135. $sPLA_2$ を起点とした脂肪細胞の褐色化の制御機構の解明

佐藤　弘泰

*東京都医学総合研究所 生体分子先端研究分野 脂質代謝プロジェクト

Key words：リン脂質代謝，ホスホリパーゼ A_2，脂肪細胞の褐色化

緒　言

現在、肥満は増加の一途をたどり、今や BMI 25 kg/m^2 以上の人口が世界の 3 分の 1 を占める。肥満は糖尿病、脂質代謝異常症、高血圧など代謝性疾患を通じて動脈硬化性疾患をもたらし、患者の生命や生活予後を脅かす。肥満の形成は、食事摂取や吸収の増加とエネルギー消費低下のバランスに依存する。肥満の病態を形成する脂肪細胞には、皮下脂肪や内臓脂肪などの白色脂肪細胞と褐色脂肪細胞の 2 種類が存在する。白色脂肪細胞は過剰なエネルギーを脂肪として蓄え、褐色脂肪細胞はミトコンドリアの脱共役蛋白質 UCP1 を介して蓄積されたエネルギーを熱へと変換する。近年これに加えて、白色脂肪組織中に褐色脂肪細胞と同様の応答性を示す褐色様脂肪細胞（ベージュ脂肪細胞）が誘導されることが明らかになった [1]。従来、ヒト成人には褐色脂肪細胞は存在しないと言われていたが、ベージュ脂肪細胞の発見はヒト成人においても褐色様脂肪組織を増やすことができることを示唆しており、白色脂肪細胞のベージュ細胞への分化誘導は肥満症や糖尿病の新規かつ根本的な治療方法として注目されている。したがって、白色脂肪細胞のベージュ化を規定する因子の同定とその作用機序の解明は重要な課題である。これまでに様々な褐色化調節因子が同定されており、その中には機能性脂質が含まれる。しかしながら、ベージュ化のプロセスにおいて機能性脂質が動員される分子機構は十分に理解されていない。脂肪細胞の褐色化を誘導することが知られている寒冷刺激した脂肪組織において、2 つの細胞外リン脂質代謝酵素「$sPLA_2$-IIE」、「$sPLA_2$-XIIA」の発現が強く誘導されることを見出した。このことは、この 2 種類のアイソザイムが脂肪細胞の褐色化の制御に影響を及ぼす可能性が想定される。本研究では、脂肪細胞の褐色化により発現が誘導される 2 つのアイソザイム「$sPLA_2$-IIE」、「$sPLA_2$-XIIA」の欠損マウス系統に焦点を絞り、$sPLA_2$ 群による代謝調節の新しいメカニズムの解明を試みる。すなわち、脂肪細胞の褐色化との関連が示唆される 2 種類の $sPLA_2$ に着目し、脂肪組織の褐色化において各 $sPLA_2$ を起点として動員される機能性脂質とそれによる代謝の新規調節機構を解明することを目的とする。

*現在の所属：東京大学 大学院医学系研究科 疾患生命工学センター 研究環境医工学部門

方法および結果

1. $sPLA_2$-IIE と $sPLA_2$-XIIA は脂肪組織の褐色化により発現が誘導される

白色脂肪細胞の褐色化にともない発現の変動する脂質代謝酵素を一括して同定する目的で、サーモニュートラル（30℃）で 7 日間飼育したものと、30℃で 2 日間順化させた後、低温下（4℃）で 5 日間飼育したマウスの間で皮下脂肪組織のマイクロアレイを行った。その結果、リン脂質代謝酵素のうち $sPLA_2$-IIE, $sPLA_2$-XIIA が寒冷刺激により皮下脂肪組織に著しく発現誘導される遺伝子として同定された（図 1A）。定量的 PCR により寒冷刺激における $sPLA_2$-IIE, $sPLA_2$-XIIA の経時的な発現変化を調べると、寒冷刺激後 1 日目で $sPLA_2$-IIE の発現は顕著に増加し、寒冷刺激後 7 日目でさらに発現が増加した（図 1B）。一方、寒冷刺激後 6 時間で $sPLA_2$-XIIA の発現が著しく増加した。これらの結果は、脂肪細胞に発現している $sPLA_2$-XIIA は褐色化の初期から、ベージュ脂肪細胞に発現している $sPLA_2$-IIE は褐色化の後期において、共に脂肪細胞の褐色化の調節に関わることが推察された。

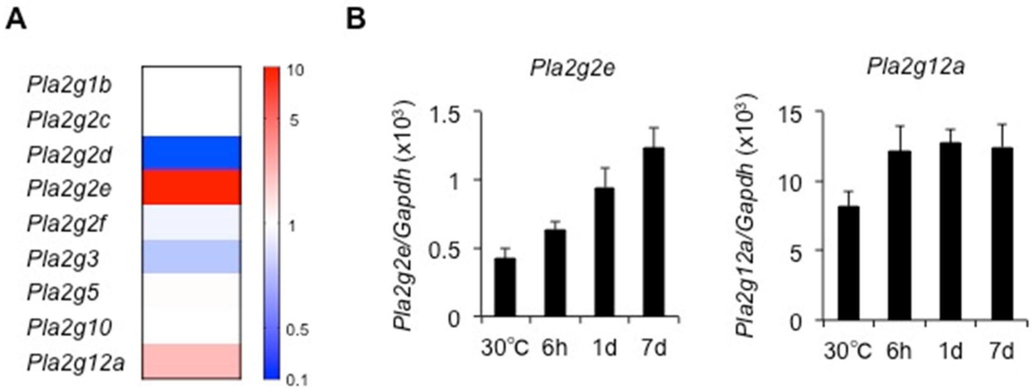

図 1. $sPLA_2$-IIE と $sPLA_2$-XIIA は脂肪組織の褐色化により発現が誘導される

A）サーモニュートラル（30℃）で 7 日間飼育したものと、30℃で 2 日間順化させた後、低温下（4℃）で 5 日間飼育したマウスの間で皮下脂肪組織のマイクロアレイ。$sPLA_2$ アイソザイムのヒートマップ。B）寒冷刺激における $sPLA_2$-IIE、$sPLA_2$-XIIA の経時的な mRNA 発現変化。

2. *Pla2g2e* 欠損マウスでは脂肪細胞の褐色化が抑制される

sPLA$_2$-IIE は脂肪細胞の褐色化により脂肪細胞に誘導される遺伝子であることから、次に脂肪細胞の褐色化が促進される β3 アドレナリン受容体アゴニスト（CL316,243 : 1 mg/kg body weight）を *Pla2g2e* 欠損マウスに 3 日間連続投与し、脂肪細胞の褐色化について評価した。*Pla2g2e* 欠損マウス皮下脂肪組織では対照マウスと比較して、*Ucp1* や *Cidea* などの熱産生関連遺伝子の発現は減少傾向を示した（図 2A）。また、*Pla2g2e* 欠損マウスを低温（4℃）下に置くと、β3 アドレナリン受容体アゴニスト投与と同様に、皮下脂肪組織では対照マウスと比較して、*Ucp1* や *Cidea* などの熱産生関連遺伝子の発現は減少傾向を示した（図 2B）。さらに *Pla2g2e* 欠損マウスの鼠径部の脂肪組織より採取した前駆脂肪細胞に、成熟脂肪細胞へ分化誘導する培地を加え 6 日間培養し、そこにβ3 アドレナリン受容体アゴニスト（CL316,243 : 0.5 μM）を添加し、2 日後の白色脂肪細胞の *Ucp1* 発現を定量 PCR により調べた。その結果、対照マウス由来の白色脂肪細胞にβ3 アドレナリン受容体アゴニストを添加すると、*Ucp1* の発現が有意に増加したが、*Pla2g2e* 欠損マウス由来の白色脂肪細胞では、*Ucp1* の発現上昇が抑えられた（図 2C）。以上のことから、*Pla2g2e* 欠損により脂肪細胞の褐色化が抑制されることが明らかとなった。

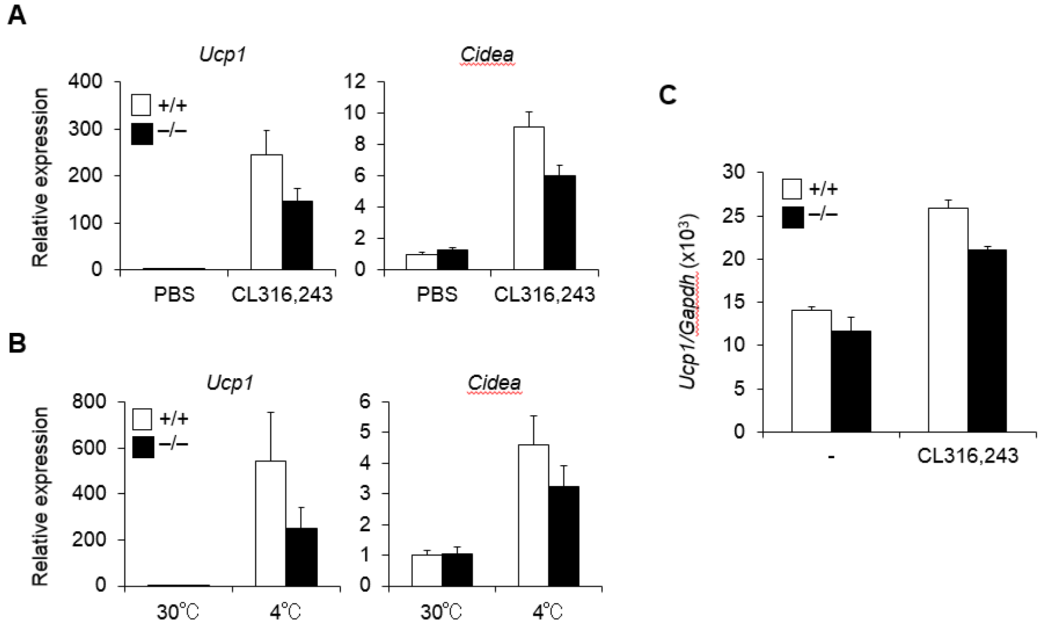

図 2. *Pla2g2e* 欠損マウスでは脂肪細胞の褐色化が抑制される

A）β3 アドレナリン受容体アゴニスト投与による皮下脂肪組織における *Ucp1, Cidea* の mRNA 発現。
B）寒冷刺激による皮下脂肪組織における *Ucp1*、 *Cidea* の mRNA 発現。C）白色脂肪細胞における CL316,243 添加による *Ucp1* の mRNA 発現。

3. *Pla2g12a* 欠損マウスでは脂肪細胞の褐色化が抑制される

さらに sPLA$_2$-XIIA も脂肪細胞の褐色化により脂肪細胞に誘導される遺伝子であることから、次に *Pla2g12a* 欠損マウスを低温（4℃）下に置き、脂肪細胞の褐色化について評価した。*Pla2g12a* 欠損マウス皮下脂肪組織では対照マウスと比較して、*Ucp1* や *Cidea* などの熱産生関連遺伝子の発現は減少傾向を示した（図 3A）。さらに低温下で、*Pla2g12a* 欠損マウスでは皮下脂肪組織において褐色化促進因子である *Fgf21* の発現誘導が抑えられた（図 3B）。また *Pla2g12a* 欠損マウスの鼠径部の脂肪組織より採取した前駆脂肪細胞に成熟脂肪細胞へ分化誘導する培地を加え 6 日間培養し、そこに β3 アドレナリン受容体アゴニスト（CL316,243 : 0.5 μM）を添加し、2 日後の白色脂肪細胞の *Ucp1* 発現を定量 PCR により調べた。その結果、対照マウス由来の白色脂肪細胞に β3 アドレナリン受容体アゴニストを添加すると、*Ucp1* の発現が有意に増加したが、*Pla2g12a* 欠損マウス由来の白色脂肪細胞では、*Ucp1* の発現上昇が抑えられた（図 3C）。以上のことから、*Pla2g12a* 欠損により脂肪細胞の褐色化が抑制されることが明らかとなった。

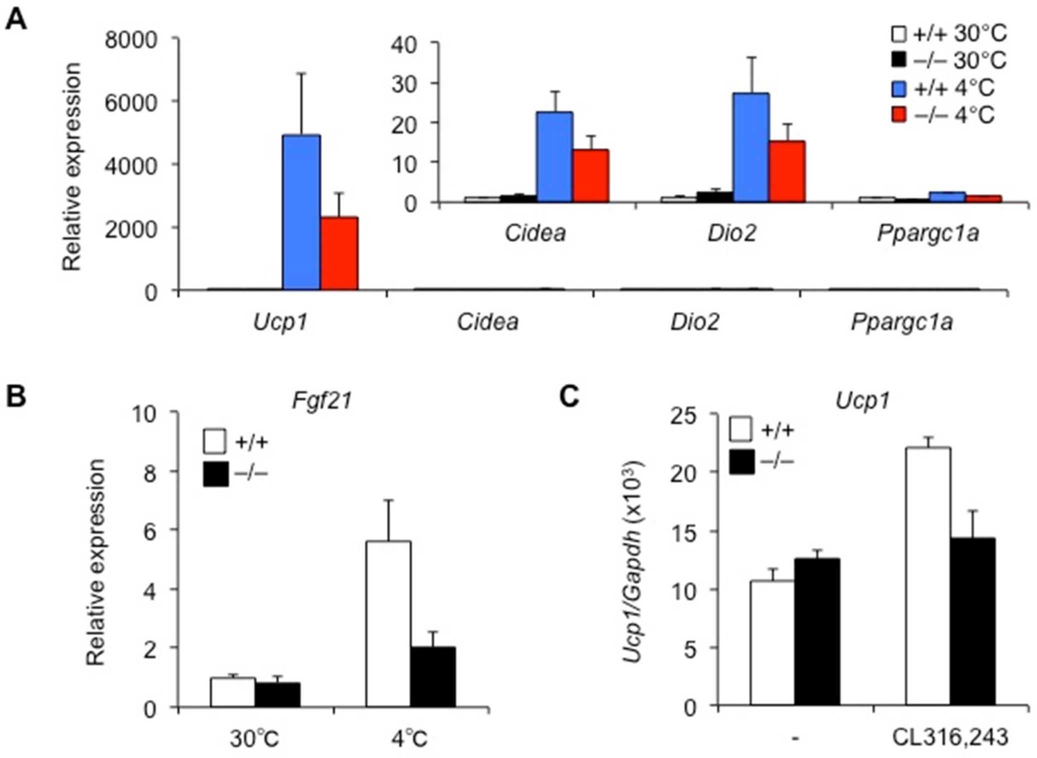

図 3. *Pla2g12a* 欠損マウスでは脂肪細胞の褐色化が抑制される

A）寒冷刺激による皮下脂肪組織における熱産生遺伝子群の mRNA 発現。B）寒冷刺激による皮下脂肪組織における *Fgf21* の mRNA 発現。C）白色脂肪細胞における CL316,243 添加による *Ucp1* の mRNA 発現。

考　察

本研究により、$sPLA_2$-IIE および $sPLA_2$-XIIA が脂肪細胞の褐色化の新規促進因子であることが明らかとなった。$sPLA_2$-IIE はリポタンパク質の微量リン脂質（PS、PE）を脂肪酸非特異的に分解することを見出している［2］。このことから、$sPLA_2$-IIE が細胞外微粒子（リポタンパク質やエクソソーム）を分解し、産生されるリゾリン脂質（LysoPS、LysoPE）が脂肪細胞の褐色化の促進に関わっている可能性が想定される。また $sPLA_2$-XIIA は高度不飽和脂肪酸（PUFA）含有 PE を選択的に分解する酵素活性を持つことから、$sPLA_2$-XIIA が何らかのリン脂質（基質）に作用し、産生された PUFA が脂肪細胞の褐色化の促進に関わっていると考えられる。今後は、この 2 種類の $sPLA_2$ アイソザイムが現在想定している脂質を動員するのかリピドミクスにより検証し、実際動員された脂質が脂肪細胞の褐色化を促進するのか調べる。さらにこの 2 種類の $sPLA_2$ アイソザイムの標的基質の探索を行う予定である。

文　献

1）Wu J, Boström P, Sparks LM, Ye L, Choi JH, Giang AH, Khandekar M, Virtanen KA, Nuutila P, Schaart G, Huang K, Tu H, van Marken Lichtenbelt WD, Hoeks J, Enerbäck S, Schrauwen P, Spiegelman BM. Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. Cell. 2012 Jul 20;150(2):366-76. DOI: 10.1016/j.cell.2012.05.016.

2）Sato H, Taketomi Y, Ushida A, Isogai Y, Kojima T, Hirabayashi T, Miki Y, Yamamoto K, Nishito Y, Kobayashi T, Ikeda K, Taguchi R, Hara S, Ida S, Miyamoto Y, Watanabe M, Baba H, Miyata K, Oike Y, Gelb MH, Murakami M. The adipocyte-inducible secreted phospholipases PLA2G5 and PLA2G2E play distinct roles in obesity. Cell Metab. 2014 Jul 1;20(1):119-32. doi: 10.1016/j.cmet.2014.05.002.