

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 5月28日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591136

研究課題名（和文）：脂肪滴蛋白 FSP27 が可能にする効率的な細胞内脂肪滴蓄積の分子メカニズムの解明

研究課題名（英文）：Investigation of the mechanism by which FSP27 can efficiently store triglyceride as intracellular lipid droplets.

研究代表者

田守 義和（TAMORI YOSHIKAZU）

神戸大学・大学院医学研究科・戦略的客員教授

研究者番号：90379397

研究成果の概要（和文）：

脂肪細胞において FSP27 が大きなサイズの脂肪滴をつくり出すメカニズムを解明するため、FSP27 の構造機能連関を検討した。この結果、脂肪滴のサイズを増大させるには FSP27 のカルボキシル末端側半分の構造（アミノ酸 130-239 部分：マウス FSP27）が必要十分であることを明らかにした。さらに FSP27 のカルボキシル末端側半分の構造同士は FSP27 の全長と同様にお互い結合しあうことを見いだした。脂肪滴の増大には脂肪滴に局在する FSP27 がカルボキシル末端側で結合し合いお互い脂肪滴同士を融合させる機序が推測された。

研究成果の概要（英文）：

We performed the structure-function analysis of FSP27 to clarify the mechanism by which FSP27 increases the size of lipid droplet in adipocytes. We found that the COOH-terminal domain (amino acid:130-239) of mouse FSP27 was necessary and enough to increase the size of lipid droplet. In addition, we showed that this domain of FSP27 interacted with each other as the full length of FSP27 did. We suppose that FSP27 on lipid droplets can drive the fusion of lipid droplets by interacting with each other through the COOH-terminal domain.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：細胞内脂肪滴、FSP27 結合蛋白

1. 研究開始当初の背景

脂肪細胞には余分なエネルギーを単房性の中性脂肪滴として細胞内に貯蔵する白色脂肪細胞と、多房性に貯蔵した中性脂肪滴を分解し、熱として放出するエネルギー消費細胞である褐色脂肪細胞がある。このように同じ脂肪細胞であっても細胞の性格（エネルギー蓄積かエネルギー消費か）により細胞内の脂肪蓄積形態は異なる。しかし、脂肪細胞がどのようなメカニズムで細胞内の脂肪滴の蓄積形態を制御しているのか不明であった。我々は 2008 年に脂肪細胞に特異的に発現する蛋白 FSP27 (Fat specific protein 27) が白色脂肪細胞における単房性の効率的な脂肪蓄積形態に極めて重要である知見を見いだした。

2. 研究の目的

研究の目的は FSP27 が可能にする単房性の効率的な脂肪蓄積の分子メカニズムの解明である。肥満は脂肪細胞への過剰な中性脂肪の蓄積であり、脂肪肝は肝細胞への過剰な中性脂肪の蓄積である。生活習慣の変化に伴い、近年増加を続ける種々の疾患や病態が細胞内の脂肪蓄積増加と密接な関係がある。このため、細胞内に効率的に中性脂肪を蓄積するメカニズムを解明することは肥満や脂肪肝の病態を明らかにすることに繋がり、医学的にも極めて意義深いことである。

3. 研究の方法

① FSP27 の構造機能解析

マウス FSP27 全長（アミノ酸：1-239）とともに FSP27 の各種変異体（FSP27（1-130）、FSP27（131-239）、FSP27（1-201））を作成し、COS 細胞に過剰発現してそれぞれの変異体の中性脂肪蓄

積能と細胞内局在を検討した。

さらに COS 細胞に FSP27 を過剰発現させて、各種変異体同士の相互作用を検討した。

② FSP27 結合蛋白の同定

FSP27 全長（1-239）、FSP27（1-130）、FSP27（131-239）に flag tag を付加し、293 細胞に過剰発現させた。この細胞の可溶化画分から過剰発現させた FSP27 を flag tag に対する抗体で免疫沈降を行い、免疫沈降された画分から質量分析法を用いて、FSP27 に結合した蛋白を同定した。さらに同定した蛋白が脂肪蓄積に関与するかどうか COS 細胞に過剰発現させて中性脂肪蓄積能を検討した。

4. 研究成果

① FSP27 の構造機能解析

細胞内で安定して大きなサイズの脂肪滴を作り出すには FSP27 のアミノ末端側半分（FSP27（1-130））は不要で、カルボキシル末端側半分の構造（FSP27（131-239））で必要かつ十分なことが明らかとなった。さらにカルボキシル末端側であってもカルボキシル末端から 38 個のアミノ酸が欠如すると（FSP27（1-201））脂肪滴は全く大きくなることを明らかにした。

また、細胞内局在については、FSP27 全長や FSP27（131-239）は細胞内の脂肪滴に局在するが、FSP27（1-130）は脂肪滴に局在できないことを示した。

さらに FSP27 同士はお互い結合してホモダイマーを形成するとともに、FSP27 のカルボキシル末端側構造（FSP27（131-239））同士もホモダイマーを形成することを明らかにした。つまり、FSP27

のカルボキシル末端側半分の構造は脂肪滴への局在にも FSP27 のホモダイマー形成にも必要かつ十分であった。

② FSP27 結合蛋白の同定

FSP27 の構造機能解析の結果、FSP27 の全長に結合する蛋白候補を 3 個、FSP27 のアミノ末端半分に結合する蛋白候補を 2 個、FSP27 のカルボキシル末端半分に結合する蛋白候補を 2 個同定した。

FSP27 の構造機能解析の結果、細胞内脂肪滴のサイズを調節するのは FSP27 のカルボキシル末端側半分 (FSP27 (131-239)) であることが明らかとなったので、FSP27 のカルボキシル末端側に結合する蛋白が重要と考え、FSP27 の全長に加え、この部位に結合する蛋白に注目して検討した。その結果、最終候補を、細胞内空胞の輸送に関与する蛋白および蛋白のメチル化に関わる蛋白の 2 候補に絞って解析した。しかし、この 2 個の候補蛋白は FSP27 には結合するものの、COS 細胞を用いた系では脂肪滴サイズの制御には有意な影響を与えなかった。

以上の結果から、FSP27 はカルボキシル末端側で脂肪滴膜に局在し、FSP27 のカルボキシル末端側を介してお互い 2 つの脂肪滴上の FSP27 が結合してホモダイマーを形成することで、脂肪滴同士を密に結合させ、その結果、脂肪滴膜同士の融合が起こり、脂肪滴が巨大化するものと推測している。

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 12 件)

- ① Matsubara T, Mita A, Minami K, Hosooka T, Kitazawa S, Takahashi K, Tamori Y, Yokoi N, Watanabe M, Matsuo E, Nishimura O, Seino S PGRN is a key adipokine mediating high fat diet-induced insulin resistance and obesity through IL-6 in adipose tissue. *Cell Metab* 15, 38-50, 2011(査読有り)
- ② Jambunathan S, Yin J, Khan W, Tamori Y, Puri V. Regulation of fat specific protein 27 by isoproterenol and TNF- α to control lipolysis in murine adipocytes. *PLoS One* 6: E28614, 2011. (査読有り)
- ③ Ranjit S, Boutet E, Gandhi P, Prot M, Tamori Y, Chawla A, Greenberg AS, Puri V, Czech MP. Regulation of fat specific protein 27 by isoproterenol and TNF- α to control lipolysis in murine adipocytes. *J Lipid Res* 52: 221-236, 2011. (査読有り)
- ④ 田守義和 細胞内脂肪滴形成とインスリン感受性 内分泌・糖尿病・代謝内科 第 33 巻, 第 6 号: p537-544, 2011 (査読無し)
- ⑤ Tateya S, Tamori Y, Kawaguchi T, Kanda H, Kasuga M. An increase in the circulating concentration of monocyte chemoattractant protein-1 elicits systemic insulin resistance irrespective of adipose tissue inflammation in mice. *Endocrinology* 151: 971-979, 2010. (査読有り)
- ⑥ Kawaguchi T, Tamori Y, Kanda H, Yoshikawa M, Tateya S, Nishino N, Kasuga M. The t-SNAREs syntaxin4 and

SNAP23 but not v-SNARE VAMP2 are indispensable to tether GLUT4 vesicles at the plasma membrane in adipocyte. *Biochem Biophys Res Commun* 391: 1336-1341, 2010. (査読有り)

- ⑦ Ueda S, Kitazawa S, Ishida K, Nishikawa Y, Matsui M, Matsumoto H, Aoki T, Nozaki S, Takeda T, Tamori Y, Aiba A, Kahn RC, Kataoka T, Satoh T. Crucial role of the small GTPase Rac1 in insulin-stimulated translocation of glucose transporter 4 to the mouse skeletal muscle sarcolemma. *FASEB J* 24: 2254-2261, 2010. (査読有り)
- ⑧ Kawaguchi T, Tamori Y, Yoshikawa M, Kanda H, Kasuga M. Insulin-stimulated fusion of GLUT4 vesicles to plasma membrane is dependent on wortmannin-sensitive insulin signaling pathway in 3T3-L1 adipocytes. *Kobe J Med Sci* 54: E209-216, 2010. (査読有り)
- ⑨ 田守義和 インスリン抵抗性の分子基盤 最新医学 第 65 巻, 第 11 号:126-131, 2010 (査読無し)
- ⑩ 田守義和 2 型糖尿病 糖尿病診療マスター 第 8 巻, 第 1 号 : 25-30, 2010 (査読無し)
- ⑪ 田守義和、春日雅人 肥満とインスリン抵抗性 日本臨床 第 67 巻, 第 2 号 : 236-244, 2009 (査読無し)
- ⑫ 田守義和 CIDE ファミリーの機能 分子糖尿病学の進歩 : 39-46, 2009 (査読無し)

[学会発表] (計 3 件)

- ① 松原稔哉、三田綾子、南幸太郎、田守義和、北澤壮平、渡辺真、松尾英一、西村

紀、清野進 新規アディポカイン Progranulin(PGRN)の同定とインスリン抵抗性ならびに肥満における役割 第 54 回日本糖尿病学会年次学術総会 2011 年 5 月 19 日 (札幌)

- ② 田守義和 MCP-1 が仲介する脂肪組織の炎症とインスリン抵抗性 第 54 回日本リウマチ学会総会 2010 年 4 月 24 日 (神戸)
- ③ 田守義和 脂肪細胞における脂肪滴蓄積形態とエネルギー代謝 第 30 回日本肥満学会 2009 年 10 月 10 日 (浜松)

[図書] (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.kobe-u.ac.jp/im2/doctor/activity/acti-05.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田守 義和 (TAMORI YOSHIKAZU)
神戸大学・大学院医学研究科・戦略的客員教授
研究者番号 : 90379397

(2) 研究分担者

無し

(3) 連携研究者

無し