transcriptional regulation in adipogenesis through PPAR -dependent and -independent mechanisms by prostaglandins. 1164: 177-196, Transcription Factor Regulatory Networks. *Methods in Molecular Biology* (Eds.: Miyamoto-Sato, E., Ohashi, H., Sasaki, H., Nishikawa, J.-i., Yanagawa, H.) Springer, Berlin, Heidelberg, Germany. 10.1007/978-1-4939-0805-9_15

〔産業財産権〕

出願状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.oups.ac.jp/kenkyu/kenkyuushi/taiseitaibougyo.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者 藤森 功 (Ko Fujimori)
大阪薬科大学・薬学部・准教授
研究者番号：70425453

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
なし