

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月21日現在

機関番号：34413

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21570151

研究課題名(和文) 脂質メディエーターによる脂肪細胞分化制御の分子基盤

研究課題名(英文) Molecular basis of the regulation of adipogenesis by lipid mediators

研究代表者

藤森 功 (FUJIMORI KO)

大阪薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：70425453

研究成果の概要(和文)：

脂質メディエーターであるプロスタグランジン(PG) E_2 とPGF $_{2\alpha}$ は脂肪細胞ではそれぞれ microsomal PGE synthase-1 および aldo-keto reductase 1B3 によって産生されることが分かった。PGE $_2$ とPGF $_{2\alpha}$ はそれぞれEP4受容体およびFP受容体を介して、COX-2遺伝子の発現を上昇させ、PGE $_2$ とPGF $_{2\alpha}$ を産生増強し、脂肪細胞の初期の分化を協調して抑制することが分かった。また、LC/MS解析から、脂肪細胞ではPGD $_2$ とその代謝物である Δ^{12} -PGJ $_2$ が脂肪細胞の分化を活性化することを見いだした。

研究成果の概要(英文)：

Prostaglandin (PG) E_2 and PGF $_{2\alpha}$, members of lipid mediators, are synthesized by microsomal PGE synthase-1 and aldo-keto reductase 1B3, respectively, in adipocytes, and synergistically suppress the progression of the early phase of adipogenesis. Moreover, these PGE $_2$ and PGF $_{2\alpha}$ enhance the expression of cyclooxygenase-2 gene through their EP4 and FP receptors. We also found that Δ^{12} -PGJ $_2$, one of PGD $_2$ metabolites, activates the adipogenesis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・機能生物化学

キーワード：脂質メディエーター、プロスタグランジン、肥満、分化制御

1. 研究開始当初の背景

脂肪細胞が分化するとき、様々な脂質メディエーターが産生され、脂肪細胞の分化を制御している。しかしながら、脂肪細胞の分化過程では、分化を正および負に制御する複数の

脂質メディエーターが共存しており、その制御系は複雑である。脂質メディエーターの一つであるプロスタグランジン(PG)は脂肪細胞の分化制御に関与しており、例えば、PGE $_2$ とPGF $_{2\alpha}$ は脂肪細胞の初期の分化を抑制する

が、一方で、PGD₂は脂肪細胞の成熟化を促進する。個々の脂質メディエーターの脂肪細胞の分化制御における役割は解明されてきたが、脂肪細胞においてそれぞれのPGを合成する酵素も同定されておらず、また、脂質メディエーターであるPG類全体が脂肪細胞の分化をどのように制御しているかは分かっていなかった。

2. 研究の目的

脂肪細胞の分化過程において産生される脂質メディエーターを経時的に定量し、さらに脂質メディエーターの合成酵素および受容体の遺伝子発現レベルを定量する。これら脂質メディエーター関連遺伝子の脂肪細胞分化過程における時期特異的な発現調節機構を解析する。また、動物を用いて脂質メディエーターによる脂肪細胞分化制御機構を解析し、脂質メディエーターによる脂肪細胞の分化制御の分子基盤を解明することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

1) 脂肪細胞の分化過程で発現する脂質メディエーターの機能解明

脂肪細胞において産生される脂質メディエーターであるPGの合成酵素およびそれらの受容体遺伝子の機能を阻害剤あるいはアンタゴニストを添加あるいはsiRNAをトランスフェクションすることにより、それぞれのPGが脂肪細胞の分化調節において果たす役割を解析した。

2) 脂肪細胞の分化制御に関わる脂質メディエーター関連遺伝子の発現調節機構の解析

脂肪細胞の分化制御に関わるPGの合成酵素および受容体遺伝子のプロモーター解析を行い、発現調節機構を解明した。

3) 脂質メディエーターの受容体シグナル伝達経路の探索

同定されたPGの受容体を介した脂肪細胞分化の制御機構を解明した。

4) 動物を用いた脂質メディエーターの産生制御と肥満との関連の検討

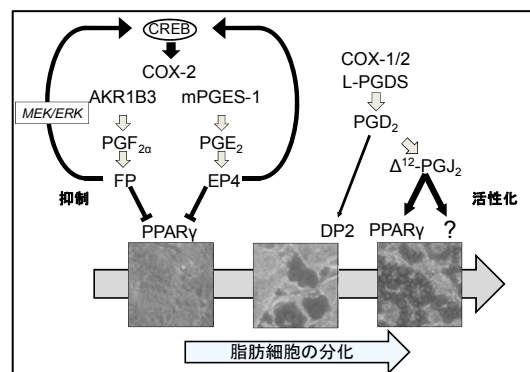
Cre/lox システムを用い、脂肪細胞特異的にPGD₂を合成する酵素であるリポカリン型PGD synthase (L-PGDS) 遺伝子欠損マウスを作製し、肥満制御におけるPGD₂の役割について解析した。

4. 研究成果

脂肪細胞において、PGE₂とPGF_{2α}はそれぞれ microsomal PGE synthase-1 と aldo-keto reductase 1B3 によって合成され、それぞれ

の産生はいずれも脂肪細胞の分化開始とともに上昇し、3時間後をピークとして急減して、以降はいずれも低い産生レベルであった。これらの産生レベルは、COX-2の発現パターンと類似しており、脂肪細胞においてPGE₂とPGF_{2α}の産生はCOX-2の発現レベルによって制御されていることが示唆された。PGE₂とPGF_{2α}はそれぞれEP4受容体およびFP受容体を介してMEK/ERK経路を活性化し、COX-2遺伝子のプロモーター領域の-59の位置に存在するCRE (cyclic AMP-responsive element) にCREBが結合することによりCOX-2遺伝子の発現が上昇することが分かった。さらに、これらの経路が活性化されることにより、PGE₂とPGF_{2α}の産生が増強されることが分かった。EP4受容体とFP受容体の特異的アゴニストおよびアンタゴニストを用いた実験から、PGE₂とPGF_{2α}による脂肪細胞の初期の分化の抑制は、それぞれ独立して起こるがその産生レベルの調節は協調して起こるが、これらのPGによる脂肪細胞の分化初期の進展抑制は短時間のうちに破綻し分化が進展に転ずることが分かった。以上のことから、PGE₂とPGF_{2α}は、受容体を介したポジティブフィードバックによりCOX-2遺伝子の発現を上昇させ、PGE₂とPGF_{2α}の産生増強を伴って脂肪細胞の分化初期の進展を抑制する分子機構が解明された。

また、PGD₂による脂肪細胞分化活性化機構の解析を行い、LC/MS解析から、脂肪細胞ではPGD₂ではなく、PGD₂の代謝物の一つであるΔ¹²-PGJ₂が最も多く存在し、PPARγを介して脂肪細胞の分化を活性化することが分かった。



動物を用いた解析では、PGD₂を過剰産生するマウスを作製し、PGD₂が肥満を促進することを明らかにした。また、脂肪組織におけるPGD₂の機能を解析するために、Cre/lox システムを用いて、脂肪細胞特異的なプロモーターであるFABP4プロモーターにより脂肪細胞特異的にCre recombinaseを発現するマウスとflox/L-PGDSマウスを交配し、脂肪組織特異

的 L-PGDS 遺伝子欠損マウスを作製し解析を開始した。以上のことから、脂質メディエーターである PG は肥満制御に関与しており、それらの産生調節により肥満が制御できることが期待できる。今後、動物の肥満制御における脂質メディエーターの役割について詳細に検討していきたい。

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 16 件)

1. Ueno, T. and Fujimori, K. (2011) Novel suppression mechanism operating in early phase of adipogenesis by positive feedback loop for enhancement of cyclooxygenase-2 expression through prostaglandin $F_{2\alpha}$ receptor-mediated activation of MEK/ERK-CREB cascade. 査読有 *FEBS J.* 278: 2901-2912. 10.1111/j.1742-4658.2011.08213.x
2. Ono, M. and Fujimori, K. (2011) Antiadipogenic effect of dietary apigenin through activation of AMPK in 3T3-L1 cells. 査読有 *J. Agric. Food Chem.* 59: 13346-13352. 10.1021/jf203490a
3. Higashi, K., Kubo, H., Watanabe, H., Fujimori, K., Mikami, T., and Kaneko, H. (2011) Adipokine ganglioside GM2 activator protein stimulates insulin secretion. 査読有 *FEBS Lett.* 585: 2587-2591. 10.1016/j.febslet.2011.07.012
4. Fujimori, K. and Amano, F. (2011) Niacin promotes adipogenesis by reducing production of anti-adipogenic $PGF_{2\alpha}$ through suppression of C/EBP β -activated COX-2 expression. 査読有 *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 94: 96-103. 10.1016/j.prostaglandins.2011.01.002
5. Fujimori, K. and Amano, F. (2011) Forkhead transcription factor Foxal is a novel target gene of C/EBP β and suppresses the early phase of adipogenesis. 査読有 *Gene* 473: 150-156. 10.1016/j.gene.2010.12.002
6. Fujimori, K., Ueno, T., and Amano, F. (2010) Prostaglandin $F_{2\alpha}$ suppresses early phase of adipogenesis, but is not associated with osteoblastogenesis in mouse mesenchymal stem cells. 査読有 *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 93: 52-59. 10.1016/j.prostaglandins.2010.06.005
7. Fujimori, K., Ueno, T., Nagata, N., Kashiwagi, K., Aritake, K., Amano, F., and Urade, Y. (2010) Suppression of adipocyte differentiation by aldo-keto reductase 1B3 acting as prostaglandin $F_{2\alpha}$ synthase. 査読有 *J. Biol. Chem.* 285: 8880-8886.
8. Fujitani, Y., Aritake, K., Kanaoka, Y., Goto, T., Takahashi, N., Fujimori, K., and Kawada, T. (2010) Pronounced adipogenesis and increased insulin sensitivity by overproduction of prostaglandin D_2 in vivo. 査読有 *FEBS J.* 277: 1410-1419. 10.1111/j.1742-4658.2010.07565.x
9. Fujimori, K. and Amano, F. (2010) Involvement of forkhead transcription factor Foxal in adipocyte differentiation of mouse mesenchymal stem cells. 査読有 大阪薬科大学紀要 4: 61-73.
10. Nagata, N., Fujimori, K., Okazaki, I., Oda, H., Eguchi, N.; Uehara, Y., and Urade, Y. (2009) De novo synthesis, uptake, and proteolytic processing of lipocalin-type prostaglandin D synthase, β -trace, in the kidneys. 査読有 *FEBS J.* 276: 7146-7158.
11. Suzuki, H. et al. (160名中40番目) (2009) The transcriptional network that controls growth arrest and differentiation in a human myeloid leukemia cell line. 査読有 *Nature Genet.* 41: 553-562. 10.1038/ng.375
12. 藤森 功 (2011) プロスタグランジンによる脂肪細胞の分化制御の分子機構 査読無 日本応用酵素協会誌 46: 1-12.
13. 藤森 功、上野聡之 (2010) プロスタグランジン受容体を介した脂肪細胞分化シグナル伝達経路の解明 査読無 医科学応用研究財団誌 27: 377-382.
14. 上野聡之、永田奈々恵、柏木香保里、裏出良博、天野富美夫、藤森 功 (2009) 脂肪細胞における PGF 合成酵素の単離と機能解析 査読無 脂質生化学研究 51: 198-200.
15. 矢崎美里、柏木香保里、村田幸久、裏出良博、天野富美夫、藤森 功 (2009) 造血器型プロスタグランジン D 合成酵素のプ

- ロテアソームシステムによる分解機構
査読無 脂質生化学研究 51: 201-203.
16. 藤森 功 (2009) プロスタグランジンD合成酵素 査読無 日本薬理学会誌 134: 343-344.
- [学会発表] (計30件)
1. 柚山美希、天野富美夫、藤森 功 脂肪細胞における HDAC 阻害剤による脂肪酸合成抑制 日本薬学会第132回年会 2012年3月29日 札幌
 2. 小野真冬、天野富美夫、藤森 功 アピゲニンによる AMPK 活性化を介した脂肪細胞の分化抑制 日本薬学会第132回年会 2012年3月29日 札幌
 3. 末松那実子、天野富美夫、藤森 功 神経細胞における H₂O₂ 誘導アポトーシスに対するケルセチンの保護効果 日本薬学会第132回年会 2012年3月29日 札幌
 4. 藤森 功 プロスタグランジンによる脂肪細胞分化制御の分子機構 第3回脂質メディエーターワークショップ 2011年12月17日 滋賀
 5. 柚山美希、天野富美夫、藤森 功 HDAC 阻害剤による脂肪細胞分化抑制機構の解明 第61回日本薬学会近畿支部大会 2011年10月22日 神戸
 6. 末松那実子、天野富美夫、藤森 功 ケルセチンによる神経細胞のアポトーシス抑制機構 第61回日本薬学会近畿支部大会 2011年10月22日 神戸
 7. 小野真冬、天野富美夫、藤森 功 アピゲニンによる脂肪細胞分化抑制機構の解明 第61回日本薬学会近畿支部大会 2011年10月22日 神戸
 8. 木村紘子、天野富美夫、藤森 功 COX-2 のメチル化による脂肪細胞の分化抑制機構の解析 フォーラム 2011 衛生薬学・環境トキシコロジー2011年10月27日 金沢
 9. 矢野睦美、上野聡之、天野富美夫、藤森 功 脂肪細胞における PGE 合成酵素の同定と機能解析 フォーラム 2011 衛生薬学・環境トキシコロジー2011年10月27日 金沢
 10. 篠原貴宏、別所知明、田淵菜奈実、藤森 功、乾 隆 ウシ由来 GMP reductase の発現と機能解析 第84回日本生化学会大会 2011年9月21日 京都
 11. 矢野睦美、上野聡之、天野富美夫、藤森 功 脂肪細胞における PGE 合成酵素の同定と機能解析 第84回日本生化学会大会 2011年9月21日 京都
 12. 木村紘子、天野富美夫、藤森 功 COX-2 のメチル化を介した脂肪細胞の分化制御機構の解析 第84回日本生化学会大会 2011年9月21日 京都
 13. 矢野睦美、上野聡之、天野富美夫、藤森 功 脂肪細胞における PGE 合成酵素の同定と機能解析 第58回日本生化学会近畿支部例会 2011年5月21日 大阪
 14. 木村紘子、天野富美夫、藤森 功 COX-2 のメチル化を介した脂肪細胞の分化制御機構の解析 第5回日本エビジェネティクス研究会年会 2011年5月19日 熊本
 15. 小林長詞、天野富美夫、藤森 功 PPAR γ による脂肪酸伸長酵素 Elovl3 の発現調節機構の解明と脂肪蓄積への関与の検討 BMB2010 第33回日本分子生物学会・第83回日本生化学会合同大会 2010年12月7日 神戸
 16. 上野聡之、天野富美夫、藤森 功 プロスタグランジン F_{2 α} による新たな脂肪細胞分化抑制機構の解明 BMB2010 第33回日本分子生物学会・第83回日本生化学会合同大会 2010年12月7日 神戸
 17. 矢崎美里、天野富美夫、藤森 功 Regulation of prostaglandin D₂ synthesis in response to intracellular calcium level BMB2010 第33回日本分子生物学会・第83回日本生化学会合同大会 2010年12月7日 神戸
 18. 小林長詞、天野富美夫、藤森 功 核内受容体 PPAR γ と脂肪酸伸長酵素 Elovl3 による脂肪細胞分化後期における相互的発現制御機構の解明 フォーラム 2010 衛生薬学・環境トキシコロジー 2010年9月9日 東京
 19. 上野聡之、天野富美夫、藤森 功 脂肪細胞における PGF 合成酵素の同定と PGF_{2 α} による新たな分化抑制機構の解明 第15回アディポサイエンス研究会シンポジウム 2010年8月21日 大阪
 20. Fujimori, K., Ueno, T., Aritake, K., Amano, F., and Urade, Y. Regulation of adipogenesis by prostaglandins. Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology, Bioactive Lipids: Biochemistry and Disease 2010年6月6日 Kyoto
 21. 矢崎美里、柏木香保里、裏出良博、天野富美夫、藤森 功 細胞内カルシウム濃度に応答したプロスタグランジン合成酵素の急速分解機構の解析 第10回日本蛋白質科学会年会 2010年6月6日 札幌

22. 矢崎美里、柏木香保里、裏出良博、天野富美夫、藤森 功 プロスタグランジン D₂ 産生調節の分子基盤 第57回日本生化学会近畿支部例会 2010年5月22日 奈良
23. 矢崎美里、柏木香保里、裏出良博、天野富美夫、藤森 功 プロスタグランジン D₂ 産生調節に関わるプロスタグランジン合成酵素の分解機構 第82回日本生化学会大会 2009年10月21日 神戸
24. 上野聡之、永田奈々恵、裏出良博、天野富美夫、藤森 功 脂肪細胞の分化制御におけるプロスタグランジンの機能解析 第82回日本生化学会大会 2009年10月21日 神戸
25. 遠藤香織、宇野茂之、藤森 功、内藤義一、斎藤幸一、山田幸子、槇島誠 新規ヒト LXR α スプライシング変異体の作用機序の解明 第2回博多シンポジウム 2009年10月9日 福岡
26. 上野聡之、永田奈々恵、裏出良博、天野富美夫、藤森 功 脂肪細胞における Aldo-keto reductase1B ファミリーの発現と機能解析 第56回日本生化学会近畿支部例会 2009年5月23日 大阪
27. 矢崎美里、柏木香保里、裏出良博、村田幸久、天野富美夫、藤森 功 ユビキチン-プロテアソーム系による造血器型プロスタグランジンD合成酵素の分解機構の解明 第56回日本生化学会近畿支部例会 2009年5月23日 大阪
28. 上野聡之、永田奈々恵、裏出良博、天野富美夫、藤森 功 脂肪細胞における Aldo-keto reductase1B ファミリーの発現と機能解析に関する研究 第51回日本脂質生化学会大会 2009年7月30日 名古屋
29. 矢崎美里、柏木香保里、裏出良博、天野富美夫、藤森 功 造血器型プロスタグランジンD合成酵素のプロテアソームシステムによる分解機構 第51回日本脂質生化学会大会 2009年7月30日 名古屋
30. 藤森 功、上野聡之、永田奈々恵、柏木香保里、天野富美夫、裏出良博 プロスタグランジンによる脂肪細胞の分化制御 日本分子生物学会 第9回春季シンポジウム 2009年5月10日 宮崎

アウトリーチ活動

2009年11月12日 大阪府立今宮高等学校
出前講義「人によって薬の効き方が違うのは何故？」(高校2年生対象)

2010年9月30日 大阪府立北千里高等学校
出前講義「病気を治す薬を創る」(高校2年生対象)

2011年11月24日 大阪府立刀根山高等学校
出前講義「病気を治す薬を創る - 創薬研究とは -」(高校2年生対象)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤森 功 (FUJIMORI KO)
大阪薬科大学・薬学部・講師
研究者番号：70425453

(2) 研究分担者

有竹 浩介 (ARITAKE KOSUKE)
大阪バイオサイエンス研究所・分子行動生物学部門・研究員
研究者番号：70390804

(3) 連携研究者

なし

[その他]

ホームページ等

<http://www.oups.ac.jp/kenkyu/kenkyuushitu/seitaibougyo.html>