

受賞者

中川 嘉

筑波大学大学院人間総合科学研究科診断生化学

研究テーマ

脂肪組織のTFE3による生活習慣病病態への統合的機能解析

1. はじめに

欧米先進各国では、脂肪分摂取の増大などから摂取カロリー過剰と運動不足などにより消費カロリーの低下からエネルギー蓄積過剰の状態である肥満とそれに基づくメタボリックシンドロームの患者の増加が深刻な社会問題になっている。日本においても、近年、生活習慣の欧米化が進み、いわゆる生活習慣病と呼ばれる糖尿病、高血圧、高脂血症、肥満、動脈硬化症などの患者が急速に増加し、さらにそれら疾患が一個人に集積するメタボリックシンドロームへと発展し、最終的には虚血性心疾患、脳卒中などの動脈硬化性疾患にまで進展する。動脈硬化症は、日本は悪性新生物(がん)と並び主要な死因となっている。そのため、肥満・メタボリックシンドロームの原因の解明とそれに基づく根本的な予防法や治療法の確立がきわめて重要である。生活習慣病の病態は特定の遺伝子変異というよりはエネルギー代謝遺伝子などの関連遺伝子機能の調節ないしは発現異常として捉えるべきであり、糖脂質代謝におけるエネルギー過剰あるいは消費不足に対する病的破綻状態という視点からエネルギー代謝制御機構の研究を展開してきた。生活習慣病/メタボリックシンドロームの病態の解明と治療法の開発においては、遺伝子発現調節の失調という観点から研究を推進することが重要と考える。

最近、私は生活習慣病に関連する転写因子TFE3を見出した。TFE3は肝臓でのインスリン感受性を制御し糖尿病の発症に大きく関与するIRS-2の発現を上昇させることでインスリンの感受性を増強し、糖尿病病態の改善を引き起こす。生活習慣病の治療という点でTFE3は重要な因子であることが明らかとなった¹。しかし、肝臓以外の他のエネルギー代謝責任臓器でのTFE3の機能は今だ不明である。

脂肪組織は単なるエネルギー貯蔵のための組織ではなく、積極的にエネルギー代謝に関与していることが明らかになってきている。2型糖尿病患者はインスリン抵抗性を示し、その多くは内臓脂肪型肥満であることから肥満とインスリン抵抗の関連が示唆されている。肥満の形成メカニズムを明らかにし、肥満を改善することは現代社会では急務となっており、本研究はその一端を担う。

2. 目的

本研究では、脂肪細胞の増殖、分化といった脂肪細胞の運命決定と脂肪の代謝に TFE3 がどう関わっているかを明らかにし、さらにマウス脂肪組織における機能解析を行った。TFE3 が脂肪細胞機能への影響および肥満形成にどのような影響を検討した。これら解析から、生体における肥満形成の解析へ発展させることで生活習慣病の新たな治療戦略構築を目指した。

3. 方法

脂肪組織における TFE3 の機能を解析するため、細胞レベルからマウス個体レベルまでトータルに解析することで生体に対する機能を明らかにする。本研究では特に脂肪組織を焦点に解析を行った。

1. in vitro解析

TFE3 の直接的な脂肪細胞の機能を解析するため、脂肪細胞モデル細胞である 3T3-L1 細胞を用いた。

遺伝子導入するため、TFE3 および TFE3 RNAi の組換えアデノウイルスを用い 3T3-L1 へ遺伝子導入しその変化を検討した。

2. *in vivo*解析

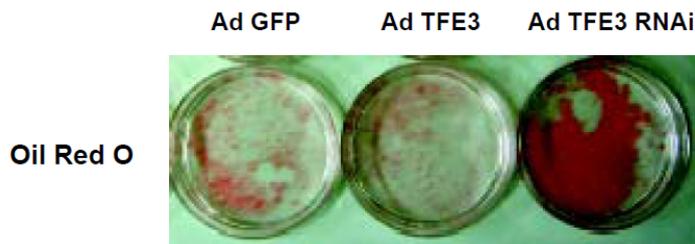
生体における機能解析を行うため、脂肪組織特異的に TFE3 を発現するトランスジェニックマウスを作製し、生体における機能解析を行った。

4. 結果

生活習慣病における改善機能を有する TFE3 がこの脂肪細胞の増殖・分化から肥満の形成までを *in vitro* から *in vivo* までをトータルに解析し、その機能から生活習慣病のなかでも肥満に注目して解析を行った。3T3-L1 細胞は TFE3 過剰発現では成熟脂肪細胞への分化は抑制され、成熟脂肪細胞での脂肪滴の形成も減少した。一方、RNAi によるノックダウンでは、脂肪細胞の分化は顕著に促進され、結果的に脂肪細胞は分化し、脂肪滴の形成も増加した。脂肪成分を染色するオイルレッドオー染色により、評価したところ、TFE3 過剰発現ではオイルレッドオーにより染色される脂肪量はコントロールに比べ少なく、

TFE3は脂肪細胞3T3-L1の分化抑制する

分化誘導後8日目



RNAi によるノックダウンでは逆に染色される細胞および脂肪量は顕著に増加していた。形態の変化とともに、脂肪細胞の分化にかかわる遺伝子群の発現についても評価を行った。TFE3 の過剰発現では C/EBPalpha、PPARgamma、FABP4(aP2)をはじめとする脂肪細胞の増殖、分化を決定するマスターレギュレー

ター遺伝子群の発現が抑制されており、逆にノックダウンでは逆にそれら遺伝子群の発現上昇が引き起こされており、TFE3 が脂肪分化に関わる遺伝子群を抑制的に制御していることを示す結果となった。その際 TFE3 の過剰発現では HIF-1a の発現の上昇が見られた。HIF-1a は PPARgamma の発現を抑制することで脂肪細胞分化に抑制することが報告されている²。TFE3 RNAi によりその発現は減少しており、

TFE3は脂肪組織では栄養状態で発現を変動させる

White Adipose Tissue



MF; Normal Food
HFHS; High Fat High Sucrose Food

TFE3 による脂肪細胞の分化への影響は HIF-1a と関連していると考えられる。さらに、HIF-1a のプロモーター解析からも TFE3 が直接的に HIF-1a の遺伝子発現調節を行っていることが明らかとなっている。

TFE3 の脂肪組織、特に白色脂肪組織における発現

変動を検討した。正常マウスに比べ肥満モデルマウスである ob/ob マウスでは TFE3 の発現量の増加が

見られた。また、正常マウス、病態マウスともに栄養状態、絶食時である栄養枯渇状態と再摂食時、栄養過多状態でその発現量は変化する。また、TFE3 と肥満との関係は、ヒトにおいて、その肥満の度合いである BMI の増加に伴い、TFE3 の発現が上昇することが報告³されており、脂肪形成への関与が強く示唆された。

そこで、個体における TFE3 の機能解析を行うため、脂肪組織特異的に TFE3 を発現するトランスジェニックマウスを作成した。このマウスは寒冷刺激により、PGC-1a の発現が上昇するとともに、PGC-1a の下流遺伝子の発現もともに上昇した。PGC-1a は褐色脂肪組織において熱産生に機能し、エネルギー消費に働く^{4,5}。このマウスにおいてもエネルギーを消費の方向に向かわせることが推測される。

5. 考察

脂肪細胞の増殖・分化において、細胞レベルでの解析から TFE3 は細胞分化および脂肪蓄積に抑制的に働くことが明らかになった。TFE3 は肥満を呈するマウス(ob/ob、食事誘導性肥満マウス)の脂肪組織で発現が上昇しているが、細胞での解析を推測するとこのことは脂肪形成を抑制するフィードバックにより TFE3 が上昇したと考えられる。脂肪特異的 TFE3 トランスジェニックマウスの脂肪組織では脂肪燃焼系遺伝子群の発現が上昇しており、エネルギー代謝を制御し、特にエネルギー消費に機能することが推測される。脂肪組織での燃焼系遺伝子の活性化は抗肥満という観点から生活習慣病改善に機能していると考えられる。以上から、TFE3 は脂肪組織において、脂肪細胞の増殖・分化において抑制的に働くとともに、脂肪組織ではエネルギー消費を促進することから肥満に対して抑制的に働くことが推測された。

脂肪細胞の状態は生活習慣病と密接に関連しており、脂肪形成の分子メカニズムを明らかにすることは生活習慣病の改善には有効である。脂肪細胞の機能に積極的に関与する TFE3 は生活習慣病の有効的な治療標的になりえると考えられる。

6. 参考文献

1. Nakagawa, Y. et al. TFE3 transcriptionally activates hepatic IRS-2, participates in insulin signaling and ameliorates diabetes. *Nat Med* **12**, 107-113 (2006).
2. Yun, Z., Maecker, H.L., Johnson, R.S. & Giaccia, A.J. Inhibition of PPAR gamma 2 gene expression by the HIF-1-regulated gene DEC1/Stra13: a mechanism for regulation of adipogenesis by hypoxia. *Dev Cell* **2**, 331-41 (2002).
3. Chiellini, C. et al. Identification of cathepsin K as a novel marker of adiposity in white adipose tissue. *J Cell Physiol* **195**, 309-21 (2003).
4. Puigserver, P. et al. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell* **92**, 829-39 (1998).
5. Wu, Z. et al. Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell* **98**, 115-24 (1999).