

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：14303

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K20172

研究課題名（和文）脂肪組織の加齢に伴う慢性炎症におけるFABP5の役割の解明

研究課題名（英文）Analysis of physiological roles of FABP5 in age-related chronic inflammation in adipose tissue

研究代表者

川口 耕一郎（Kawaguchi, Koichiro）

京都工芸繊維大学・応用生物学系・講師

研究者番号：10794274

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）：加齢に伴って発症する脂肪組織の慢性炎症におけるFABP5の役割を明らかにするため、培養細胞およびノックアウトマウスを用いて解析を行った。3T3-L1細胞を用いた解析から、脂肪細胞においてFABP5の発現はNF- κ Bにより主に制御されていることがわかった。また、老齢FABP5ノックアウトマウス由来脂肪組織ではIL-6、IL-18等の発現量が低下していた。これらの炎症性サイトカインはNF- κ Bにより制御されることから、FABP5がNF- κ Bシグナルの制御に関与することが判明した。したがって、加齢した脂肪組織ではNF- κ B-FABP5の炎症活性化ループの存在により炎症が慢性化している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我が国では超高齢化が進行する一方で、人口動態の劇的な変化は現状期待できない。したがって、がんや生活習慣病などの加齢性疾患に対する治療法や予防法の開発は、単に患者のQOL向上に貢献するだけでなく、社会全体の生産性向上ひいては我が国の国力増進につながる。本研究により得られた成果は、加齢性疾患の基盤病態である慢性炎症の病態解明に資するものである。今後さらに本研究を発展させることで、加齢性疾患の予防を通して超高齢化社会における高齢者の健康維持に寄与し、持続可能な少子・高齢化社会の構築が期待できる。

研究成果の概要（英文）：To clarify the role of FABP5 in chronic inflammation of adipose tissue that develops with aging, we analyzed cultured cells and knockout mice. We revealed that FABP5 expression is mainly regulated by NF- κ B in 3T3-L1 adipocytes. In addition, the expression levels of IL-6, IL-18, etc. were decreased in adipose tissue derived from old FABP5 knockout mice. Since these inflammatory cytokines are regulated by NF- κ B, FABP5 could be involved in the regulation of NF- κ B signaling. Thus, it was suggested that chronic inflammation in aged adipose tissue may be due to the presence of an NF- κ B-FABP5 inflammatory activation loop.

研究分野：健康科学

キーワード：慢性炎症 加齢 脂質代謝 脂肪酸 脂肪酸結合タンパク質

1. 研究開始当初の背景

近年、加齢性疾患に共通する基盤病態として慢性炎症が注目されている。なかでも、肥満状態では全身に軽度な慢性炎症が起こっており、これは増大した脂肪組織に炎症が起きている結果であるとわかってきた (Diabetes 56:1517-1526)。一方で、なぜ加齢に伴って脂肪組織で炎症が見られるようになるのか、その分子機構については多くが不明である。また、代謝制御の破綻が様々な加齢性疾患を誘導することが判明し、なかでも脂質恒常性の破綻は細胞老化を加速させ、慢性炎症をはじめとする様々な疾患の発症要因となることが知られている。しかしながら、細胞老化と慢性炎症等の疾患の発症を結びつける分子基盤に関しては未だ確立されていないのが現状である。

我々はこれまでに、上皮細胞型脂肪酸結合タンパク質 (epidermal fatty acid-binding protein, 以下、FABP5) が細胞の代謝制御を介し炎症やがんなどの疾患の発症・進展に関与することを見出している。本研究課題では、生体の脂質恒常性に着目し、培養細胞による細胞老化モデル・加齢育成マウスさらには FABP5 ノックアウトマウスを用いて、加齢に伴って発症する慢性炎症における FABP5 の役割の解明を目指す。

2. 研究の目的

本研究の目的は、脂肪組織における FABP5 の生理的機能を明らかにし、FABP5 を標的とした加齢に伴う慢性炎症に対する新規の診断法・予防法の開発や、FABP5 阻害剤を臨床応用に展開するための分子基盤を確立することである。

3. 研究の方法

(1) 脂肪細胞における FABP5 の発現制御機構の解析

脂肪細胞のモデルとして 3T3-L1 細胞 (マウス脂肪前駆細胞) を脂肪細胞に分化誘導したものをを用いて、パイサルファイトシークエンス法によるプロモーター領域の DNA メチル化解析を行った。さらに、ルシフェラーゼアッセイおよび ChIP アッセイにより脂肪細胞において FABP5 の発現を制御する転写因子を探索した。

(2) 脂肪細胞において FABP5 と相互作用するタンパク質の同定

脂肪細胞での FABP5 を介するシグナル伝達経路の分子機構を明らかにするため、3T3-L1 細胞において FABP5 と相互作用する分子を免疫沈降法などを用いて探索した。

(3) 炎症性シグナル活性化における FABP5 の役割の解明

3T3-L1 細胞において FABP5 発現量を RNAi 法により抑制した場合や、FABP5 阻害剤を培地に添加した場合の炎症性シグナルの変化を定量 PCR 法や ELISA 法で検証した。

(4) 加齢育成 FABP5 ノックアウトマウス由来の脂肪組織における FABP5 の機能解析

18 ヶ月齢の FABP5 ノックアウトマウスおよびコントロールマウス由来の脂肪組織から total RNA を抽出し、各種炎症性サイトカインの発現量を定量 RCR 法で解析した。また、脂肪組織における NF- κ B シグナルの活性化における FABP5 の役割を明らかにするため、FABP5 ノックアウトマウスおよびコントロールマウス由来の脂肪組織における NF- κ B シグナル関連分子の挙動を解析した。

4 . 研究成果

(1) バイサルファイトシーケンス法により FABP5 プロモーター領域の DNA メチル化解析を行った。その結果、脂肪細胞への分化誘導時の経時的変化において、3T3-L1 細胞では FABP5 プロモーター領域は低メチル化状態であることがわかった。また、ルシフェラーゼアッセイおよび ChIP アッセイを用いた FABP5 遺伝子のプロモーター解析の結果、3T3-L1 細胞では FABP5 の発現は NF- κ B により主に制御されていることがわかった。

(2) 3T3-L1 細胞において FABP5 と特異的に相互作用する分子を免疫沈降法などを用いて解析した結果、FABP5 はミトコンドリアの膜タンパク質と相互作用していることが明らかとなった。ミトコンドリアはインフラマソームを介した炎症制御において重要な機能を果たしていることがわかっており、FABP5 はミトコンドリアタンパクとの相互作用により炎症性シグナルの活性化に関与していることが示唆された。

(3) 3T3-L1 細胞において FABP5 発現量を RNAi 法により抑制すると、LPS 誘導性の IL-6 発現量の上昇が顕著に抑制された。また、FABP5 阻害剤である SBF1-26 存在下で培養 (50 μ M, 48h) した 3T3-L1 細胞でも同様に、LPS 誘導性の IL-6 発現量の上昇が顕著に抑制された。

(4) 18 ヶ月齢の FABP5 ノックアウトマウスおよびコントロールマウス由来の脂肪組織から total RNA を抽出し、各種炎症性サイトカインの発現量を定量 RCR 法で解析した。その結果、FABP5 ノックアウトマウス群ではコントロールマウス群と比較して IL-6、IL-18、TNF- α の発現量が低下していることがわかった。一方、これらの炎症性サイトカインの血清中濃度を ELISA 法で解析したところ、mRNA 発現量と同様に FABP5 ノックアウトマウス群で低下する傾向はあるものの、統計学的な有意差は見られなかった。また、脂肪組織における NF- κ B シグナルの活性化における FABP5 の役割を明らかにするため、FABP5 ノックアウトマウスおよびコントロールマウス由来の脂肪組織における NF- κ B シグナル関連分子の挙動を解析した。その結果、FABP5 ノックアウトマウス群では、p65 タンパク質の発現量、およびリン酸化レベルが有意に低下していることがわかった。以上の結果から、脂肪組織において FABP5 は NF- κ B により発現制御されるだけでなく、NF- κ B シグナルの活性化を介して加齢に伴う炎症性シグナルの活性化に関与していることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kawaguchi Koichiro, Komoda Kaori, Mikawa Ryuta, Asai Azusa, Sugimoto Masataka	4. 巻 24
2. 論文標題 Cellular senescence promotes cancer metastasis by enhancing soluble E-cadherin production	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 103022
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2021.103022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kawaguchi Koichiro, Hashimoto Michihiro, Mikawa Ryuta, Asai Azusa, Sato Tadashi, Sugimoto Masataka	4. 巻 2
2. 論文標題 Protocol for assessing senescence-associated lung pathologies in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 STAR Protocols	6. 最初と最後の頁 100993
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.xpro.2021.100993	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kawaguchi Koichiro, Hashimoto Michihiro, Sugimoto Masataka	4. 巻 541
2. 論文標題 An antioxidant suppressed lung cellular senescence and enhanced pulmonary function in aged mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 43～49
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2020.12.112	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kawaguchi Koichiro, Asai Azusa, Mikawa Ryuta, Ogiso Noboru, Sugimoto Masataka	4. 巻 72
2. 論文標題 Age-related changes in lung function in National Center for Geriatrics and Gerontology Aging Farm C57BL/6N mice.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Experimental Animals	6. 最初と最後の頁 173-182
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1538/expanim.22-0109	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------