

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：82601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26460184

研究課題名(和文) 白色脂肪の褐色化：RXRアゴニスト・有機スズによる制御とその機構

研究課題名(英文) RXR agonists and tributyltin have the ability to induce white-to-brown fat conversion.

研究代表者

最上 知子(Nishimaki-Mogami, Tomoko)

国立医薬品食品衛生研究所・生化学部・主任研究官

研究者番号：90174333

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：白色脂肪細胞と褐色脂肪細胞は発生系列が異なり、エネルギー貯蔵と熱産生の別個の役割を持つ。核内受容体RXRアゴニストPA024は高脂肪食マウスの酸素消費量を増大し、肥満を抑制した。本研究ではメカニズムを解析し、PA024投与により白色脂肪組織に褐色脂肪に特徴的な遺伝子群が顕著に発現することを示した。褐色化は白色脂肪前駆細胞のPA024直接処理により、また他の合成RXRアゴニストやトリブチルスズによっても認められた。

研究成果の概要(英文)：White adipose tissue (WAT) and brown adipose tissue (BAT) have distinct developmental origins and distinct functions of energy storage and heat production, respectively. We previously found that RXR agonist PA024 prevented high-fat diet-induced obesity and increased oxygen consumption in mice. In this study, we investigated the mechanism. We found that administration of PA024 to mice led to increases in brown fat-selective gene expression in WAT. PA024 was shown to have the ability to directly induce brown fat-gene expression in white preadipocytes. The same effect was also caused by other synthetic RXR agonists and tributyltin.

研究分野：生化学/衛生化学

キーワード：RXRアゴニスト 白色脂肪組織 白色脂肪褐色化 ベージュ細胞分化 トリブチルスズ

1. 研究開始当初の背景

白色脂肪組織と褐色脂肪組織は、それぞれエネルギー貯蓄と脂肪燃焼による熱産生の別個の役割を持ち、発生系列も異なっている。研究代表者らは、核内受容体 RXR の合成アゴニスト PA024 が善玉コレステロール HDL の産生を促進し (*Biochem Pharmacol* 76:1006,2008) 動脈硬化を抑制する作用を明らかにした。その過程で、PA024 が高脂肪食投与によるマウスの肥満を抑制する顕著な効果を見いだしている。摂餌量は低下させず、酸素消費量が増加した。白色脂肪組織では脂肪細胞の肥大化が抑制され、白色脂肪の性状変化が予想された。そこで脂肪組織の遺伝子発現解析を開始し、PA024 投与マウスでは、白色脂肪組織において *Ucp1* など褐色脂肪組織に特徴的な遺伝子の発現が亢進する予備的知見を得ている。

白色脂肪組織が褐色脂肪の性質を獲得する「白色脂肪の褐色化」は、寒冷刺激やカテコールアミン産生の持続的亢進時に生じることが知られる。近年、白色脂肪組織中に、刺激に反応して高レベルの UCP1 を発現し、褐色脂肪細胞のように熱産生を行う「ベージュ細胞」と呼ばれる細胞集団が見いだされた。ベージュ細胞の遺伝子発現プロファイルは褐色脂肪組織の細胞とは異なっているが、その起源と分化機構には不明な点が多い。

核内受容体 RXR は PPAR や LXR、RAR など様々な核内受容体とヘテロダイマーを形成し、RXR アゴニストは相手受容体のリガンド無しでもヘテロダイマーによる転写を活性化させる。しかしながら、研究代表者らは、活性化できる RXR ヘテロダイマーの種類は RXR アゴニストの化学構造により異なることを見いだした (*Biochem Pharmacol*, 2008)。また内分泌攪乱物質トリブチルスズが PA024 と同様に LXR/RXR や RXR/RXR を活性化する能力を明らかにしている (*Biochem Pharmacol*, 81:819, 2011)。トリブチルスズは強力な脂肪細胞分化促進作用が知られる一方、*in vivo* では肥満抑制作用が報告され、PA024 と同様の褐色化作用を有する可能性が推定される。

2. 研究の目的

本研究においては、(1)RXR アゴニスト PA024 が白色脂肪を褐色化するメカニズムを、褐色細胞と同様に熱産生を促進する「ベージュ細胞」への分化誘導に着目して解析する。また(2)RXR アゴニスト活性を有する内分泌攪乱物質トリブチルスズなどの有機スズ化合物が PA024 と同様に白色脂肪の褐色化/ベージュ細胞分化を誘導する可能性を検証することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) PA024 による白色脂肪組織の褐色化については、高脂肪食 (Western Diet) 負荷マウスに PA024 を投与し、白色脂肪組織 (精巣上体周囲脂肪組織) の mRNA 発現を解析し検討した。先行研究である動脈硬化抑制研究において使用した雄性アポ E(-/-)マウス (PA024 は 10 週間混餌投与) および野生型 C57BL マウス (10 週間混餌投与) より組織を採取、RNA を抽出した。*in vitro* での検討は、マウス精巣上体周囲脂肪組織より調製された脂肪前駆細胞画分、あるいはマウス皮下脂肪より調製された脂肪前駆細胞画分を培養し、PA024 やレチノイド等を 6 日間処理した。mRNA 発現量は定量的リアルタイム RT-PCR で測定した。

(2) RXR アゴニストや有機スズ化合物の RXR ヘテロダイマー特異性については、PPAR、PPAR、PPAR、LXR、LXR、FXR、RAR について RXR と共発現し、レポーターアッセイにより対象化合物のアゴニスト活性を評価した。

4. 研究成果

(1) RXR アゴニスト PA024 による白色脂肪の褐色化機構

白色脂肪組織の遺伝子発現変化

先行の動脈硬化抑制研究において RXR アゴニスト PA024 が動脈硬化モデル雄性アポ E(-/-)マウスの、高脂肪食負荷による体重増加を 50%程度抑制し、白色脂肪である精巣周囲脂肪組織の組織重量を低下、脂肪細胞を小型化させる現象を見いだしたことから、本研究では、脂肪組織の遺伝子発現解析を詳細に進めた。

対照群および PA024 投与群それぞれ 3 例ずつの遺伝子発現アレイデータについて、有意に ($p < 0.05$) 2 倍の変動が認められる遺伝子を選択し、クラスタリング解析を行ったところ、PA024 投与群の白色脂肪組織の遺伝子発現は、対照群の白色脂肪組織よりむしろ褐色脂肪組織に近い結果を得た。そこで全例数 ($n=10,9$) について、定量的リアルタイム RT-PCR により、脂肪組織における mRNA 発現をさらに詳細に解析した。PA024 投与により、白色脂肪組織においてアドレナリン 3 受容体 *Adrb3* や *Cidea*、*Ppara* など褐色脂肪細胞に特徴的な遺伝子や *Bmp7* や *Ppargc1a* (*PGC-1a*) など褐色脂肪細胞分化に重要な転写因子の発現が有意に増加した。またミトコンドリア内膜の遺伝子やエネルギー産生に関わる遺伝子群が有意に増加し、ミトコンドリアの脱共役因子 *ucp1* は劇的な上昇傾向を示した。一方、褐色脂

肪組織においては *Adrb3* や *Ucp1* の発現増加は認められなかった。野生型である雄性 C57BL マウス（高脂肪食負荷）においても同様に、PA024 投与により白色脂肪組織（精巢上体周囲脂肪）において褐色脂肪組織に特徴的な遺伝子の発現上昇が認められた。

白色脂肪前駆細胞での褐色/ベージュ遺伝子発現の促進

近年、白色脂肪組織において熱産生を行うベージュ細胞の存在が明らかにされている。そこで精巢上体周囲脂肪組織由来の脂肪前駆細胞培養系を用いて検討したところ、PA024 処理により *Cidea* の劇的な発現上昇ならびに *Ucp1* の増加を認めた。白色脂肪組織のなかでは、内臓脂肪に比較し、皮下脂肪組織により顕著な褐色化/ベージュ化が報告されている。そこで皮下脂肪組織由来の脂肪前駆細胞培養系を用いて検討したところ、PA024 処理により *Ucp1* の発現はさらに劇的に増加し、*Adrb3*、*Cidea* の顕著な増加が観察された。増加は PA024 濃度に依存しており、またアドレナリン受容体刺激に代替して細胞内 cAMP 量を増加する forskolin は、PA024 の効果を相乗的に増加させた。一方、ベージュ化/褐色化分化因子として知られる *Ppargc1a* (*PGC-1a*)、*Ppara* や *Prdm16* などの発現量に変化は無かった。白色脂肪組織の褐色化/ベージュ化としてノルエピネフリン、肝の分泌する FGF21、心房性ナトリウム利尿ペプチドなどが知られるが、これらの液性因子は共通して褐色脂肪組織も活性化する。本研究により、PA024 の作用は白色脂肪組織に選択的であり、PA024 は前駆細胞に直接作用し、ベージュ細胞への分化を促進する機構が明らかになった。

合成レチノイドの効果

PA024 の RXR ヘテロダイマー特異性について検討し、すでに報告した PPAR α 、LXR α 、LXR β に加え、PPAR γ 、PPAR δ 、FXR とのヘテロダイマー複合体を単独で（PA024 のみで）活性化すること、RAR α とのヘテロダイマー複合体は単独では活性化せず、RAR α アゴニストへの相乗効果を示すことを確認した。したがって、PA024 は RXR のみに選択的に作用する rexinoid であり、RXR ヘテロダイマーを広く活性化する汎 RXR アゴニスト LG268 に類似の特異性を示すことが判明した。

皮下脂肪組織由来の脂肪前駆細胞において、LG268 は PA024 と同様に *Ucp1* ならびに *Cidea* の発現を顕著に増加させた。RXR アゴニスト HX630 は限定されたヘテロダイマー活性化能を持つが、やや弱い効果を示し、RAR 選択的アゴニスト Am80 は効果を示さなかった。したがって、PA024 の効果は RXR を介するものであり、RXR アゴニストは直接に脂肪前駆細胞のベージュ化を促進する作用を有することが明らかになった。この結果は、ベージュ細胞の増加によりメタボリックシンドロームを抑制する創薬研究に貢献することが期待される。

(2) 有機スズ化合物の白色脂肪の褐色化能

有機スズ化合物の RXR ヘテロダイマー活性化活性

有機スズ化合物であるトリブチルスズの各種 RXR ヘテロダイマー活性化能を調べると、既に報告した LXR、既報の PPAR に加え、PPAR、RAR についても単独でヘテロダイマーを活性化し、FXR についてはアゴニストへの相乗効果のみ示すことを明らかにした。ジブチルスズ (DBTC) については単独での活性化能は示さず、アゴニストへの相乗効果は PPAR、FXR ヘテロダイマーについてのみ観察された。

トリブチルスズの白色脂肪前駆細胞ベージュ化褐色化活性

トリブチルスズの皮下脂肪組織由来脂肪前駆細胞への効果を検討すると、*Ucp1*、*Cidea*、*Adrb3* の顕著な増加を認めた。PA024 とは異なり *Pparg* や *Ppargc1a* の発現も増加した。したがって、トリブチルスズは既報の白色脂肪細胞分化作用に加え、脂肪前駆細胞のベージュ化分化を促進する作用を有することが示された。この結果は、海洋汚染による食物連鎖からほ乳類等への生態影響が懸念されているトリブチルスズのリスク評価の端緒となることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

最上-重本由香里、崔 紅艶、佐藤陽治、影近弘之、首藤紘一、最上(西巻)知子：RXR アゴニスト PA024 はマウス白色脂肪組織の遺伝子発現を変化させ肥満を抑制する 日本レチノイド研究会第 27 会学術集会 (2016.10)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

該当なし

6．研究組織

(1)研究代表者

最上 知子 (Nishimaki-Mogami, Tomoko)

国立医薬品食品衛生研究所・生化学部・主任研究官

研究者番号：9 0 1 7 4 3 3 3