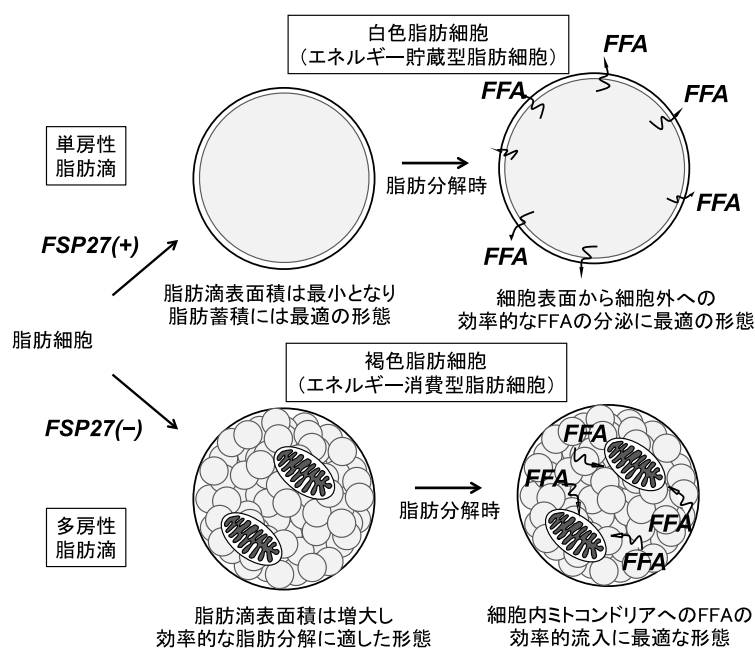


## 1. 研究の背景と目的

近年、世界レベルで増加が憂慮されている肥満の本態は脂肪細胞における過剰な中性脂肪の蓄積である。脂肪細胞にはエネルギー貯蔵型の白色脂肪細胞とエネルギーを消費する褐色脂肪細胞がある。このエネルギー蓄積型の白色脂肪細胞とエネルギー消費型の褐色脂肪細胞の機能を規定する構造的特性は、細胞内の脂肪滴蓄積形態の違いとミトコンドリアの増生の有無であると考えられる。つまり、エネルギーを貯蔵する白色脂肪細胞は単房性に中性脂肪を貯蔵し、ミトコンドリアの発達も著明で無い。一方、エネルギーを消費する褐色脂肪細胞は多房性の小脂肪滴として中性脂肪を貯蔵し、ミトコンドリアの増生が著明である。脂肪滴とミトコンドリアという、エネルギー備蓄とエネルギー消費を担う細胞内器官を同時に制御するシステムの解明は、脂肪細胞のエネルギー代謝を考える上で、新たな切り口として魅力的である。近年、ヒトにおいても褐色脂肪細胞がエネルギー消費を高めて、肥満に対して抑制的に機能するとともに、寒冷刺激が褐色脂肪細胞を誘導することが確認され、褐色脂肪細胞の研究は肥満治療への応用も見据えて非常にホットなフィールドとなっている。我々は脂肪細胞の分化と脂肪蓄積能に関する研究を重ね、そこで得られた知見をヒントに、脂肪蓄積能を維持するのに重要と考えられる **Fat specific protein of 27kDa (FSP27)** を欠失したマウスを作成した。このマウスはエネルギー消費量が高く、奇しくも白色脂肪細胞が、褐色脂肪細胞特有の多房性の脂肪蓄積とミトコンドリアの増生を伴う形態に変化していた (Nishino N, Tamori Y, et al J Clin Invest 118: 2808-2821, 2008)。

そこで我々は、このマウスモデルを元に、脂肪細胞のエネルギー消費を規定する上で、極めて重要な細胞内器官であるミトコンドリアの増生を制御するメカニズムを解明し、肥満の診療に資することを目的とした。



## 2. 研究方法・研究内容

本研究は、ミトコンドリアの増生に関わる新たな候補因子の同定と、候補因子のミトコンドリア増生に対する細胞レベルでの検討から成る。

○ミトコンドリア増生に関わる候補因子の同定

FSP27 欠損マウスの白色脂肪細胞はミトコンドリアの増生が亢進していることを踏まえ、FSP27 に関連する蛋白がミトコンドリアの増生に関わると考え、質量分析法を用いた FSP27 結合蛋白の同定を試みた。

また、ミトコンドリアの増生には転写活性補助因子である PGC-1 $\alpha$  が重要な役割を果たしていることが証明されているが、この蛋白の発現を制御するシグナルとして protein kinase A(PKA)経路が重要であることが知られている。よって、FSP27 が PKA 経路に如何に関与するかを検討した。

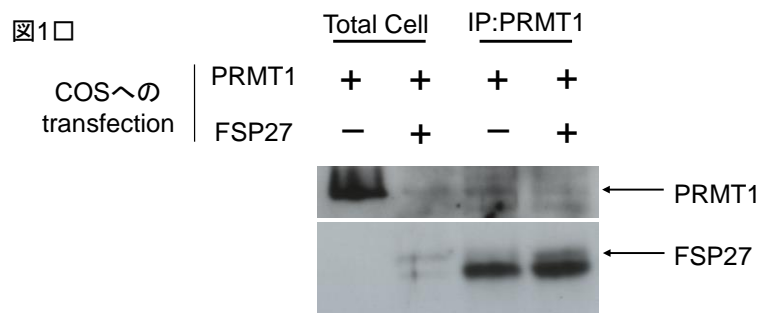
○候補因子のミトコンドリア増生に対する細胞レベルでの検討

得られた FSP27 結合蛋白候補の発現をマウスの組織で検討し、どういった臓器に発現が多いか確認した。とくに白色脂肪細胞と褐色脂肪細胞での発現の差が重要と考えた。

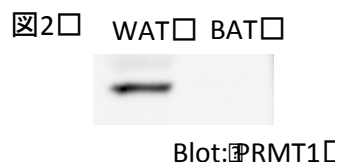
## 3. 研究成果

現時点で FSP27 結合蛋白として、アルギニンメチル基転移酵素である PRMT1、RNA 結合蛋白である Sam68、ユビキチンプロテアーゼである USP30 を同定している。

まず、PRMT1 について検討を進めた。PRMT1 を FSP27 と同時に COS 細胞に過剰発現し、FSP27 の特異抗体で免疫沈降し、PRMT1 との共沈を確認した (図 1)。

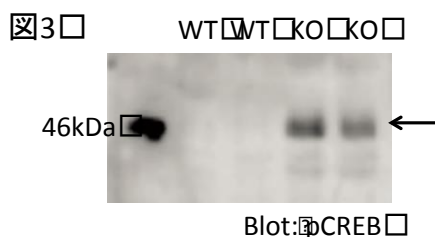


また、FSP27 が機能する白色脂肪組織 (WAT) には PRMT1 の蛋白発現を認めたが、褐色脂肪組織 (BAT) には有意な発現を認めなかった (図 2)。



PRMT1 は PGC-1 $\alpha$  をアルギニンメチル化し、PGC-1 $\alpha$  活性を増強して、ミトコンドリア増生に関わる遺伝子の発現を増加させる事が知られている (Genes Dev 19,

1466-1473, 2005)。故に、FSP27はPRMT1を介して、PGC-1 $\alpha$ の活性、ひいては脂肪細胞のミトコンドリアの増生を制御している可能性が示唆され、これを検討中である。またFSP27欠損マウスで、PGC-1 $\alpha$ を制御するシグナルであるPKA経路の活性をPKAの直接の基質であるCREBのリン酸化(pCREB)を指標に検討を行ったところ、野生型マウス(WT)に比し、FSP27欠損マウス(KO)の白色脂肪細胞でpCREBのリン酸化の亢進が確かめられた(図3)。



逆に、COS細胞にFSP27を過剰発現して、forskolin刺激でPKAを活性化し、リン酸化されたpCREBを免疫染色により検討したところ、pCREBの減少が確認された。以上の結果は、FSP27がPKAのリン酸化活性を抑制的に制御していることを示している。実際、FSP27欠損マウス(KO)の白色脂肪細胞では、PKAシグナルの下流で制御されている転写因子FOXO1の発現増加が認められた(図4)。



これまでの報告では、PRMT1はFOXO1のアルギニンメチル化を介してセリンのリン酸化を抑制し、その結果FOXO1の転写活性を亢進させると考えられている(Mol Cell 32, 221-231, 2008)。また、FOXO1は脂肪細胞の主要な脂肪分解酵素であるATGLの発現を増強することも既報にある(J Biol Chem 284, 13296-13300, 2009)。もし、FSP27が白色脂肪細胞内でPRMT1と結合し、PRMT1の機能を抑制しているとすれば、FSP27の欠損は白色脂肪細胞における脂肪分解の亢進に繋がり、これもエネルギー消費を増大させるメカニズムの一端と考えられる。

#### 4. 生活や産業への貢献および波及効果

肥満は糖尿病、心血管疾患、脂質異常症、高血圧、がんなど幅広い疾患の危険因子となる病態であり、肥満を克服することはひろく国民の健康に極めて重要である。しかし、従来の肥満治療は摂取カロリーの抑制が主流であり、運動を除いてはエネルギー消費の増大をベースにした治療法は未開発である。本課題で研究したFSP27は、脂肪細胞で中性脂肪の効率的な蓄積を促進するのみならず、ミトコンドリアの増生を制御してエネ

ルギー消費を抑制する因子であり、脂肪細胞におけるエネルギー代謝のマスターレギュレータの1つである。本課題の研究では FSP27 が PKA シグナを制御することで脂肪細胞をエネルギー消費型からエネルギー蓄積型へ方向付けていることが明らかになった。また、FSP27 結合蛋白である PRMT1 も、PGC-1 $\alpha$  や FOXO1 のアルギニンメチル化を通して脂肪細胞のエネルギー代謝を制御している新規のメカニズムも推測された。ヒトにおいても褐色脂肪細胞が抗肥満効果を持つことが明らかになっていることを考えると、我々が目指す FSP27 のミトコンドリア増生に対する制御機構の全容解明は、肥満治療に新たなステージをもたらせることが期待される。