

機関番号：10101

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21780261

研究課題名 (和文) 白色脂肪の褐色化機構の解明
：新規肥満治療法の開発に向けた基礎研究研究課題名 (英文) Investigation for the mechanisms of the emergence of
brown adipocytes in white adipose tissue

研究代表者

岡松 優子 (OKAMATSU YUKO)

北海道大学・大学院獣医学研究科・助教

研究者番号：90527178

研究成果の概要 (和文)：褐色脂肪は脂肪を燃やして熱を産生する特殊な脂肪組織であり、肥満予防・治療のターゲットとして注目されている。褐色脂肪による抗肥満効果を得るためには、それを活性化する方法と増加させる方法が考えられる。本研究では、増加させる方法について検討した。一般に脂肪細胞は前駆細胞が増殖・分裂し、それらが成熟脂肪細胞に分化することで増加すると考えられている。本研究では、褐色脂肪は成熟分化後にも分裂・増加する可能性を新たに見いだした。

研究成果の概要 (英文)：Brown adipose tissue (BAT) is a tissue specified for metabolic heat production and expected to be a target for the treatment of obesity. To maximize the anti-obesity effect of BAT thermogenesis, activation of the thermogenic function or induction of tissue hyperplasia would be effective. Generally, the number of adipocyte is controlled by the proliferation of pre-adipocytes and their differentiation. In this study, we revealed that brown adipocytes proliferate not only before, but also after their differentiation.

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	1,800,000	540,000	2,340,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：代謝学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学、基礎獣医学・基礎畜産学

キーワード：脂肪細胞、褐色脂肪、肥満

1. 研究開始当初の背景

日本をはじめとした先進諸国において、動脈硬化症は死因の上位を占めており、近年その増加が著しい社会問題となっている。その原因疾病である高血圧症、高脂血症、糖尿病、肥満症のうち肥満症を含めた複数の危険因子を持つ状態はメタボリック

クシンドロームとして定義され、その最大のリスクファクターである肥満症の病態解析と対策が求められている。肥満の最も基本的な治療は食事療法と運動療法だが、肥満の解消は現実には容易ではない。また、わが国において唯一認可されている肥満治療薬 (Mazindol) は食欲抑制により肥満を解消するが、アンフェタミンと特性が類

似しており、依存性と短期間での耐性、副作用の面で問題点も残っている。したがって、安全かつ効果的な肥満治療法の開発が求められている。エネルギー消費の面からの肥満対策のターゲットとして注目されているのが褐色脂肪—UCP1 である。中性脂肪を貯える役割を持つ白色脂肪とは異なり、褐色脂肪は脂肪を分解して熱を産生する特殊な脂肪組織で、特異的に発現する脱共役蛋白質 UCP1 がその熱産生能を担っている。

申請者のグループでは、これまで検出方法の問題から難しかったヒト褐色脂肪の検出に成功した。褐色脂肪が検出された被験者は、20～35歳の被験者では約半数だったが、35歳以上では検出頻度は激減した。褐色脂肪が検出されない被験者は体脂肪量が多いことが明らかになり、ヒト褐色脂肪が加齢に伴い減少し、いわゆる“中年太り”の一因となる可能性が考えられた。伴侶動物でも同様の結果が予想される。加齢により褐色脂肪を失ったヒトや動物では褐色脂肪活性化による抗肥満効果が期待できない。そこで、褐色脂肪を増加させる方法について検討していく必要があると考えた。

一般に脂肪細胞の数は、前駆脂肪細胞の分裂・増殖と、それらの成熟分化により調節されていると考えられており、成熟分化後には分裂・増殖しないと考えられている。これらの想定は、白色脂肪細胞を用いた実験事実に基づいてなされているが、褐色脂肪細胞についての研究はほとんどない。本研究では、褐色脂肪細胞が成熟分化の後にも分裂・増殖する可能性を見いだした。

2. 研究の目的

褐色脂肪の増殖メカニズムを明らかにし、褐色脂肪を増加させることによる新規肥満対策法の基礎研究とすること

3. 研究の方法

(1) 褐色脂肪がどのような条件で増殖するかを調べるために、マウスに以下の条件で飼育し、褐色脂肪組織を採取した。組織切片を作製し、細胞増殖マーカーである PCNA、Ki67 に対する抗体を用いて免疫染色を行った。

①寒冷馴化群：マウスを 4℃の寒冷環境下で2週間飼育した

②アドレナリンβ3受容体作動薬投与群：マウスにβ3作動薬を1日1回、2週間投与した

(2) 脂肪細胞特異的に細胞周期が停止するトランスジェニックマウスを用いて、褐色脂肪量がどう変化するかを解析した。また、褐色脂肪機能の変化を検討するために、野生型マウスとトランスジェニックマウスの腹腔内に体温をモニターするためのトランスミッターを埋め込み、4℃の寒冷環境下での体温変化を、覚醒下で測定した。

(3) トランスジェニックマウスにおいて褐色脂肪の形成が抑制されるメカニズムとして、成熟褐色脂肪細胞の増殖経路が関与しているか否かを調べた。野生型マウスおよびトランスジェニックマウスから褐色脂肪を採取し、組織切片を作製して PCNA、Ki67 に対する抗体を用いて免疫染色を行った。また、組織サンプルからタンパク質を抽出し、ウェスタンブロット法により PCNA や細胞増殖の調節に関わる Rb タンパク質の発現量を調べた。

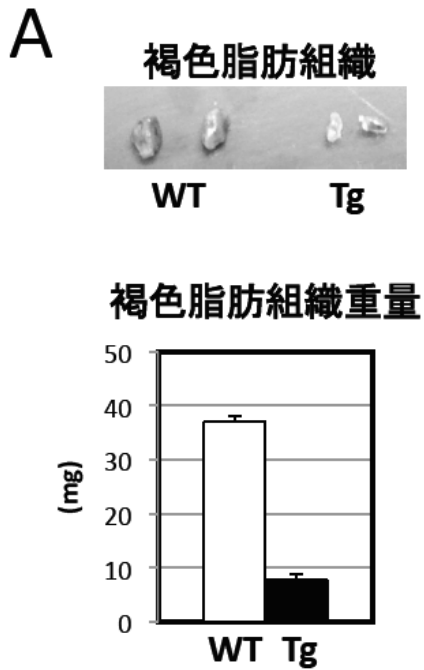
(4) トランスジェニックマウスにおいて褐色脂肪の形成が抑制されるメカニズムとして、褐色脂肪細胞の分化が抑制されている可能性を調べた。野生型マウスおよびトランスジェニックマウスから胎児繊維芽細胞 (MEF) を単離し、初代培養を行った。in vitro で分化誘導を行い、脂肪細胞の分化マーカーである aP2 の発現量や OilRedO 染色により、分化効率を解析した。また、褐色脂肪への分化を調べるために、褐色脂肪マーカーである UCP1 の発現をウェスタンブロット法及び免疫染色 (蛍光抗体) 法により検討した。

4. 研究成果

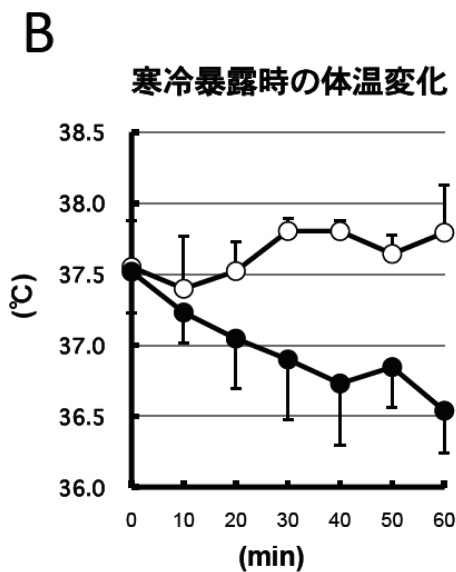
(1) 対照となる無処置のマウスの褐色脂肪の組織切片を用いて、免疫染色法により細胞増殖マーカーである PCNA の発現を調べると、血管周囲や間質に陽性細胞が認められたが、予想外に成熟褐色脂肪細胞にも陽性細胞があることがわかった。寒冷馴化群やβ3作動薬投与群においても成熟褐色脂肪細胞に陽性細胞が認められた。この結果から、褐色脂肪では成熟分化後にも分裂・増殖する可能性が示唆された。

(2) 褐色脂肪細胞が成熟分化後に分裂・増殖する可能性について調べるために、成熟脂肪細胞特異的に細胞周期を停止させたトランスジェニックマウスの褐色脂肪について調べた。トランスジェニックマウスでは、褐色脂肪組織重量が野生型マウスの10%程度に減少していた(図A: WTは野生型マウスを、Tgはトランスジェニックマウス

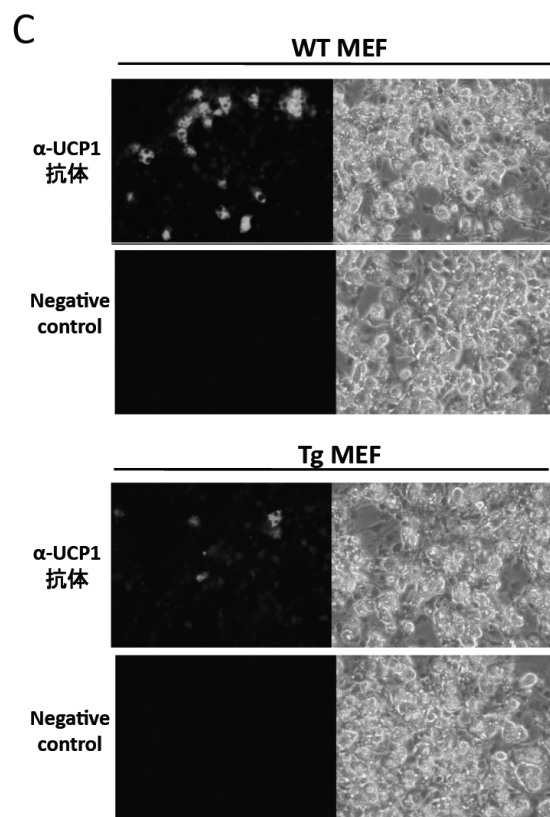
を表す)。



褐色脂肪の機能を調べるために、マウスを寒冷環境下(4°C)において体温を測定すると、野生型マウスは体温を維持するのに対し、トランスジェニックマウスの体温は速やかに低下した(図B)。これらの結果より、本トランスジェニックマウスは褐色脂肪の量、機能ともに低下していることが明らかになった。



(3) トランスジェニックマウスにおいて褐色脂肪の形成が著しく抑制されるメカニズムを探るため、ウェスタンブロット法により褐色脂肪組織におけるいくつかのタンパク質の発現量を調べた。すると、トランスジェニックマウスの褐色脂肪では細胞増殖マーカーである PCNA の発現量が低下し、反対に細胞増殖を抑制する因子であるリン酸化 Rb タンパク質量は増加していた。免疫染色法による解析においても同様の結果が確認出来た。これらの結果から、褐色脂肪の組織形成には成熟褐色脂肪細胞の分裂・増殖が必須である可能性が考えられた。



(4) p27 タンパク質が褐色脂肪細胞の分化調節にも関わっている可能性を調べるために、野生型マウスおよびトランスジェニックマウスから胎児繊維芽細胞を単離し、初代培養を行った。*In vitro* で分化誘導すると、Tg マウスから得た胎児繊維芽細胞は分化効率が悪かった。また、褐色脂肪細胞のマーカー分子である UCP1 に対する抗体を用いて免疫染色(蛍光抗体法)を行うと、トランスジェニックマウスから得た胎児繊維芽細胞は、UCP1 の発現が少ないことがわかった(図C: WTは野生型マウスを、Tgはトランスジェニックマウスを、MEFは胎

児繊維芽細胞を表す)。したがって、トランスジェニックマウスでは褐色脂肪細胞の分裂・増殖が抑制されたことに加え、成熟分化も阻害されたために、組織形成が著しく低下したと考えられる。

以上の結果から、褐色脂肪の組織形成には成熟褐色脂肪細胞の分裂・増殖が必須であると考えられた。また、トランスジェニックマウスにおいて過剰発現させたたんぱく質が褐色脂肪の分化調節に関わる可能性が示唆された。

一般的に脂肪組織は、前駆脂肪細胞の増殖とそれらの成熟脂肪細胞への分化により維持されていると考えられている。本研究から得られた「褐色脂肪細胞は成熟分化後にも分裂・増殖する」という結果は、これまでの想定を大きく覆す可能性があり、新たな肥満対策法の開発の基礎となることが期待される。

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2件)

- ① 岡松優子、木村和弘、褐色脂肪細胞によるエネルギー代謝制御における PGC-1 の役割、内分泌・糖尿病科、29、2009、pp109-116、査読無
- ② Saito M, Okamatsu-Ogura Y, Matsushita M, Watanabe K, Yoneshiro T, Nio-Kobayashi J, Iwanaga T, Miyagawa M, Kameya T, Nakada K, Kawai Y, Tsujisaki M. High incidence of metabolically active brown adipose tissue in healthy adult humans: effects of cold exposure and adiposity. Diabetes. 2009;58(7):1526-31. 査読有

[学会発表] (計3件)

- ① Yuko Okamatsu-Ogura、Akira Terao、Kazuhiro Kimura、Masayuki Saito、Thermogenic UCP1 controls appetite through modulation of leptin sensitivity、The 3rd International Symposium on Physiology and Pharmacology of Temperature Regulation、2009年7月24日、くにびきメッセ(松江)
- ② Yuko Okamatsu-Ogura、Masayuki Saito、Protective roles of brown adipose tissue against age-related development of obesity、14th International Congress of Endocrinology Official Satellite Symposium “Obesity and Metabolic Syndrome”、2009年3月31日、芝蘭会館(京都)

- ③ Yuko Okamatsu-Ogura、Akira Terao、Kazuhiro Kimura、Masayuki Saito、Thermogenic UCP1 enhances anorexigenic effect of leptin in mice、14th International Congress of Endocrinology、2009年3月30日、京都国際会館(京都)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡松 優子 (OKAMATSU YUKO)

北海道大学・大学院獣医学研究科・助教

研究者番号：90527178