

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09413

研究課題名(和文)内臓脂肪細胞特異的分化メカニズムの解明

研究課題名(英文)Specific differentiation mechanisms of visceral adipogenic cells

研究代表者

宮田 佑吾 (Yugo, Miyata)

東京工業大学・バイオ研究基盤支援総合センター・研究員

研究者番号：70623453

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：臨床的・疫学的に、内臓脂肪の蓄積・機能異常がメタボリックシンドロームの発症基盤である。しかし内臓脂肪蓄積による機能異常を科学的・実験的に究明する手法が確立されていない。申請者らはこれまでに前駆内臓脂肪細胞を同定しており、内臓脂肪細胞を*in vitro*で培養する実験系を構築してきた。さらに、*in vivo*での分化能を示す実験において各脂肪細胞が特異的な分化メカニズムを持っていることを示した。

研究成果の概要(英文)：A large number of papers have shown that fat accumulation and the dysfunction of visceral adipose tissue cause abnormalities in whole body metabolic homeostasis. Recently, we developed a practical *in vitro* culture system for mesenteric adipocytes. Using the system, specific differentiation mechanisms of *in vitro* mesenteric adipogenic cells was shown.

研究分野：脂肪細胞

キーワード：メタボリックシンドローム

1. 研究開始当初の背景

1987年に「内臓脂肪症候群」という概念が提唱されて以降、内臓脂肪と皮下脂肪の異なる特性に関しては多くの知見が得られている。しかし、それらは生理学的・生化学的観点からの解析であり、「なぜ内臓脂肪と皮下脂肪の特性が異なるか」を分子生物学的な手法を用いて根本的に解明した報告はほとんどない。その大きな理由として、内臓脂肪細胞および皮下脂肪細胞において *in vitro* で両者の差異を検討できる実験系が存在しないことが挙げられてきた。この問題点を解決するために申請者は各脂肪組織由来 *in vitro* adipogenic cell を同定した。内臓脂肪である腸間膜脂肪組織および鼠蹊部の皮下脂肪組織から間質-血管画分細胞を単離し、その分画の細胞に対して100種類以上の幹細胞関連表面抗原の発現をフローサイトメトリーにて半網羅的に検討した。次に有意に発現が確認された30個の表面抗原に関して、その発現の有無で細胞をセルソーターによって分取、さらに培養を行った。そして分取・培養した細胞が前駆脂肪細胞であるかを判定するため、複数の方法で脂肪細胞へと分化誘導処理を施すことにより分化効率を検討した。その結果、lin(-), CD29(+), CD34(+), CD9(-), CD201(+), Sca-1(-)細胞が mesenteric *in vitro* adipogenic cell であること、lin(-), CD29(+), CD34(+), CD90(+) が subcutaneous *in vitro* adipogenic cell であることを見出した。さらに、各 *in vitro* adipogenic cell は、同じ条件で培養したにもかかわらず得られた成熟脂肪細胞の性質が異なることが分かった。従って、内臓脂肪細胞と皮下脂肪細胞は前駆脂肪細胞の段階で性質が異なっていることが示唆された。

2. 研究の目的

以上のように、各成熟脂肪細胞の性質が異なっていることは示されてきたが、その分化様式については全く検討されてこなかった。そこで、申請者が同定した各 *in vitro* adipogenic cell を用いて、各細胞の分化様式の検討を行った。

現在までに 3T3-L1 前駆脂肪細胞株での検討により IGF-1 や TGF- β などの分泌因子から PPAR γ や C/EBP などの転写因子まで、数々の分化制御因子が報告されている (Cristancho et al. Nat Rev Mol Cell Biol. 2011)。しかもそれらの多くはメタボリックシンドロームなど病態の発症・進展に深く関与していることが知られている (Osborn et al. Nat Med. 2012)。本研究で各脂肪細胞特異的分化促進因子、特に内臓脂肪細胞特異的分化促進因子が同定されれば、その因子を創薬標的とすることによって、新しいタイプの治療薬の開発に応用できる。

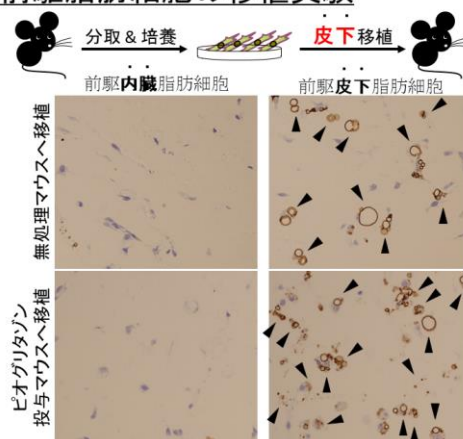
3. 研究の方法

各 *in vitro* adipogenic cell の分化メカニズムに差異があるかを検討するため、まず、*in vivo* での分化実験を行う。各 *in vitro* adipogenic cell を皮下脂肪および内臓脂肪組織に移植し、各部位で分化するかを検討する。さらに、脂肪細胞分化のマスターレギュレーター転写因子である PPAR γ のアゴニストを用いて、分化が促進されるかを検討する。また、*in vitro* での検討も行う。

4. 研究成果

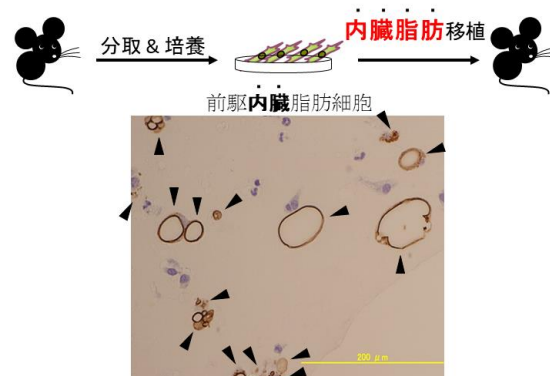
前駆皮下脂肪細胞は皮下に移植すると分化する一方で (図1 上段右)、前駆内臓脂肪細胞は皮下に移植しても分化しなかった (図1 上段左)。さらに、PPAR γ アゴニストであるピオグリタゾンを経投したマウスの皮下に移植してもほとんど分化しなかった (図1 下段左)。

図1. 前駆脂肪細胞の移植実験



しかし内臓脂肪に移植すると約 70-80%の細胞が分化した (図2)。

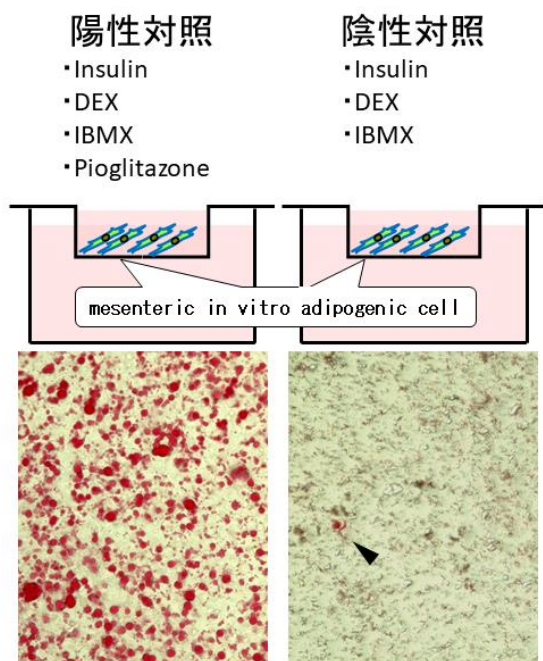
図2. 前駆脂肪細胞の移植実験



以上より、各 in vitro adipogenic cell で分化機構が異なっていることが示され、mesenteric in vitro adipogenic cell が分化するには内臓脂肪組織由来の液性因子が必要であることが考えられた。しかもそれが、今まで脂肪細胞分化の中心因子として知られていた PPAR γ に非依存的な経路である可能性も示唆された。

次に、mesenteric in vitro adipogenic cell の分化に内臓脂肪組織由来の液性因子が必要かを検討した。まず、共培養系の基盤となる実験系の構築を試みた (図3)。

図3. 共培養系

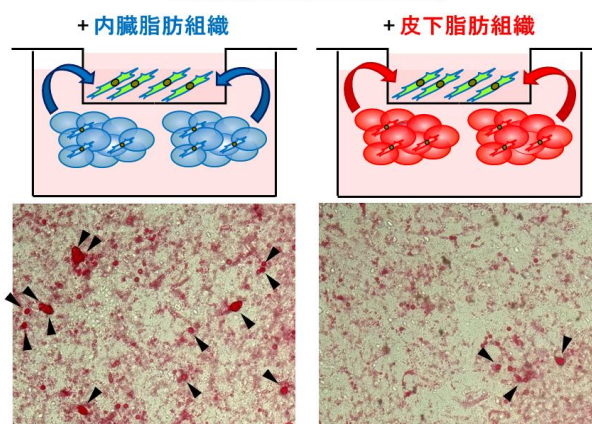


トランズウェルの上段に in vitro adipogenic cell を播種し、ピオグリタゾンを含む分化培地で処理することにより、分化が確認された。一方で、ピオグリタゾン不含の培地で処理してもほとんど分化しなかった。

次に、mesenteric in vitro adipogenic cell と各脂肪組織の共培養を行った。ピオグリタゾン不含の培地で処理しているにもかかわらず、内臓脂肪組織と共培養すると、mesenteric in vitro adipogenic cell の分化が確認された (図4左)。一方で、皮下脂肪組織と共培養してもほとんど分化しなかった (図4右)。

以上より、皮下脂肪組織および内臓脂肪組織由来の in vitro adipogenic cell の分化メカニズムは、それぞれ異なっていることが示された。また、mesenteric adipogenic cell の分化には内臓脂肪組織由来の液性因子が必要であることが示された。

図4. mesenteric in vitro adipogenic cell と各脂肪組織の共培養



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 1 件)

① Yugo Miyata, Michio Otsuki, Shunbun Kita & Iichiro Shimomura
Identification of Mouse Mesenteric and Subcutaneous in vitro Adipogenic Cells. Scientific Reports volume 6, Article number: 21041 (2016) 査読有り

[学会発表] (計 0 件)

[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]
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮田 佑吾 (MIYATA, Yugo)
東京工業大学・バイオ研究基盤支援総合センター・研究員
研究者番号：70623453

(2) 研究分担者

大月 道夫 (OTSUKI, Michio)
大阪大学・医学系研究科・講師
研究者番号：00403056

福原 淳範 (HUKUHARA, Atsunori)
大阪大学・医学系研究科・寄附講座准教授
研究者番号：00437328

下村 伊一郎 (SHIMOMURA, Ichiro)
大阪大学・医学系研究科・教授
研究者番号：60346145

小林 祥子 (KOBAYASHI, Sachiko)
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号：80649111