

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：32661  
 研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2012～2014  
 課題番号：24790296  
 研究課題名(和文) 脂質転移タンパク質STARD10のタンパク質複合体を介した脂質代謝への関与の検討  
  
 研究課題名(英文) Role of steroidogenic acute regulatory protein-related lipid transfer domain containing 10 (STARD10) in lipid metabolism  
  
 研究代表者  
 伊藤 雅方 (ITO, Masanori)  
  
 東邦大学・医学部・講師  
  
 研究者番号：20459811  
  
 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：脂質代謝の普遍的制御機構を解明することは、脂質代謝異常の病態の理解及びその防御法の開発に繋がり重要である。本研究では肝臓で高発現している脂質転移タンパク質であるSTARD10について、その脂質代謝への関与を明らかにすることを目的とした。Stard10遺伝子のノックアウトマウス(Stard10<sup>-/-</sup>マウス)を作製し、その表現型を解析した結果、Stard10<sup>-/-</sup>マウスは野生型マウスと比較し、高脂肪食負荷時の肝臓への脂肪蓄積が低下していた。遺伝子発現の解析やレポーターアッセイの結果、STARD10はPPAR<sup>α</sup> 下流遺伝子の発現を正に調節することにより、脂質代謝に関与することが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：STARD10, a member of the steroidogenic acute regulatory protein (StAR)-related lipid transfer (START) protein family, is highly expressed in the liver and has been shown to transfer phosphatidylcholine. To help elucidate the physiological role of STARD10, we produced Stard10 knockout mice (Stard10<sup>-/-</sup>) and studied their phenotype. The wet weight of the liver of Stard10<sup>-/-</sup> mice fed high fat diet was significantly lower than that of wild type mice. The relative contents of cholesterol and triglyceride in the liver were lower in Stard10<sup>-/-</sup> mice than in wild type mice. Interestingly, PPAR<sup>α</sup>-dependent genes responsible for the regulation of bile acid metabolism were down-regulated in the liver of Stard10<sup>-/-</sup> mice. The loss of STARD10 impaired the PPAR<sup>α</sup> activity in mouse hepatoma cells. These results indicate that STARD10 is involved in regulating lipid metabolism through the modulation of PPAR<sup>α</sup>-mediated mechanism.

研究分野：統合生理学、応用遺伝学、分子生物学

キーワード：脂質転移タンパク質 脂質代謝 胆汁酸 コレステロール トリグリセリド 脂肪酸 肝臓 腸肝循環

## 1. 研究開始当初の背景

現代の生活習慣の変化に伴い、血中のトリグリセリド(TG)や LDL コレステロール値が上昇する脂質異常症の増加が問題となっている。VLDL は肝臓で産生され、コレステロール及び TG 等の脂質を運搬するリポタンパク質であり、VLDL が多く産生されることは脂質異常症を引き起こし、動脈硬化を進行させる原因となる。そのため、リポタンパク質及び脂質の普遍的制御機構を解明し、脂質代謝異常による病態を理解すること及びその防御法を開発することが社会的に要請されている。Lipid droplet は脂質単分子層と多くの lipid droplet 結合タンパク質で構成される細胞内小器官であり、脂肪の貯蔵器官としての役割だけでなく、VLDL の形成や TG 代謝に重要な役割を果たすと見直され、学術的に注目を集めているが、その形成機構については不明な点が多い。lipid droplet 形成に関わる因子は VLDL の形成や TG 代謝制御において重要な役割を担うと予想される。

STARD10 (Steroidogenic acute regulatory protein (StAR)-related lipid transfer (START) domain containing 10) は哺乳動物では 15 種類が存在する START domain を有するタンパク質の 1 つで、PCTP-L (Phosphatidylcholine transfer protein like protein) としても知られている。これまでに別々のグループで精子形成 (TISP-81; Transcript increased in spermiogenesis-81) や大腸癌 (Sdccag28; Serologically defined colon cancer antigen 28) で発現が認められるものとして独立に同定されている。試験管内の実験において、ホスファチジルコリンやホスファチジルエタノールアミンのリポソーム間での転移活性を有することが示されているが、その生理機能については明らかにされていない。研究代表者らが STARD10 のマウスでの発現部位についてノザンプロット法、ウエスタンプロット法、RT-PCR 法及び免疫染色法により解析したところ、心房、脳、網膜、肝臓、腎臓、膵臓、小腸、乳腺、精巣等での発現が認められ、特に肝臓に強い発現が認められた。そこで、STARD10 はその脂質輸送活性により lipid droplet 等の細胞内小器官の膜形成に関与し、VLDL の産生やコレステロールや TG 等の脂質代謝制御に関わっているという仮説を立てた。

## 2. 研究の目的

脂質異常症の診断と治療を目指し、脂質代謝制御における脂質転移タンパク質 STARD10 の役割について明らかにする。STARD10 はその脂質輸送活性により lipid droplet 形成に関与し、そのことにより、VLDL 産生及び TG 代謝制御を行うという仮説検証のため 1) STARD10 が形成する分子複合体の実体解明、2) *Strad10* ノックアウト

(*Stard10*<sup>-/-</sup>) マウスを用いた脂質代謝に対する STARD10 の機能解明とを行う。

## 3. 研究の方法

*Stard10*<sup>-/-</sup> マウスを作製し、その表現型を解析した。野生型マウスと *Stard10*<sup>-/-</sup> マウスに高脂肪食を負荷し、肝臓のコレステロール及び TG 含有量の測定、肝臓のメタボローム解析、肝臓及び胆汁の胆汁酸構成の解析、糞中胆汁酸含量の測定、肝臓及び小腸における遺伝子発現解析等を行った。またマウス肝臓由来細胞株 Hepa1-6 を用いて STARD10 の PPAR 標的遺伝子発現への影響についてルシフェラーゼアッセイによる解析を行った。STARD10 分子複合体の実体を明らかにするため、野生型マウスの肝臓からの lysate に抗 STARD10 抗体を用いて免疫沈降し、共沈降されたタンパク質を解析した。

## 4. 研究成果

- (1) *Stard10*<sup>-/-</sup> マウスは高脂肪食負荷時、野生型マウスと比べ、肝臓の肥大が顕著に抑制され、コレステロール及び TG 含有量の増加も減弱していることを見出した。
- (2) メタボローム解析及び胆汁酸解析によって、*Stard10*<sup>-/-</sup> マウスは野生型マウスと比べ、肝臓の胆汁酸含量が低いこと、肝臓及び胆汁中のコール酸/ケノデオキシコール酸の比が低いこと、二次胆汁酸含有量が低いこと、胆汁中のタウリン抱合体の含有量が高いことを明らかにした。
- (3) 胆管から一定時間に分泌された胆汁を回収、分析した結果、胆汁酸分泌が *Stard10*<sup>-/-</sup> マウスにおいて亢進していることを見出した。
- (4) 糞中に排泄された胆汁酸量も *Stard10*<sup>-/-</sup> マウスは野生型マウスに比べて高いことを見出した。
- (5) 遺伝子発現解析の結果、肝臓において胆汁酸代謝においてコール酸産生に関与する *Cyp8b1* や胆汁酸の脱抱合に関わる *Acot* 等の遺伝子発現が低下しており(2)、(3)の結果と一致した。小腸及び胆嚢の胆汁酸再吸収を担うトランスポーターASBTの発現が *Stard10*<sup>-/-</sup> マウスにおいて低下しており、(4)の結果と一致した。
- (6) (5)における遺伝子発現は PPAR によって制御されると考えられたため、Hepa1-6 細胞を用い、siRNA による *Stard10* ノックダウンを行ったところ、PPAR の活性が有意に低下した。一方、*Stard10* の過剰発現では有意に上昇した。

- (7) マウス肝臓抽出物を用いた免疫沈降により、STARD10 の相互作用タンパク質の同定を試みたところ、非特異的なものが多数検出され、株化細胞による解析等の検討が必要なことが明らかになった。

よって STARD10 が、PPAR 下流遺伝子の発現を正に調節することにより、脂質代謝に関与することが明らかになった。これは脂質異常症発症の分子機構の解明に貢献するものであり、さらには脂質異常症の診断と治療に繋がるという社会的意義がある。

#### 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 3 件)

- (1) Maruyama H, Ito M, Goda N, Adachi-Akahane S: Impact of manipulation of energy substrates on sinus nodal rhythm. *J Med Soc Toho*. 61: 13-23, 2014, 査読有り  
<http://rep.toho-u.ac.jp/modules/xoonips/detail.php?id=38986118>
- (2) Ito M, Adachi-Akahane S: Inter-organ communication in the regulation of lipid metabolism: focusing on the network between the liver, intestine, and heart. *J Pharmacol Sci*. 123: 312-317, 2013, 査読有り  
doi:10.1254/jphs.13R09CP
- (3) Ito M, Yamanashi Y, Toyoda Y, Izumi-Nakaseko H, Oda S, Sugiyama A, Kuroda M, Suzuki H, Takada T, Adachi-Akahane S: Disruption of Stard10 gene alters the PPAR-mediated bile acid homeostasis. *Biochem Biophys Acta*. 1831:459-468, 2013, 査読有り  
doi:10.1016/j.bbailip.2012.11.008

[学会発表](計 10 件)

- (1) 伊藤雅方, 関由成, 杉本結衣, 小田哲子, 黒田優, 赤羽悟美: Role of steroidogenic acute regulatory protein-related lipid transfer domain containing 10 (STARD10) in hepatic inflammation. The joint Meeting of the 120<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Association of Anatomists・the 92<sup>nd</sup> Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, 神戸国際会議場(兵庫県神戸市), 2015.3.21

- (2) 伊藤雅方, 杉本結衣, 関由成, 瀧口正悟, 行方衣由紀, 田中光, 赤羽悟美: 糖尿病モデルマウスにおけるカルシウム及び cAMP 関連シグナル伝達タンパク質の遺伝子発現の解析. 第 88 回日本薬理学会年会, 名古屋国際会議場(愛知県名古屋市), 2015.3.19
- (3) 伊藤雅方, 赤羽悟美: カルシウムシグナル制御の分子基盤: マウス心房と心室の比較. 筋生理の集い, 東京都慈恵会医科大学(東京都港区), 2014.12.21
- (4) Ito M, Seki Y, Adachi-Akahane S: Role of steroidogenic acute regulatory protein-related lipid transfer domain containing 10 (STARD10) in the regulation of PPAR activity. 第 91 回日本生理学会大会, 鹿児島大学郡元キャンパス(鹿児島県鹿児島市), 2014.3.18
- (5) Ito M, Yamanashi Y, Toyoda Yu, Suzuki H, Takada T, Adachi-Akahane S: Disruption of Stard10 gene alters the PPAR-mediated bile acid homeostasis. The 2nd HD physiology International Symposium: Multi-Level Systems Biology, 丸の内 MY PLAZA ホール(東京都千代田区), 2013.6.28-29
- (6) 伊藤雅方, 赤羽悟美: 相互作用タンパク質による STARD10 の機能解明. 第 8 回トランスポーター研究会年会, 熊本大学薬学部(熊本県熊本市), 2013.6.15
- (7) 伊藤雅方, 小田哲子: 脂質転移タンパク質 STARD10 の分子複合体による脂質代謝調節機構の解明. 第 141 回東邦医学会例会, 東邦大学(東京都大田区), 2013.2.8
- (8) 伊藤雅方, 中瀬古寛子, 杉山篤, 赤羽悟美: Steroidogenic acute regulatory protein-related lipid transfer (START) domain containing 10 (STARD10) is involved in the positive modulation of PPAR mediated gene regulation. 第 35 回日本分子生物学会年会, マリンメッセ福岡(福岡県福岡市), 2012.12.13
- (9) 伊藤雅方, 山梨義英, 豊田優, 中瀬古寛子, 杉山篤, 鈴木洋史, 高田龍平, 赤羽悟美: 脂質転移タンパク質 STARD10 の胆汁酸調節への関与. 第 126 回日本薬理学会関東部会, 東海大学(東京都港区), 2012.7.14
- (10) 伊藤雅方, 山梨義英, 豊田優, 高田龍

平, 中瀬古寛子, 杉山篤, 鈴木洋史,  
赤羽悟美: 脂質転移タンパク質 STARD10  
の胆汁酸調節への関与について. 第7回  
トランスポーター研究会年会, 京都大学  
(京都府京都市), 2012.6.9

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

伊藤 雅方 (ITO, Masanori)

東邦大学・医学部・講師

研究者番号: 20459811