

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2006～2009

課題番号：18590092

研究課題名（和文） 細胞内脂肪滴形成の分子機構に関する研究

研究課題名（英文） A study on lipid droplet biogenesis in mammalian cells

研究代表者

深澤征義(FUKASAWA MASAYOSHI)

国立感染症研究所・細胞化学部・室長

研究者番号：20291130

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：生化学 脂肪滴

1. 研究計画の概要

脂肪滴はほぼ全ての体細胞に認められる一種のオルガネラで、中性脂肪貯蔵・膜脂質代謝・エネルギー産生などに密接に関与すると考えられている。細胞内において脂肪滴量は極めてダイナミックに変動するが、その生成・消失機構及びその制御についてほとんどわかっていない。医学薬学的見地からも脂肪滴は肥満・脂肪肝等の本因であり、その形成メカニズムを知ることは、これらに付随した病態の解析・治療にも有用である。そこで、細胞内脂肪滴の形成メカニズムを明らかにすることを本研究の目的とする。研究計画としては、体細胞変異株を用いた遺伝学的な手法とプロテオミクスを用いた生化学的手法を用い細胞内脂肪滴の形成メカニズムに重要な因子を同定し、その関与機構を解析することである。さらに、脂肪滴形成を制御する薬剤の開発を試みることである。

2. 研究の進捗状況

遺伝学的な取り組み

樹立に成功した脂肪滴の形成不全細胞株の解析から、アセチル CoA カルボキシラーゼ 1 が脂肪滴形成に必須の分子であることを示した。さらに、アセチル CoA カルボキシラーゼ活性を阻害する薬剤のスクリーニングから、アセチル CoA カルボキシラーゼ活性の阻害を示す新規薬剤も共同研究により同定した。さらに、本薬剤による脂肪滴蓄積阻害も確認された。

生化学的な取り組み

ヒト各種培養肝細胞より脂肪滴画分を精

製・分離し、脱脂後画分を LC-MS/MS 等を用いプロテオーム解析を行い、100 種類近い脂肪滴タンパク質を同定できている。脂肪滴構造タンパク質 (ADRP、TIP47 など)、膜輸送タンパク質 (Rab 蛋白など)、脂質代謝酵素が比較的多く検出されたものの、それ以外にも広範にわたる各種機能を有するタンパク質が同定された。また、機能未知のタンパク質も多数同定された。これらの分子が細胞内脂肪滴形成に関わっているかを検討することは非常に興味深い。

3. 現在までの達成度

当初の計画を予想以上に達成できている点としては新規に見いだしたアセチル CoA カルボキシラーゼ 1 阻害剤による脂肪滴形成阻害を明らかにしたことである。

また、脂肪滴形成に欠損を有する細胞株のさらなる分離については計画通り進んでいる。

計画道半ばのものとしては、分離した欠損株の欠損因子の同定であり、実験系の難しさもあり進んでいない。また、同定した多数の脂肪滴構成タンパク質の脂肪滴形成への関与についても、解析対象が非常に多く、現在進行中である。

4. 今後の研究の推進方策

脂肪滴形成に異常を示す他の体細胞変異株について脂質代謝等の解析を進め、欠損因子の同定を試みる。

プロテオーム解析により同定した多数の脂肪滴構成タンパク質について、RNAi などの手法を用いて脂肪滴形成過程への関与を調べる。

5. 代表的な研究成果

(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 2 件)

- ① Sato, S., Fukasawa, M., Yamakawa, Y., Natsume, T., Suzuki, T., Shoji, I., Aizaki, H., Miyamura, T., and Nishijima, M. "Proteomic profiling of lipid droplet proteins in hepatoma cell lines expressing hepatitis C virus core protein." *J. Biochem.* 139, 921-930 (2006) 査読有
- ② Fukasawa M., Tanaka Y, Sato S, Ono Y, Nitahara-Kasahara Y, Suzuki T, Miyamura T, Hanada K, Nishijima M. "Enhancement of de novo fatty acid biosynthesis in hepatic cell line Huh7 expressing hepatitis C virus core protein." *Biol. Pharm. Bull.* 29(9): 1958-61 (2006) 査読有

[学会発表] (計 5 件)

- ① 深澤征義、西島正弘 Isolation of a mammalian cell mutant defective in lipid droplet biogenesis The 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology/11th FAOBMB Congress, Kyoto, Japan, 2006. 6. 18-23
- ② 深澤征義、田中康仁、小野祐仁、佐藤慈子、鈴木哲朗、宮村達男、花田賢太郎、西島正弘 Enhancement of de novo fatty acid biosynthesis in hepatic cell line Huh7 expressing hepatitis C virus core protein The 13th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Cairns, Australia, 2006. 8. 27-31
- ③ 深澤 征義、田中康仁、佐藤慈子、笠原 優子、鈴木 哲朗、宮村 達男、花田 賢太郎、西島 正弘 C型肝炎ウイルスコア蛋白質発現培養肝細胞における脂肪酸生合成の上昇 日本薬学会第127年会、富山、2007. 3. 28-30
- ④ 小林翔、松田大介、深澤征義、西島正弘、花田賢太郎、司書毅、供田洋 ACC1 阻害剤による脂肪滴蓄積阻害活性 日本薬学会第128年会、横浜、2008. 3. 26-28
- ⑤ 松田大介、小林翔、深澤征義、西島正弘、花田賢太郎、司書毅、供田洋 キサントン誘導体による脂肪滴蓄積阻害活性は acetyl-CoA carboxylase の阻害によるのだろうか? 第50回日本脂質生化学会、徳島、2008. 6. 5-6