

令和元年6月4日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15539

研究課題名(和文) 脂肪酸結合蛋白質FABP7による脂質ラフト機能調節メカニズムの解明

研究課題名(英文) The role of FABP7 in the regulation of lipid raft function

研究代表者

香川 慶輝 (Kagawa, Yoshiteru)

東北大学・医学系研究科・助教

研究者番号：30728887

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：脂肪酸の摂取は脳の発達に非常に重要であり、その摂取障害は精神疾患を引き起こす。しかし、その脳内分子基盤については不明である。本研究では、脳アストロサイトに強く発現し、その細胞内脂質動態を制御する脂肪酸結合蛋白質 FABP7に着目し、その機能発現メカニズムの解明を試みた。明らかになった主な点は、1) FABP7は脂肪酸と結合することで核内アセチルCoA生成に重要な酵素と相互作用を持ち、その活性を制御すること、2) FABP7に制御される核内アセチルCoAの量に依存して、エピゲノム変化が生じること、3) 脂質ラフトの骨格蛋白質caveolin-1の発現がエピジェネティックに制御されていること、である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、細胞内脂質環境の変化が新たな蛋白質相互作用を生み出し、エピゲノム変化に影響を及ぼすことが示唆される。さらに詳細な解析を加えることで、FABP7が関与する精神疾患病態や癌バイオロジーの解明及びそれら疾患の治療創薬の開発に大きく貢献できると考える。

研究成果の概要(英文)：Fatty acids intake is very important for brain development as lack of fatty acids intake is associated with mental disorders. However, the involving molecular mechanism based on brain development is still unknown. In this study, we focused on the fatty acid binding protein FABP7, which is strongly expressed in brain astrocytes and regulates its intracellular lipid dynamics by trying to elucidate its functional role in the neuronal cells. The main points that have become clear are: 1) FABP7 interacts with enzymes that are important for nuclear acetyl-CoA production by binding to fatty acids, and controlling their activity, 2) Epigenetic changes occur depending on the amount of acetyl CoA regulated by FABP7, 3) the expression of the lipid raft scaffold protein caveolin-1 is epigenetically regulated.

研究分野：神経科学、分子生物学

キーワード：脂肪酸結合蛋白質 FABP7 アストロサイト 脂質ラフト エピゲノム ヒストンアセチル化 アセチルCoA ATP-citrate synthase

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

長鎖脂肪酸は細胞内で転写・エネルギー代謝・細胞膜の構成など様々な細胞内機能を持つ。近年、ドコサヘキサエン酸 (DHA) などの n-3 系長鎖脂肪酸の摂取・添加が、脳の高次機能形成や神経疾患の改善、癌増殖の抑制などの効果をもたらすことが数多く報告されている。しかし、長鎖脂肪酸は水に不溶性であるため、細胞内でその機能を発揮するためにはキャリアーを必要とする。脂肪酸結合蛋白質 (FABP) は長鎖脂肪酸を可溶化することで、細胞内脂肪酸動態を制御すると考えられているが、未だその蛋白質機能には不明な点が多い。

申請者は脳アストロサイトに強く発現する脳型 FABP (FABP7) に着目し、精緻な機能解析を行っている。申請者らは国内外に先んじて FABP7-KO マウスの樹立及び FABP7-KO マウスのアストロサイト初代培養を用いた解析を行い、FABP7-KO マウスで脳の DHA 量が減少し、恐怖増加などの情動行動異常を示すこと (Owada et al. 2006)<sup>1</sup>、FABP7-KO マウス脳の内側前頭前野のニューロンが異常形態を示すこと (Ebrahimi et al. 2016)<sup>2</sup>、FABP7 がアストロサイトの増殖に関与すること (Sharifi et al. 2011)<sup>3</sup> を報告してきた。さらにこれら表現型における FABP7 の分子機序解明の過程で、FABP7 が細胞外刺激応答において非常に重要な役割を果たす脂質ラフト (カベオラ) の機能制御に関与すること (Kagawa et al. 2015)<sup>4</sup> を見出した。

### 2. 研究の目的

これまでに我々が得た知見を総合的に考えると、FABP7-KO マウス及びアストロサイトにおける表現型の原因として、“FABP7 蛋白質欠損による細胞内脂質動態異常により脂質ラフトを介した細胞外部刺激応答が変化し、恒常的にアストロサイトの細胞活性が低下し、神経可塑性変化が引き起こされる”ことが予想される。そこで、FABP7 による脂質ラフト機能制御機構の解析に加え、FABP7 による脂質動態制御機構を明らかにすることで、脂質ラフトを介して FABP7 が関与する精神疾患病態や癌バイオロジーの解明に大きく貢献できると考える。

具体的には、FABP7 の細胞内局在が変化が外部刺激応答のプラットフォームである細胞膜脂質ラフトの構成因子の発現及び脂質ラフトの形成に及ぼす影響を詳細に検討した。

### 3. 研究の方法

- (1) FABP7 の局在及びその局在別の脂質動態変化が脂質ラフト機能・形成に及ぼす影響を検討  
脂質ラフト構成蛋白質 caveolin-1 の転写制御機構を分子生物学的に検討  
脂質ラフトの形成を形態学的に検討
- (2) 蛋白質相互作用に焦点を当て、局在別 FABP7 の機能及び FABP7 をキャリアーとする脂肪酸の機能を解析

### 4. 研究成果

(1) 局在別の FABP7 の機能を検討するために FABP7 に核移行・核外移行シグナルを付与したコンストラクトを用いて、過剰発現系細胞を作製した。この細胞を用いて、FABP7 の核局在が、caveolin-1 mRNA 発現が顕著に増加・転写調節領域の DNA メチル化レベルが低下・同領域のヒストンのアセチル化レベルが増加することを見出した。

また、脂肪酸結合ドメインに変異が入った FABP7 を過剰発現させたモデル細胞も作成した。脂肪酸結合ドメインに変異を入れた時、FABP7 は核に移行することが出来なくなり、細胞質に局在することを確認した (図 1)。また、野生型 FABP7 を過剰発現させた細胞では、caveolin-1 mRNA 発現、ヒストンのアセチル化レベルが増加するのに対し、変異がある場合、コントロールと同等であった。

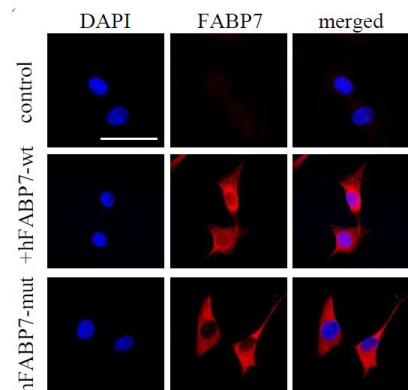


図 1. 野生型 FABP7、変異型 FABP7 を強制発現させた細胞 (未発表データ)

野生型 FABP7、脂肪酸結合ドメイン変異型 FABP7 を過剰発現させたモデル細胞を用い、電子顕微鏡で、脂質ラフトの形態を観察した。野生型 FABP7 過剰発現細胞では、カベオラの形成又はカベオソーム (カベオラが細胞内に陥入した初期エンドソーム) が増加していたのに対し、変異型はコントロールと同等のレベルを示すことが明らかになった (図 2)。

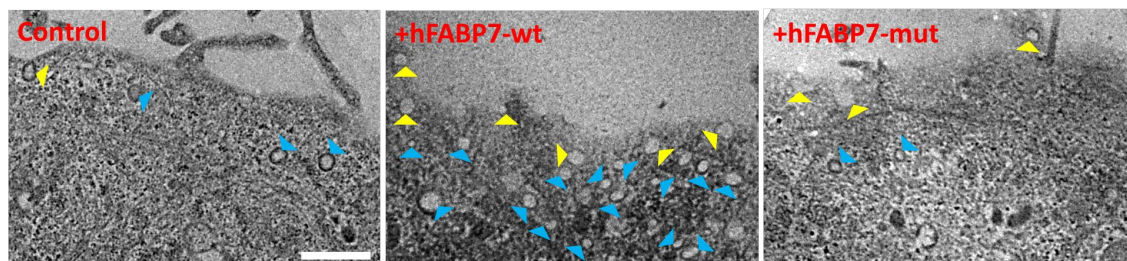


図 2. 野生型 FABP7、変異型 FABP7 を強制発現させた細胞の脂質ラフト (カベオラ、カベオソーム) 像を電子顕微鏡で観察した (未発表データ)

(2) FABP7 と相互作用をもつ蛋白質を同定する為に、組み換え蛋白質を作成した。同時に、脂肪酸結合ドメイン変異型の FABP7 も作成した。まず、免疫沈降法、質量分析により、FABP7 と相互作用をもつ 356 種類の蛋白質を同定した。これらの中で、脂肪酸結合ドメイン変異型 FABP7 とは結合できない蛋白質が 303 種類あること、さらにその上位に ATP-citrate lyase (ACLY) を見出した。ACLY は核内 Acetyl CoA の生成にとって重要な酵素の 1 つであることから、我々は FABP7 と ACLY の相互作用がエピゲノム変化の起因となっていると仮説を立て、更なる解析を行った結果、FABP7 の発現に依存して核内 Acetyl CoA の量が変化すること、FABP7 は ACLY と結合することで ACLY の活性を高める、いわゆる“補酵素”的な役割を果たしていることを見出した (図 3)。

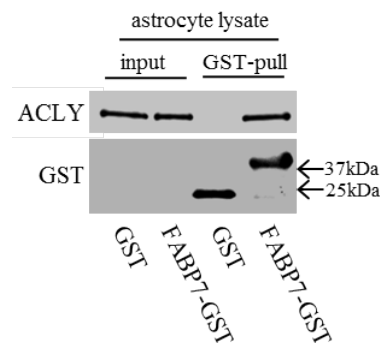


図 3 .FABP7 と ACLY の結合を GST-pull down 法で検討した (未発表データ)

#### <引用文献>

Owada et al. Altered emotional behavioral responses in mice lacking brain-type fatty acid-binding protein gene. *Eur J Neurosci.* (2006) 24, 175-187.

Ebrahimi et al. Astrocyte- expressed Fabp7 regulates dendritic morphology and excitatory synaptic function of cortical neurons. *Glia* (2016) 64, 48-62.

Sharifi et al. FABP7 expression in normal and stab injured brain cortex and its role in astrocyte proliferation. *Histochem Cell Biol.* (2011) 136,501-13.

Kagawa et al. Fatty acid-binding protein 7 regulates function of caveolae in astrocytes through expression of caveolin-1. *Glia* (2015) 63, 780-94.

#### 5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 5 件)

Kagawa Y, Umaru BA, Islam A, Shil SK, Miyazaki H, Yamamoto Y, Ogata M, Owada Y. Role of fatty acid binding protein 7 in tumor cell signaling. *Adv Biol Regul.*, 査読有り, 71:206-218. doi: 10.1016/j.jbior.2018.09.006. 2019

Islam A, Kagawa Y, Miyazaki H, Shil SK, Umaru BA, Yamamoto Y, Yasumoto Y, Owada Y. FABP7 protects astrocytes against ROS toxicity via lipid droplet formation. *Mol Neurobiol*, 査読有り, doi: 10.1007/s12035-019-1489-2. 2019 [Epub ahead of print]

Kamizato K, Sato S, Shil SK, Umaru BA, Kagawa Y, Yamamoto Y, Ogata M, Yasumoto Y, Okuyama Y, Ishii N, Owada Y, Miyazaki H. The role of fatty acid binding protein 7 in spinal cord astrocytes in a mouse model of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Neuroscience.*, 査読有り, 30;409:120-129. doi: 10.1016/j.neuroscience.2019.03.050. 2019 [Epub ahead of print]

Yamamoto Y, Kida H, Kagawa Y, Yasumoto Y, Miyazaki H, Islam A, Ogata M, Yanagawa Y, Mitsushima D, Fukunaga K, Owada Y. FABP3 in the anterior cingulate cortex modulates the methylation status of the glutamic acid decarboxylase67 promoter region. *J Neurosci.*, 査読有り, 5;38(49):10411-10423. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1285-18. 2018

Yasumoto Y, Miyazaki H, Ogata M, Kagawa Y, Yamamoto Y, Islam A, Yamada T, Katagiri H, Owada Y. Glial fatty acid binding protein (FABP7) regulates neuronal leptin sensitivity in the hypothalamic arcuate nucleus. *Mol Neurobiol.*, 査読有り, 55(12):9016-9028. doi: 10.1007/s12035-018-1033-9. 2018

[学会発表](計 7 件)

香川慶輝, Umaru Banlanjo Abdulaziz, 大和田祐二 脂肪酸結合蛋白質 FABP7 と ATP-citrate lysis(ACLY)の相互作用による核内 Acetyl CoA の量的調節機構 第 124 回日本解剖学会総会全国学術集会(朱鷺メッセ,新潟, 2019 年 3 月 29 日)

Umaru Banlanjo, Yoshiteru Kagawa, Yuji Owada Fatty acid binding protein 7 (FABP7) promotes glial cell proliferation through modulation of Wnt/ -catenin signaling 第 124 回日本解剖学会総会全国学術集会(朱鷺メッセ,新潟, 2019 年 3 月 29 日)

宮崎啓史, 神里賢勇, 佐藤匠、香川慶輝, 大和田祐二 脱髄疾患におけるアストロサイトの脂肪酸結合蛋白質 FABP7 の機能的役割の検討 第 124 回日本解剖学会総会全国学術集会(朱鷺メッセ,新潟, 2019 年 3 月 29 日)

Shil Subrata, Fumika Nanto, Hirofumi Miyazaki, Yoshiteru Kagawa, Yui Yamamoto, Yuji Owada Role of mitochondrial complex 1 and its subunit Ndufs4 in the regulation of glial and neuronal mitochondrial morphology and function 第 124 回日本解剖学会総会全国学術集会(朱鷺メッセ,新潟, 2019 年 3 月 29 日)

Yoshiteru Kagawa, Umaru Banlanjo, Yuji Owada Role of FABP7 in astrocytes and its possible association with psychiatric diseases. Kick-off Symposium of Advanced Graduate Program for Future Medicine and Health Care(星稜オーデトリウム, 仙台 2019 年 3 月 5 日)

香川慶輝, 大和田祐二 細胞核内 FABP7 と ATP citrate lyase (ACLY) の相互作用によるエピゲノム制御機構 第 41 回日本分子生物学会(パシフィコ横浜, 横浜市, 2018 年 11 月 28 日)

香川慶輝, 大和田祐二 脂肪酸結合タンパク質の細胞核局在がエピゲノム変化におよぼす影響 第 59 回日本組織細胞化学会総会 シンポジウム「遺伝子発現のエピジェネティック制御とその破綻」(宮崎市民プラザ, 宮崎市, 2018 年 9 月 30 日)

〔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：  
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：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.organ-anatomy.med.tohoku.ac.jp/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。