

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 25 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26860684

研究課題名(和文) 生体のエネルギー消費能力を増大させる褐色脂肪由来アディポカインの同定

研究課題名(英文) Identification of brown-fat derived adipokine that enhances whole body energy expenditure

研究代表者

岡松 優子 (Okamatsu, Yuko)

北海道大学・獣医学研究科・講師

研究者番号：90527178

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：褐色脂肪組織は脂肪を燃焼して熱を産生する組織で、エネルギー消費の側面から肥満対策のターゲットとなることが期待されている。本研究では褐色脂肪細胞の量を増やす方法の解明を目指して、細胞増殖に注目して研究を行った。褐色脂肪細胞の数は、前駆細胞が増殖して褐色脂肪細胞へと分化する経路と、褐色脂肪細胞そのものが増殖する経路により制御されており、両者は異なる機構により制御されていることがわかった。また、褐色脂肪細胞数の増加は全身の基礎代謝量を増やすことがわかった。一方、誘導性の褐色脂肪細胞であるベージュ脂肪細胞は加齢に伴い減少し、その原因として前駆細胞の数の減少が関わる可能性を見出した。

研究成果の概要(英文)：Brown adipose tissue dissipates energy as heat, and is expected as therapeutic target for the treatment of obesity. The aim of this study was to clarify the regulative mechanisms of the number of brown adipocytes. Obtained results indicate that the number of brown adipocytes increases by the proliferation of mature brown adipocytes, in addition to the proliferation and differentiation of progenitors into brown adipocytes, and their proliferation is regulated via different types of adrenergic receptor. As expected, increasing the number of brown adipocytes by the adrenergic stimulation resulted in the enhancement of basic energy expenditure. In addition, it was observed that the number of beige adipocytes, inducible type of brown adipocytes, decreased with aging, possibly due to the age-dependent decline in the number of progenitors. These results suggest the importance of the understanding the regulative mechanism of the number of brown/beige adipocytes and their progenitors.

研究分野：代謝学

キーワード：褐色脂肪 エネルギー代謝 脂肪細胞 肥満

## 1. 研究開始当初の背景

褐色脂肪は熱を産生する特殊な脂肪組織であり、脱共役蛋白質 Uncoupling protein 1 (UCP1)が熱産生能を担っている。UCP1 欠損マウスは寒冷環境では体温を維持できずに死亡するため、UCP1 による熱産生は体温維持に必須である。一方、UCP1 が活性化すると熱産生の基質として脂肪酸が消費されて体脂肪が減少するので、エネルギー消費の側面からの肥満対策のターゲットとして注目されている。

ヒトには褐色脂肪がほとんど存在しないと想定されていたが、PET(Positron Emission Tomography)を用いた生体内での褐色脂肪検出技術の発達により、成人にも機能的な褐色脂肪が存在することが明らかになっている。褐色脂肪量と体脂肪量は逆相関し、ヒトにおいても褐色脂肪がエネルギー消費量の調節に関わることが示唆されているものの、ヒト褐色脂肪は加齢に伴い減少し、それが加齢に伴う肥満、いわゆる「中年太り」の増加の一因となっている可能性が高い。しかし、加齢に伴う減少のメカニズムは不明である。また、肥満対策を考える上で、褐色脂肪を活性化する方法に加えて褐色脂肪の量を増やす方法を考える必要がある。

マウスに慢性的な交感神経性刺激を与えると、白色脂肪組織中に UCP1 を発現する褐色脂肪様の細胞が異所性に出現する。近年ベージュ脂肪細胞と呼ばれ、その誘導機構についての研究が盛んに行われている。ベージュ脂肪細胞は褐色脂肪細胞と同程度のエネルギー消費能を持つので、その誘導は肥満対策に有効だと想定される。一方、寒冷馴化などの条件下ではベージュ脂肪細胞が誘導されるだけではなく、本来の褐色脂肪細胞の数が増加して組織が過形成するが、その詳細な細胞メカニズムは不明なままである。

## 2. 研究の目的

本研究では肥満対策のための基礎的知見を得るために、(1) 褐色脂肪細胞の数を増やす方法、(2) ベージュ脂肪細胞の数を増やす方法、の2点を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1)褐色脂肪細胞の数の制御機構の解析

マウスに寒冷刺激を与えると褐色脂肪細胞の数が増加することが知られているので、どのような細胞が増殖するかを明らかにするために、寒冷刺激を与えたマウスの褐色脂肪組織を採取し、組織切片を作成して組織学的解析を行った。また細胞増殖のメカニズムを明らかにするために、 $\beta 3$  アドレナリン受容体作動薬 CI316,243 及びアドレナリン受容体阻害薬を用いて検討を行った。

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、刺激に応じた褐色脂肪細胞の増殖が全身のエネルギー消費量にどの程度寄与するかを解析した。

(2)ベージュ脂肪細胞の数の制御機構の解析  
ヒト褐色脂肪は加齢に伴い減少するが、ベージュ脂肪細胞の誘導への加齢の影響は不明である。そこで、4ヶ月齢の成マウスと20ヶ月齢の加齢マウスを用いて、ベージュ脂肪細胞の違いを解析した。交感神経刺激として  $\beta 3$  アドレナリン受容体作動薬 CI316,243 を1週間投与した。脂肪組織を採取し、組織学的解析を行うとともにベージュ脂肪細胞マーカーである UCP1 の発現を調べた。また、ベージュ脂肪細胞の数に影響を与える可能性のあるマクロファージとベージュ脂肪細胞に分化するプロジェニターの数の変化をフローサイトメトリー法により調べた。

## 4. 研究成果

### (1)褐色脂肪細胞の数の制御機構の解析

10 日の寒冷刺激を0~5日与えたマウスの褐色脂肪組織切片を用いて細胞増殖マーカーである Ki67 の免疫染色を行った(図 1A)。寒冷刺激を与えていない対照群では Ki67 陽性細胞の数は少なかったが、寒冷刺激後1日目からその数は増加した。組織中に存在する褐色脂肪細胞とそれ以外の間質細胞(血管内皮細胞を含む)を判別するため、褐色脂肪細胞の細胞膜に高発現するモノカルボン酸トランスポーターMCT1 を Ki67 と共染色した。Ki67 陽性の増殖細胞を MCT1 陰性の間質細胞(図 1B 左)と MCT1 陽性の褐色脂肪細胞(図 1B 右)とに分けてカウントすると、両者ともに寒冷刺激に応じて増加した。

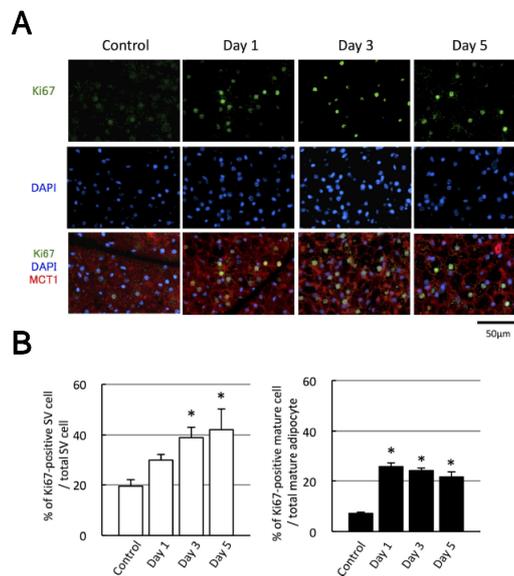


図1 褐色脂肪組織における寒冷刺激に応じた細胞増殖

これらの細胞増殖の制御機構を明らかにするために、 $\beta 1$  及び  $\beta 3$  アドレナリン受容体の阻害剤を用いて寒冷刺激誘導性の細胞増殖への影響を調べた。 $\beta 1$  受容体阻害剤は間質細胞の増殖を抑制したが、褐色脂肪細胞の増殖には影響しなかった。一方、 $\beta 3$  受容体阻害剤は間質細胞の増殖には影響せず、褐色脂肪細胞の増殖のみを抑制した。この結果から、両者は異なるアドレナリン受容体の作用により増殖することが明らかになった。

褐色脂肪細胞の増殖が  $\beta 3$  アドレナリン受容体を介して誘導されることを確認するために、マウスに  $\beta 3$  アドレナリン受容体作動薬を投与すると、間質細胞の増殖には影響を与えなかったが、褐色脂肪細胞の増殖を増加させた。

以上の結果から、褐色脂肪細胞の数は前駆細胞の増殖と分化に加えて成熟細胞の増殖により増加すること、両者の制御機構が異なること、成熟細胞の増殖を誘導して褐色脂肪細胞の数を増やすと全身の基礎代謝量が増加することが明らかになった。これらの研究成果は、褐色脂肪細胞を増やして太りにくい体質を得るという新たな肥満対策法の開発のための基礎的知見となることが期待できる。

褐色脂肪細胞の増殖が  $\beta 3$  アドレナリン受容体刺激により亢進することが明らかになったので、この増殖が全身のエネルギー消費量にどの程度寄与するかを調べた。野生型マウスと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に  $\beta 3$  受容体作動薬を 2 週間投与すると、野生型マウスでは褐色脂肪組織中の褐色脂肪細胞が増加したが、トランスジェニックマウスでは増加は抑制されていた。エネルギー消費量の指標である酸素消費量を測定すると、野生型マウスでは  $\beta 3$  受容体作動薬投与後には増加したが、トランスジェニックマウスでは増加は認められなかった。

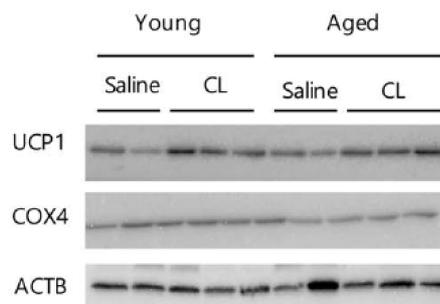
## (2) ベージュ脂肪細胞誘導の加齢性変化とそのメカニズムの解析

4ヶ月齢の成マウスと20ヶ月齢の加齢マウスに  $\beta 3$  アドレナリン受容体作動薬を 1 週間投与すると、成マウスでは褐色脂肪組織の UCP1 発現量が増加するのに加えて(図 2A)、白色脂肪組織中にベージュ脂肪細胞が誘導され、UCP1 が発現した(図 2B)。一方、加齢マウスにおいても褐色脂肪組織では成マウスと同程度に UCP1 発現量が増加したが、白色脂肪組織中には UCP1 がほとんど発現せず、マウスにおいてベージュ脂肪細胞の誘導が加齢に伴い低下することが明らかになった。

加齢に伴うベージュ脂肪細胞誘導能の低下のメカニズムを明らかにするために、ベージュ脂肪細胞の誘導に関わる可能性が示唆されているマクロファージの量や活性の

指標となる遺伝子発現を調べたが、成マウスと加齢マウスの脂肪組織の間で違いはなかった。また、アドレナリン受容体の遺伝子発現量にも違いはなかった。ベージュ脂肪細胞に分化することが報告されている PDGFR $\alpha$  陽性細胞の数を調べると、成マウスに比べて加齢マウスの白色脂肪組織で低下していることがわかった。

### A 褐色脂肪組織



### B 白色脂肪組織

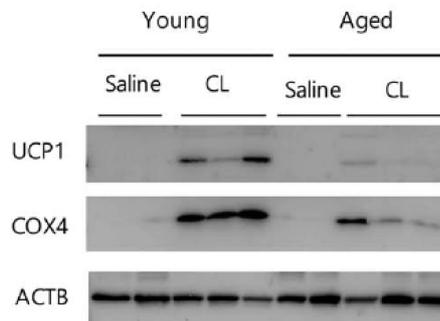


図2  $\beta 3$  アドレナリン受容体作動薬によるベージュ脂肪細胞の誘導と加齢による影響

以上の結果から、マウスにおいてベージュ脂肪細胞の誘導能が加齢に伴い低下することが明らかとなり、その低下にはベージュ脂肪細胞を供給するプロジェニター細胞の数の低下が関わる可能性が示唆された。これらの成果は、加齢に伴う肥満、いわゆる中年太りの原因となる分子基盤の解明と、効率よくベージュ脂肪細胞を誘導する方法の解明のための基礎的知見となる。

## 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 10 件)

1. Shin W, Okamatsu-Ogura Y, Machida K, Tsubota A, Nio-Kobayashi J, Kimura K. (2017) Impaired adrenergic agonist-dependent beige adipocyte induction in aged mice. *Obesity*, 25(2):417-423. 査読あり

2. Yudasaka M, Yomogida Y, Zhang M, Tanaka T, Nakahara M, Kobayashi N, Okamatsu-Ogura Y, Machida K, Ishihara K, Saeki K, Kataura H. (2017) Near-Infrared Photoluminescent Carbon Nanotubes for Imaging of Brown Fat. *Sci Rep*, 7:44760. 査読あり
3. Yoneshiro T, Kaede R, Nagaya K, Aoyama J, Saito M, Okamatsu-Ogura Y, Kimura K, Terao A. (2017) Royal jelly ameliorates diet-induced obesity and glucose intolerance by promoting brown adipose tissue thermogenesis in mice. *Obes Res Clin Pract*, *in press* 査読あり
4. Fukano K, Okamatsu-Ogura Y, Tsubota A, Nio-Kobayashi J, Kimura K. (2016) Cold Exposure Induces Proliferation of Mature Brown Adipocyte in a  $\beta$ 3-Adrenergic Receptor-mediated Pathway. *PLoS One*, 11: e0166579. 査読あり
5. Elfeky M, Kaede R, Okamatsu-Ogura Y, Kimura K. (2016) Adiponectin Inhibits LPS-Induced HMGB1 Release through an AMP Kinase and Heme Oxygenase-1-Dependent Pathway in RAW 264 Macrophage Cells. *Mediators Inflamm*, 2016:5701959. 査読あり
6. Okamatsu-Ogura Y, Tsubota A, Ohyama K, Nogusa Y, Saito M, Kimura K. (2015) Capsinoids suppress diet-induced obesity through uncoupling protein 1-dependent mechanism in mice. *J Funct Foods*, 19 1-9. 査読あり
7. Sakurai Y, Okamatsu-Ogura Y, Nakao R, Ohnuma A, Saito M, Kobayashi M, Kimura K. (2015) Brown adipose tissue expressed uncoupling protein 1 in newborn harbor seals (*Phoca Vitulina*). *Mar Mamm Sci*, 31(2):818-827. 5. 査読あり
8. Sato MK, Toda M, Inomata N, Maruyama H, Okamatsu-Ogura Y, Arai F, Ono T, Ishijima A, Inoue Y. (2014) Temperature changes in brown adipocytes detected with a bimaterial microcantilever. *Biophys J*, 106(11): 2458-2464. 査読あり
9. Teramura Y, Terao A, Okada Y, Tomida J, Okamatsu-Ogura Y, Kimura K. (2014) Organ-specific changes in norepinephrine turnover against various stress conditions in thermoneutral mice. *Jpn J Vet Res*, 62(3): 117-127. 査読あり
10. Hiyoshi H, Terao A, Okamatsu-Ogura Y, Kimura K. (2014) Characteristics of sleep and wakefulness in wild-derived inbred mice. *Exp Anim*, 63(2): 205-213. 査読あり

〔学会発表〕(計 14 件)

1. 岡松優子「褐色脂肪細胞の増殖と適応熱産生 adaptive thermogenesis における役

- 割」第 37 回日本肥満学会. 2016 年 10 月 7 日-8 日. 東京ファッションタウン (東京都江東区)
2. 町田拳, 岡松優子, Woongchul Shin, 松岡慎也, 木村和弘「白色脂肪組織の褐色化機構におけるマクロファージの役割」第 159 回日本獣医学会学術集会. 2016 年 9 月 6 日-8 日. 日本大学 (神奈川県藤沢市)
3. Woongchul Shin, 岡松優子, 町田拳, 坪田あゆみ, 小林純子, 木村和弘「Adrenergic induction of beige adipocyte in WAT is attenuated with aging in mice」第 159 回日本獣医学会学術集会. 2016 年 9 月 6 日-8 日. 日本大学 (神奈川県藤沢市)
4. 長屋一輝, 岡松優子, 坪田あゆみ, 小林純子, 木村和弘「環境温度がシリアンハムスターにおける褐色脂肪組織の生後発達に及ぼす影響」第 159 回日本獣医学会学術集会. 2016 年 9 月 6 日-8 日. 日本大学 (神奈川県藤沢市)
5. Yuko Okamatsu-Ogura, Keigo Fukano, Ayumi Tsubota, Hiroshi Sakaue, Masayuki Saito, Kazuhiro Kimura: Adipocyte-specific overexpression of p27kip1 inhibits brown adipose tissue development in mice. The 13th International Congress on Obesity, 2016.5.1-4. Vancouver (Canada)
6. Keigo Fukano, Yuko Okamatsu-Ogura, Junko Nio-Kobayashi, Kazuhiro Kimura: Cold exposure induces proliferation of mature brown adipocytes: Possible role of beta3-adrenergic receptor stimulation. The 13th International Congress on Obesity, 2016.5.1-4. Vancouver (Canada)
7. 岡松優子, 小林純子, 坪田あゆみ, 木村和弘「シリアンハムスターの肩甲間脂肪組織は, 出生後に白色細胞から褐色細胞に転換する」第 93 回日本生理学会大会. 2016 年 3 月 22 日-24 日. 札幌コンベンションセンター (北海道札幌市)
8. 岡松優子, 坪田あゆみ, 小林純子, 木村和弘「加齢マウスにおけるベージュ脂肪細胞誘導能の低下」第 36 回日本肥満学会. 2015 年 10 月 2 日-3 日. 名古屋国際会議場 (愛知県名古屋市)
9. 深野圭伍, 岡松優子, 坪田あゆみ, 小林純子, 木村和弘: 寒冷暴露における成熟褐色脂肪細胞の増殖. 第 36 回日本肥満学会. 2015 年 10 月 2 日-3 日. 名古屋国際会議場 (愛知県名古屋市)
10. 岡松優子, 坪田あゆみ, 小林純子, 櫻井裕太, 木村和弘「シリアンハムスターの褐色細胞組織は出生後に形成される」第 158 回日本獣医学会学術集会. 2015 年 9 月 7 日-9 日. 北里大学 (青森県十和田市)
11. 深野圭伍, 岡松優子, 小林純子, 坂上浩,

- 木村和弘「寒冷暴露時の褐色細胞組織増生機構」第20回アディポサイエンス・シンポジウム. 2015年8月22日. 千里ライフサイエンスセンター(大阪府豊中市)
12. 深野圭伍, 岡松優子, 阪上浩, 寺尾晶, 木村和弘「褐色脂肪組織の低形成を示す aP2-p27 Tg マウスにおける白色脂肪組織の褐色化」第35回日本肥満学会, 2014年10月25日. シーガイアコンベンションセンター(宮崎県宮崎市)
  13. 岡松優子, 深野圭伍, 坪田あゆみ, 大山夏奈, 野草義人, 寺尾晶, 阪上浩, 木村和弘「肥満対策のターゲットとしての褐色脂肪組織: 実験動物を用いた検討」第157回日本獣医学会. 2014年9月11日. 北海道大学(北海道札幌市)
  14. 深野圭伍, 岡松優子, 阪上浩, 寺尾晶, 木村和弘「aP2-p27 トランスジェニックマウスにおける褐色脂肪組織低形成のメカニズムの解析」第157回日本獣医学会. 2014年9月11日. 北海道大学(北海道札幌市)

〔図書〕(計 5 件)

1. 岡松優子(2016) 犬と猫の肥満研究の最前線「摂食と栄養代謝」, J-VET, インターズー, 第29巻, 第10号, pp8-18.
2. 岡松優子(2016) 脂肪燃焼組織・褐色脂肪の食品成分による活性化と抗肥満効果, New Food Industry, 食品資材研究会, 第58巻, 第10号, pp21-25.
3. 齊藤昌之, 岡松優子(2016) 抗肥満ターゲットとしての褐色脂肪組織: FDG-PET/CT による検出・評価, Cardio-Renal Diabetes, メディカルレビュー社, 第5巻, 第2号, pp4-8.
4. 岡松優子(2016) 獣医生化学, 11章「代謝の臓器特異性とその相関」, 朝倉書店, pp119-131.
5. 岡松優子, 深野圭吾(2014) 褐色脂肪細胞の増殖とその生理的意義, 医学のあゆみ, 医歯薬出版株式会社, 第250巻, 第9号, pp822-826.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

北海道大学大学院獣医学研究科 比較形態

機能学講座 生化学教室

<https://www.vetmed.hokudai.ac.jp/organization/biochem/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡松 優子 (OKAMATSU, Yuko)