

平成 21 年 5 月 25 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19790056

研究課題名（和文） 腸間膜白色脂肪組織形成における FGF 受容体 2 の役割と
その分子メカニズムの解明研究課題名（英文） The roles and mechanisms of Fgf receptor 2 in development
of mesenteric white adipose tissue.

研究代表者

小西 守周 (KONISHI MORICHIKA)

京都大学・薬学研究科・助教

研究者番号：00322165

研究成果の概要：

腸間膜白色脂肪組織の形成において、FGF 受容体 2 が間質血管に発現する FGF9 をリガンドとして、おそらくエネルギー消費を抑制し、その結果、脂肪脂肪のサイズが増加（肥大）することが明らかになった。また、FGF 受容体 2 のリガンドの候補として期待した FGF21 は、代謝状態に合わせて脂肪細胞のトリグリセリドの分解に重要な役割を果たすものの、FGF 受容体 2 のリガンドではないことが明らかになった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 19 年度	1,700,000	0	1,700,000
平成 20 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	480,000	3,780,000

研究分野：薬学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：脂肪組織、FGF、組織形成、細胞分化、代謝調節

1. 研究開始当初の背景

細胞内にトリグリセリドからなる大きな脂肪滴を有する白色脂肪細胞が主要な構成細胞である白色脂肪組織は、生体の余剰エネルギーを蓄積する器官というだけでなく、生体のエネルギー代謝を調節する重要な器官である。白色脂肪組織の過形成である肥満症では、白色脂肪組織の機能不全が起こり、その結果、全身の糖脂質代謝調節に異常が起こる。従って、白色脂肪組織の形成、機能のメカニズムの解明は重要な研究課題である。また全身の白色脂肪組織のうち、内臓に位置す

る腸間膜白色脂肪組織は、特に全身代謝に重要であり、腸間膜白色脂肪組織の形成、機能の分子メカニズムは特に重要である。

Fgf (fibroblast growth factor) は様々な臓器、器官の形成に重要な役割を果たす細胞間シグナル因子であり、現在 22 種類の Fgf が同定されている。これら 22 種類の内、我々は Fgf10 遺伝子欠損マウス新生児の白色脂肪組織において、脂肪滴の蓄積の抑制及び細胞数の減少による、著しい形成不全が起こることを見出した。さらに、胎児において、Fgf10 が自己分泌/傍分泌的に、前駆脂肪細胞の増殖と、成熟脂肪細胞への分化を促進すること

を明らかにした。

一方、白色脂肪組織形成過程では、前駆脂肪細胞の増殖、分化に加え、成熟脂肪細胞の肥大化も重要である。そこで我々は成熟脂肪細胞において役割を果たす FGF シグナリングが存在することを期待し、まず成熟脂肪細胞に発現する受容体を検討した。その結果、4種類の FGF 受容体の内、FGF 受容体 2 が前駆脂肪細胞に比較して成熟脂肪細胞に高発現することを見いだした。従って、成熟脂肪細胞において FGF 受容体 2 が重要な役割を果たすことが期待されたが、FGF 受容体 2 遺伝子ノックアウトマウスは胎生期において死亡するため、脂肪組織についての解析は行えない。そこで、成熟脂肪細胞特異的な FGF 受容体 2 遺伝子欠損マウスを作製し解析を試みた。その結果、FGF 受容体 2 が腸間膜白色脂肪組織特異的に、成熟脂肪細胞のサイズの増大（肥大化）を促進していることが明らかになった。また、腸間膜白色脂肪組織に発現する FGF 受容体 2 は、当初期待した FGF10 とは結合親和性が低いことが明らかになった。

2. 研究の目的

本研究では腸間膜白色脂肪組織の白色脂肪細胞の肥大の分子メカニズムの同定を目標に解析を行った。特に、肥大化の起こるメカニズムの解明と、FGF 受容体 2 のリガンドの同定を目指した。

また腸間膜白色脂肪組織は全身の代謝調節に重要であることから、腸間膜白色脂肪組織の FGF 受容体 2 を介した全身の糖代謝、脂質代謝調節に関しても検討を試みた。

また、我々が研究を進めている過程において、肝臓において発現する FGF21 について、過剰発現マウスや組換え蛋白質の投与実験の結果が報告された。その結果、FGF21 は白色脂肪組織に作用し、糖、脂質代謝を調節する薬理作用を持つことが示唆された。その結果より、FGF21 が肝臓由来の内分泌因子として、脂肪細胞に作用している可能性が考えられた。そこで、この FGF21 について、FGF 受容体 2 のリガンドとして作用する可能性を考え、遺伝子欠損マウスの作製、解析を行い、その生理的役割の解明を試みた。

3. 研究の方法

成熟脂肪細胞特異的 FGF 受容体 2 遺伝子欠損マウスの表現形質解析により、腸間膜白色脂肪組織の成熟脂肪細胞における FGF 受容

体 2 の作用の分子メカニズムを行った。また、腸間膜白色脂肪組織における各種 FGF リガンドの発現を検討した。以上の検討により得られた情報に基づき、腸間膜白色脂肪組織の器官培養を行い、腸間膜白色脂肪組織における FGF 受容体 2 の作用の分子メカニズムを解明した。

腸間膜白色脂肪組織の FGF 受容体 2 の代謝調節における役割の解明の為に、成熟脂肪細胞特異的 FGF 受容体 2 遺伝子欠損マウスにおける血糖や血中脂質の計測を行った。

さらに、肥満症発症における FGF 受容体 2 の役割の解析の為に、成熟脂肪細胞特異的 FGF 受容体 2 遺伝子欠損マウスを高脂肪食により飼育し、体重等の検討を行った。

FGF21 の生理的役割の解明には、FGF21 遺伝子欠損マウスの作成及び解析を行った。FGF21 遺伝子をネオマイシン耐性遺伝子などに置き換えたターゲティングベクターを作製し、相同組換えにより組換え ES 細胞を作製した。FGF21 遺伝子欠損マウスの表現形質と成熟脂肪細胞特異的 FGF 受容体 2 遺伝子欠損マウスの表現形質を比較し、FGF21 が FGF 受容体 2 のリガンドとして作用する可能性を検討した。

4. 研究成果

成熟脂肪細胞特異的 FGF 受容体 2 遺伝子欠損マウスの腸間膜白色脂肪組織の脂質代謝関連因子の発現を検討したところ、脂肪合成や脂肪分解に関わる因子の発現は変化が見られなかったが、エネルギー消費に関わる因子 UCP2 の発現が亢進していた。従って、FGF 受容体 2 はエネルギー消費を抑制し、その結果脂肪細胞の肥大を亢進するものと考えられた。また、FGF 受容体 2 のリガンドの同定を試みた。一般に FGF は傍分泌因子として働くことから、FGF 受容体 2 に結合親和性があり、かつ腸間膜白色脂肪組織に発現する FGF リガンドを検討したところ、FGF9 が腸間膜白色脂肪組織の血管間質細胞画分に特異的に発現していることを見出した。野生型マウスより腸間膜白色脂肪組織の組織片を調整し、FGF9 を添加培養したところ、UCP2 の発現が抑制されることも明らかにした。以上の結果から、生後の腸間膜白色脂肪組織の形成過程では、FGF9-FGF 受容体 2 のシグナリングにより、エネルギー消費が抑制され、脂肪細胞のサイズが増加することが明らかとなった。

また、成熟脂肪細胞特異的 FGF 受容体 2 遺伝子欠損マウスを高脂肪食で飼育し、肥満症

発症時の FGF 受容体 2 の役割について検討を試みた。5 ヶ月齢まで高脂肪食で飼育したものの、体重や脂肪組織重量に明瞭な差は認められなかった。従って、FGF 受容体 2 を介するシグナリングは肥満症発症過程における脂肪細胞の肥大には関与しないことが示唆された。

FGF 受容体 2 のリガンドの可能性が考えられた FGF21 について、遺伝子改変マウスの作製と解析を行った。FGF21 遺伝子は 3 つのエクソンから構成されており、第 1 エクソンのほとんどと、第 2 エクソン、第 3 エクソンをネオマイシン耐性遺伝子などに組換えたターゲットイングベクターを構築し、組換え ES 細胞を作製し、続いてアグリゲーション法によりキメラマウスを作製した。そのキメラマウスから交配により、FGF21 遺伝子欠損マウスを作製した。FGF21 遺伝子欠損マウスはメンデルの法則に従って出生した。またその後も外見上明らかな表現形質は認められなかった。しかし、8 週齢以降、FGF21 遺伝子欠損マウスは、野生型マウスに比較し体重の増加傾向が観察された。そこで、2 ヶ月齢マウスの組織重量を検討したところ、多くの組織の重量に大きな差は無かったが、白色脂肪組織の重量増加が認められた。この白色脂肪組織の重量増加は、細胞内にトリグリセリドを蓄積した白色脂肪細胞のサイズの増加、すなわちトリグリセリド蓄積の増加が原因であった。従って、FGF21 遺伝子欠損マウスは通常食飼育下で肥満傾向を示すことが明らかになった。この白色脂肪細胞の肥大の分子メカニズムについて検討を行ったところ、FGF21 遺伝子欠損マウスにおいては白色脂肪組織におけるトリグリセリド分解活性の減少と、トリグリセリド分解酵素の発現減少が認められた。また、血中パラメーターを検討したところ、白色脂肪組織におけるトリグリセリド分解の結果生じる遊離脂肪酸濃度の減少が認められた。以上の結果を総合して、FGF21 は白色脂肪組織における脂肪分解を促進し、白色脂肪組織の増大を抑制していることが明らかになった。しかし、FGF 受容体 2 遺伝子欠損マウスの表原形質と FGF21 遺伝子欠損マウスとは異なっていたことから、FGF21 が FGF 受容体 2 のリガンドではないことが明らかとなった。

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 5 件)

1. Kimura I, Konishi M, Asaki T, Furukawa N, Ukai K, Mori M, Hirasawa A, Tsujimoto G, Ohta M, Itoh N, Fujimoto M.

“Neudesin, an extracellular heme-binding protein, suppresses adipogenesis in 3T3-L1 cells via the MAPK cascade.” *Biochem Biophys Res Commun.*, 381, 75-80, 2009, 査読あり

2. Konishi M, Nakamura H, Miwa H, Chambon P, Ornitz DM, Itoh N.

“Role of Fgf receptor 2c in adipocyte hypertrophy in mesenteric white adipose tissue.” *Mol Cell Endocrinol.*, 287, 13-19, 2008, 査読あり

3. Hotta Y, Sasaki S, Konishi M, Kinoshita H, Kuwahara K, Nakao K, Itoh N.

“Fgf16 is required for cardiomyocyte proliferation in the mouse embryonic heart.” *Dev Dyn.*, 237, 2947-2954, 2008, 査読あり

4. Koike N, Kassai Y, Kouta Y, Miwa H, Konishi M, Itoh N.

“Brorin, a novel secreted bone morphogenetic protein antagonist, promotes neurogenesis in mouse neural precursor cells.” *J Biol Chem.*, 282, 15843-15850, 2007, 査読あり

5. Itoh N, Konishi M.

“The zebrafish fgf family.” *Zebrafish.*, 4, 179-186, 2007, 査読あり

[学会発表] (計 2 件)

1. 小西守周、堀田祐平、中村尋俊、伊藤信行

「白色脂肪組織と肝臓における FGF21 の生理的役割の解明」
第 27 回日本肥満学会, 2008 年 10 月 18 日, 大分県, いいちこ会館

2. 中村尋俊、小西守周、王碩、高木寛之、三輪裕幸、伊藤信行

「腸間膜脂肪組織形成における Fgf 受容体 2 の役割の解明」
BMB2007 (第 30 回日本分子生物学会年会 第 80 回日本生化学会大会 合同大会), 2007 年 12 月 13 日, 神奈川県, パシフィコ横浜

〔図書〕（計 2 件）

1. 小西 守周、伊藤 信行

「脂肪細胞増殖，組織形成と FGF10」

The Lipid, メディカルレビュー社, 18,
185-189, 2007 査読あり

2. 小西 守周、伊藤 信行

「脂肪細胞：白色脂肪細胞を中心に褐色脂
肪細胞についても」

糖尿病カレントライブラリー7 脂肪細胞
と脂肪組織, 文光堂, 6-10, 2007 査読
あり

6. 研究組織

(1)研究代表者

小西 守周 (KONISHI MORICHIKA)

京都大学・薬学研究科・助教

研究者番号：00322165

(2)研究分担者

該当無し

(3)連携研究者

該当無し