

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07959

研究課題名(和文) sPLA2を起点としたメタボリックシンドロームの新規制御機構の解明

研究課題名(英文) Novel regulatory mechanism for metabolic syndrome based on 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)・特任助教

研究者番号：50546629

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)：本研究では多系統のsPLA2欠損マウスをツールとして、sPLA2を起点として動員される脂質代謝経路とそれによる代謝調節の新規メカニズムを解明することを目指した。その結果、(1) sPLA2-11Dは脂肪組織において高度不飽和脂肪酸を動員することにより、メタボリックシンドロームを制御すること、(2) 表皮のsPLA2-111欠損はメタボリックシンドロームを抑えること、(3) 大腸上皮に高発現しているsPLA2-Xはメタボリックシンドロームを抑制することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Recent genetic studies have revealed that individual sPLA2s, which show distinct tissue distributions and substrate preferences, participate in diverse biological events in response to given microenvironmental cues. However, the regulatory roles of sPLA2s in metabolic disorders are not well understood. In this study, I aim to obtain new insights into novel regulatory mechanisms for metabolic diseases by sPLA2-driven extracellular phospholipid metabolism. We found that (1) sPLA2-11D contributes to metabolic health by mobilizing polyunsaturated fatty acids in white adipose tissue; (2) ablation of sPLA2-111 in epidermis ameliorates metabolic syndrome; (3) sPLA2-X, which is highly expressed in the colon epithelium plays a role in amelioration of metabolic syndrome.

研究分野：脂質生化学

キーワード：メタボリックシンドローム リン脂質代謝 ホスホリパーゼA2 脂肪酸 脂肪細胞ベージュ化

1. 研究開始当初の背景

脂質は生命の根源的物質であり、エネルギー・細胞膜成分・シグナル物質として機能する。メタボリックシンドロームの背景には「エネルギー源」「膜」としての脂質の異常が根幹にあるが、加えて「シグナル分子」としての脂質が肥満に関わることを示す知見も蓄積しつつある。PLA₂ はリン脂質を分解して脂肪酸とリゾリン脂質を生成する酵素の一群であり、一般に脂質メディエーター(アラキドン酸や 3 脂肪酸の代謝物、リゾリン脂質等)を動員する鍵酵素として認識されてきた。中でも sPLA₂ は最大のサブグループを形成し、発現部位や基質特異性が異なる 10 種の分子種が存在する。申請者の所属チームは世界に先駆けて sPLA₂ 分子群の欠損マウスに様々な疾患モデルを一大展開し、申請者は特にメタボリックシンドロームを中心に、その一翼を担ってきた(J Clin Invest 2010, Nat Immunol 2013, J Exp Med 2013, Cell Metab 2014)。sPLA₂ と肥満の関連については従来報告がなかったが、申請者は最近、肥満の白色脂肪細胞において sPLA₂-V が誘導され、リポタンパク質のリン脂質の代謝を調節することを発見した(Cell Metab 2014)。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。

2. 研究の目的

肥満やインスリン抵抗性などのメタボリックシンドロームの根幹には脂質代謝異常および慢性炎症がある。申請者は肥満の脂肪細胞から分泌される細胞外リン脂質代謝酵素(分泌性ホスホリパーゼ A₂: sPLA₂)として「PLA2G5」と「PLA2G2E」を同定し、更に遺伝子改変マウスを用いた解析を通じて、この 2 種の酵素が肥満、高脂血症、インスリン抵抗性の制御に関わる「メタボリック sPLA₂」として機能することを提唱した。さらに、異なる部位に時空間的に発現する複数の sPLA₂ をメタボリックシンドロームの制御因子の新規候補として見出している。本研究ではこれらの知見を更に進展させ、sPLA₂ アイソザイムを起点としたメタボリックシンドロームの新規制御機構を明らかにし、もって代謝制御因子としての「メタボリック sPLA₂」の概念を確立する。

3. 研究の方法

(1) sPLA₂-IID のメタボリックシンドロームへの寄与の解明

樹立済の sPLA₂-IID 全身性及びマクロファージ特異的欠損マウス(8 週齢)に高脂肪食負荷を施し、肥満、インスリン抵抗性、脂肪組織炎症、エネルギー代謝等の表現型を精査した。

上記の系で脂肪組織のリピドミクス解析を行い、責任脂質代謝物を同定した。

野生型マウスの骨髄細胞を M-CSF 存在化で 3 日間培養し、骨髄由来マクロファージを調整し、2) で同定された脂質代謝物の添加によるマクロファージの形質変化について精査した。

(2) sPLA₂-III のメタボリックシンドロームへの寄与の解明

レシピエントおよびドナーには野生型あるいは sPLA₂-III 欠損マウスを用いる。レシピエントマウスに X 線を 10 Gy 照射した。ドナーマウスから骨髄細胞を単離し、レシピエントマウスの尾静脈から投与した(10⁷ 細胞)。4 週間定着させた後、高脂肪食負荷実験を行い、sPLA₂-III 欠損マウスのメタボリックシンドローム改善が骨髄系および非骨髄系の sPLA₂-III が重要であるか検証した。

sPLA₂-III 皮膚特異的欠損マウスを作成し、sPLA₂-III 皮膚特異的欠損マウス(8 週齢)に高脂肪食負荷を施し、肥満、インスリン抵抗性、耐糖能等の表現型を精査した。

(3) sPLA₂-X のメタボリックシンドロームへの寄与の解明

樹立済の sPLA₂-X 全身性欠損マウス(8 週齢)に高脂肪食負荷を施し、肥満、インスリン抵抗性、脂肪組織炎症、エネルギー代謝等の表現型を精査した。

sPLA₂-X コンディショナル欠損マウスと上皮特異的 Cre マウスを交配させ、sPLA₂-X 大腸上皮特異的欠損マウスを作成した。

4. 研究成果

(1) sPLA₂-IID のメタボリックシンドロームへの寄与の解明

sPLA₂-IID は白色脂肪組織の抗炎症性 M2 マクロファージに構成的に発現しており、全身性またはマクロファージ特異的 sPLA₂-IID 欠損マウスでは高脂肪食負荷によるメタボリックシンドローム(肥満、脂肪組織炎症、インスリン抵抗性)の表現型が増悪した。白色脂肪細胞のベージュ化を促進する低温(4℃)暴露、あるいは 3 アドレナリン受容体アゴニストの投与により、皮下および内臓脂肪では *Ucp1* や *Cidea* などの熱産生関連遺伝子やベージュ化促進因子 FGF21 の発現が誘導されたが、sPLA₂-IID 欠損マウスではこの応答が有意に減少し、これに呼応してエネルギー消費及び熱産生の低下が認められた。脂肪組織のリピドミクス解析の結果、通常食下の sPLA₂-IID 欠損マウスでは対照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。マウス骨髄由来マクロファージを飽和脂肪酸(パルミチン酸)で刺激し、そこに PUFA を添加すると、M1 マーカーの発現誘導が脂肪酸受容体である GPR120 依存的に抑制された。

(2) sPLA₂-III のメタボリックシンドロームへの寄与の解明

脂肪組織において sPLA₂-III は免疫細胞と前脂肪細胞に分布していた。高脂肪食負荷によるメタボリックシンドローム（肥満、脂肪組織炎症、インスリン抵抗性）の表現型が軽減した。骨髄キメラ実験の結果、骨髄系と非骨髄系の双方の細胞に発現している sPLA₂-III が重要であるが、非骨髄系の寄与がより大きいことがわかった。更に、HFD 負荷 *Pla2g3* 欠損マウスの脂肪組織では、脂肪細胞分化を促進する脂質メディエーター PGD₂ や、インスリン抵抗性に関わるリゾホスファチジルコリン (LPC) の量が有意に低下していた。しかしながら、sPLA₂-III は代謝関連組織に殆ど発現しておらず、皮膚に高発現している。*Pla2g3* 欠損マウスは皮膚バリアが乱れ、アレルギーが増悪する。このことから、sPLA₂-III 欠損の肥満改善の表現型の根本は表皮バリア異常に起因することを想定し、新たに皮膚特異的 *Pla2g3* 欠損マウスを作成し、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調べた。その結果、全身性の *Pla2g3* 欠損マウスと同様に、皮膚特異的 *Pla2g3* 欠損マウスは高脂肪食負荷による肥満、インスリン抵抗性、耐糖能の表現型が改善した。

(3) sPLA₂-X のメタボリックシンドロームへの寄与の解明

全身性 sPLA₂-IID 欠損マウスでは高脂肪食負荷によるメタボリックシンドローム（肥満、脂肪組織炎症、インスリン抵抗性）の表現型が増悪した。sPLA₂-X は代謝関連組織に殆ど発現しておらず、大腸上皮に高発現している。sPLA₂-X は、 ω 3 脂肪酸を動員して GPR120 依存的に大腸の急性炎症を抑制する (*J Biol Chem.* 2016)。高脂肪食負荷は腸管に慢性炎症と腸内細菌叢の変化を引き起こし、全身の免疫・代謝に二次的な影響を及ぼす。このことから、sPLA₂-X 欠損マウスの肥満増悪の表現型が大腸恒常性の乱れから生じるものと想定し、新たに腸管特異的 *Pla2g10* 欠損マウスを作成した。今後このマウスに HFD 負荷を施す予定である。

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 8件)

Yamamoto K, Miki Y, Sato H, Murase R, Taketomi Y, Murakami M. Secreted

phospholipase A₂ specificity on natural membrane phospholipids. **Methods Enzymol.** 583, 101–117 (2017). 査読有 DOI : 10.1016/bs.mie.2016.09.007.

Murakami M, Yamamoto K, Miki Y, Murase R, Sato H, Taketomi Y. The roles of the secreted phospholipase A₂ gene family in immunology. **Adv. Immunol.** 132, 91–134 (2016). 査読有 DOI : 10.1016/bs.ai.2016.05.001.

佐藤弘泰, 村上誠 : ホスホリパーゼ A₂ と肥満. **Annual Review 2016 糖尿病・代謝・内分泌** pp.94-103 (2016) 査読無

Peña L, Meana C, Astudillo AM, Lordén G, Valdearcos M, Sato H, Murakami M, Balsinde J, Balboa MA. Critical role for cytosolic group IVA phospholipase A₂ in early adipocyte differentiation and obesity. **Biochim Biophys Acta.** 1861, 1083-1095 (2016). 査読有 DOI :10.1016/j.bbali.2016.06.004.

Yamamoto K, Miki Y, Sato H, Nishito Y, Gelb MH, Taketomi Y, Murakami M. Expression and function of group IIE phospholipase A₂ in mouse skin. **J. Biol. Chem.** 291, 15602–15613 (2016). 査読有 DOI :10.1074/jbc.M116.734657.

Sato H, Taketomi Y, Murakami M. Metabolic regulation by secreted phospholipase A₂. **Inflamm. Regener.** 36, 7 (2016). 査読有 DOI : 10.1186/s41232-016-0012-7.

Murase R, Sato H, Yamamoto K, Ushida A, Nishito Y, Ikeda K, Kobayashi T, Yamamoto T, Taketomi Y, Murakami M. Group X phospholipase A₂ releases 3 polyunsaturated fatty acids to suppress colitis and promote sperm fertility. **J. Biol. Chem.** 291, 6895–6911 (2016). 【共筆頭著者】 査読有 DOI : 10.1074/jbc.M116.715672.

Murakami M, Sato H, Miki Y, Yamamoto K, Taketomi Y. A new era of secreted phospholipase A₂ (sPLA₂). **J. Lipid Res.** 56, 1248–1261 (2015). 査読有 DOI : 10.1194/jlr.R058123.

[学会発表](計 9件)

佐藤弘泰, 武富芳隆, 牛田絢子, 三木寿美, 村上誠. 白色脂肪細胞のベージュ化に関わる Thermogenic sPLA₂ の同定. 第12回炎症・脂質代謝・メタボリサーチフォーラム 2018年3月10日, 東京.

佐藤弘泰, 武富芳隆, 牛田絢子, 三木寿美, 村上誠. 脂肪細胞のベージュ化に関わる sPLA₂ の同定. ConBio2017 2017年12月6日, 神戸.

佐藤弘泰, 牛田絢子, 武富芳隆, 三木寿美, 村上誠. IID 型分泌性ホスホリパーゼ A₂ はメタボリックシンドロームの新規抑制因子である. 第 89 回日本生化学会大会 2016 年 9 月 25 日, 仙台.

武富芳隆, 宮崎拓郎, 佐藤弘泰, 三木寿美, 村上誠. III 型分泌性ホスホリパーゼ A₂ は動脈硬化の新規増悪因子である. 第 89 回日本生化学会大会 2016 年 9 月 25 日, 仙台.

山本圭, 三木寿美, 佐藤弘泰, 武富芳隆, 村上誠. 皮膚の恒常性と病態における二種の sPLA₂ の発現と機能. 第 58 回日本脂質生化学会大会 2016 年 6 月 10 日, 秋田.

砂川アンナ, 武富芳隆, 佐藤弘泰, 小林哲幸, 村上誠. XIIA 型分泌性ホスホリパーゼ A₂ は IgE 依存的な即時型アレルギーを増強する. BMB2015. 2015 年 12 月 1-4 日, 神戸.

佐藤弘泰, 武富芳隆, 村上誠. sPLA₂ を起点としたメタボリックシンドロームの新規制御機構. 第 14 回ホスファチジルセリン研究会. 2015 年 11 月 20 日, 東京. 【招待講演】

村瀬礼美, 武富芳隆, 佐藤弘泰, 山本圭, 山元俊憲, 村上誠. ホスホリパーゼ A₂ 分子群を起点とした脂質代謝経路による大腸炎の制御. 第 37 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム. 2015 年 11 月 19, 20 日, 熊本.

Murase R, Taketomi Y, Sato H, Yamamoto K, Murakami M. Group X sPLA₂ mobilizes ω3 polyunsaturated fatty acid metabolites to protect from colitis. Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation, and Related Diseases. 12-15 Jul 2015. Budapest, Hungary.

〔図書〕(計 0 件)

〔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://lmmhs.m.u-tokyo.ac.jp/>

6. 研究組織
(1) 研究代表者
佐藤 弘泰 (SATO, Hiroyasu)
東京大学・大学院医学系研究科・特任助教
研究者番号：50546629