

## 褐色脂肪細胞と白色脂肪細胞の分子特性評価

日大生産工(院) ○山崎 春香  
日大生産工 野呂 知加子

## 1 背景および目的

日本での肥満者の割合は男性29.5%、女性19.2%である<sup>(1)</sup>。肥満は、高脂血症、糖尿病、高血圧、動脈硬化症など多くの病態（生活習慣病）の発症原因となる。

睡眠・覚醒や体温のみならず、糖・脂質代謝やホルモンの分泌、食物の消化・吸収などの様々な生理機能には約24時間の概日リズムが存在し、体内時計により制御されている。一方、シフトワークや夜勤による体内時計の乱れや朝食欠食や夜食症などの摂食リズムの乱れが肥満や糖尿病、メタボリックシンドロームなどの罹患リスクを増加させていることが知られている<sup>(2)</sup>。夜行性のマウスにおいても摂食時刻の違いにより肥満の程度が異なることが報告されているが、そのメカニズムについては解明されていない<sup>(3)</sup>。我々は産総研の大石研究グループと共に、これまでにマウスにおける摂食時間帯の違いが、食餌性肥満の発症に与える影響について検討し、その分子メカニズムを明らかにした<sup>(4)(5)</sup>。

6週齢の雄性C57BL/6Jマウスを回転かごケージにて飼育し、明暗各12時間の条件下にて高脂肪高ショ糖食を用いた8時間の時間制限給餌を10日間行った。朝摂食(MF)、昼摂食(DF)、夕摂食(EF)、夜摂食(NF)の4群間において、活動リズム、摂餌量、体重、臓器重量を測定するとともに、血漿、肝臓、白色脂肪、骨格筋を採取し、血中ホルモンや代謝関連遺伝子の発現量をリアルタイムPCRにて測定した。

回転輪の輪回し行動は、いずれの群においても明暗サイクルに同調した夜行性の活動リズムを示したが、DF群においては、暗期後半の活動量が顕著に減少し、1日当たりの総活動量も有意に減少した。DF群では、他群に比べて脂肪重量の増加と体重増加、血中総コレステロールの増加、肝臓での総脂質、総コレステロール、中性脂肪、遊離脂肪酸の増加が認められた。DF群では、肝臓や白色脂肪において、脂肪酸合成に関わる律速酵素遺伝子*Scd1*、*Acaca*、*Fasn*などのmRNA発現が亢進しており、このことが血中や臓器中にお

ける脂質増加の原因であると考えられた。興味深いことに、DF群においては顕著な高インスリン血症が認められ、血中インスリンの増加が、脂肪酸合成の誘導に寄与している可能性が考えられた。以上の結果より、比較的短期間の休息期の時間制限摂餌が、脂肪肝や脂肪蓄積の増加を伴う食餌性肥満を促進する可能性が示された。

一方、マウスは飢餓状態においてエネルギー消費を抑制するために体温を低下させることが知られている。我々は産総研の大石研究グループと共に、飢餓時における時刻依存的な体温維持メカニズムが存在し、体内時計が関与する可能性について検討を行ってきた。飢餓を模倣するケトン体食（高脂肪低炭水化物食）を摂取したマウスでは1日の平均体温が普通食の場合に比べて有意に低下し、特に1日の中でも活動期（暗期）後半から休息期（明期）前半に体温が低下する日内休眠が観察される。骨格筋の熱産生機能に着目し、その役割について検討を行った<sup>(6)</sup>。

坐骨神経切除によって筋萎縮を誘発したマウスにケトン体食を摂取させたところ（筋萎縮+ケトン体食群）、対照マウス（ケトン体食群）と比較して有意に体温が低下したことから、飢餓時における体温維持には骨格筋における熱産生が重要であると考えられた。我々はDNAマイクロアレイにより、筋萎縮によって影響を受けるエネルギー代謝関連分子を探索し、骨格筋における熱産生分子*Slc25a25*を見出した。*Slc25a25*遺伝子は暗期の始めをピークとする顕著な日周発現を示し、ケトン体食負荷によって発現が誘導されたが、筋萎縮によって発現量が顕著に減少し、発現リズムも減衰した。熱産生を担う臓器として褐色脂肪組織（BAT）が重要であるとこれまで報告されてきたが、BATにおける*Slc25a25*遺伝子、*Ucp1*遺伝子の発現量には筋萎縮+ケトン体食群、ケトン体食群の間で差が見られなかった。また、*Slc25a25*遺伝子の発現リズムは時計遺伝子*Clock*変異マウス、*Bmal1*欠損マウスの骨格筋において減衰しており、体内時計の制御を受けることが示唆された。これらの結果から、飢餓時の体

## Molecular characterization of brown adipocytes and white adipocytes

Haruka YAMAZAKI and Chikako YOSHIDA-NORO

温維持には骨格筋による熱産生が重要であり、筋萎縮や体内時計の乱れに伴って発現量が低下する骨格筋特異的な日周発現遺伝子 *Slc25a25* がその責任分子である可能性が示された。

以上の研究成果を踏まえて、我々は現在、褐色脂肪細胞と白色脂肪細胞に着目して研究を行っている。脂肪細胞には白色脂肪細胞と褐色脂肪細胞があり、白色脂肪細胞はエネルギーの貯蔵、褐色脂肪細胞はミトコンドリアを多く含み、脂肪を分解することで熱を産生する。最近の研究によりヒト成人にも褐色脂肪細胞が存在することが分かり、肥満の予防や治療の観点から盛んに研究が行われるようになってきている。

一方、医学部細胞再生移植医学講座との共同研究により、白色脂肪細胞は加工すると間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cells : MSC) と同様の多能性を持つ脱分化脂肪細胞 (dedifferentiated fat cells : DFAT) となることがわかっている。MSCのうち *Myf5* を発現する細胞は褐色脂肪細胞または筋肉の元となる筋芽細胞になり、*Myf5* を発現しない細胞は白色脂肪細胞になることが報告されている<sup>(7)</sup>。褐色脂肪細胞か筋芽細胞のどちらに分化するかを決定する分子として PRDM16 が挙げられる。褐色脂肪細胞の PRDM16 を減弱することで骨格筋形成を誘導すること、また筋芽細胞に PRDM16 を形質導入することで褐色脂肪生成を引き起こすことが報告されている<sup>(8)</sup>。しかし褐色脂肪細胞から脱分化脂肪細胞が生成されたという報告はされていない。白色脂肪細胞由来の DFAT からは筋肉細胞の分化はほとんど起こらないが、*Myf5* を発現する褐色脂肪細胞由来の DFAT を樹立すれば、筋肉分化率を高められる可能性がある。

本研究は、褐色脂肪細胞から脱分化脂肪細胞を樹立することを目的とし、前段階として各脂肪細胞および脱分化脂肪細胞を遺伝子解析することで分子特性を評価した。

## 2 実験方法および実験結果

マウス DFAT-D1 細胞を 10 cm dish を使い、DMEM+10%FCS+1%ペニシリンで3日間培養した。



Fig1. 培養した DFAT 細胞

これより キアゲンキットにより RNA を抽出した。この RNA を元に cDNA synthesis kit を用いて、cDNA を合成した。この cDNA をお用いて Applied Biosystems を用いて次の遺伝子について遺伝子発現解析を行った (*Gapdh* : ハウスキーピング遺伝子、*Sox9* : 軟骨の初期分化マーカー遺伝子、*Runx2* : 骨の初期分化マーカー遺伝子、*Ucp1*, *Cidea*, *Elovl3* : 褐色脂肪細胞のマーカー遺伝子)。

### 「参考文献」

- 1) 厚生労働省 国民健康・栄養調査 (平成 27 年)
- 2) Karlsson B et al. Is there an association between shift work and having a metabolic syndrome? Results from a population based study of 27,485 people. *Occup Environ Med.*;58(11), (2011) p.747-52.
- 3) Arble DM et al. Circadian timing of food intake contributes to weight gain. *Obesity (Silver Spring)*;17, (2009) p.2100-2.
- 4) Yasumoto Y et al. Short-term feeding at the wrong time is sufficient to desynchronize peripheral clocks and induce obesity with hyperphagia, physical inactivity and metabolic disorders in mice. *Metabolism.* ;65(5) (2016) p.714-27.
- 5) 第 70 回日本栄養・食糧学会大会「摂食時間帯の乱れはマウスにおける脂質合成を亢進させ食餌性肥満を促進する」山崎春香
- 6) 第 70 回日本栄養・食糧学会大会「骨格筋特異的な日周発現遺伝子 *Slc25a25* は飢餓時の熱産生を制御する」中尾玲子
- 7) Elsen M et al. BMP4 and BMP7 induce the white-to-brown transition of primary human adipose stem cells. *Am J Physiol Cell Physiol.* ;306(5) (2014) p.431-40
- 8) Seale P et al. PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature.* ;454(7207) (2008) p.961-7.