

トピックス

# 白色脂肪組織でのUCP 1の異所性発現と脂肪細胞

北海道大学大学院獣医学研究科生化学教室

入江 由希子, 斉藤 昌之

## はじめに

脱共役蛋白質(UCP)は, その名の通りミトコンドリアでの酸化的磷酸化を脱共役させ, 基質酸化のエネルギーを熱として放散する蛋白質ファミリーである. 哺乳動物UCPは現在までに5種類のアイソフォームが知られているが, そのうちでもUCP1は最も歴史が古く, また肥満との関係についても知見が蓄積している. UCP1は熱産生の特異的な部位である褐色脂肪組織(BAT)にのみ発現しており, 褐色脂肪細胞の分子マーカーとされてきた. しかし, 熱産生を誘発するような様々な生理的あるいは薬理的刺激によって褐色脂肪組織以外の部位, 特に白色脂肪組織(WAT)にUCP1が発現することが見出され, その由来や意義, さらに褐色と白色の両脂肪細胞の本質的違いなどについて議論を呼んでいる. 以下, *in vivo*での知見を概観し*in vitro*培養細胞での成績を紹介する.

## 1. 白色脂肪組織でのUCP 1

小型齧歯類の肩甲間などに存在する典型的なBATの脂肪細胞は, 多数の小脂肪滴からなる多房性の構造をとり, 大量に存在するミトコンドリアの内膜にUCP1が局在している. 一方, 内臓周囲や皮下などのいわゆるWATの脂肪細胞は, 単房性の脂肪滴を有しUCP1は検出されない. しかし, この

ようなWATとBATの区別が必ずしも厳密ではないことが, 様々な事例で報告されている. 例えば, マウスやラットを寒冷環境下(4℃)で2週間ほど飼育すると, 皮下(鼠径部)や腹腔内(生殖器周囲, 後腹膜)の脂肪組織(通常はWATとされる)に多数の多房性脂肪細胞が出現し, UCP1のmRNA, 蛋白質のいずれも検出されるようになる(図1)<sup>1,2)</sup>. 同様の現象は抗肥満効果を有する $\beta_3$ アドレナリン受容体(AR)作動薬を投与した場合にもみられる<sup>3,4)</sup>. われわれは, このWATでのUCP1の異所性発現が新たに出現した多房性脂肪細胞のミトコンドリアに限局することを, 顕微鏡と電顕レベルで証明し, 通常WATとされている脂肪組織であっても適当な刺激が加わると褐色脂肪細胞様の細胞が出現することを確定した<sup>4,5)</sup>.

$\beta_3$ AR作動薬の抗肥満効果は, 白色脂肪細胞からの脂肪動員と褐色脂肪細胞でのUCP1の活性化に起因するとされている. Guerraら<sup>6)</sup>はC57BL/6Jと

A/Jマウスを交配して, WATでのUCP1 mRNA発現量が100倍以上も異なる様々な系統を作出し, 肥満との関係を調べた. それによるとWAT中のUCP1は高カロリー摂取による肥満とは関連しないが,  $\beta_3$ AR作動薬の抗肥満効果とは良く相関するという. また, aP2プロモーターを利用してWATに大量のUCP1を発現させたトランスジェニックマウスは, 食餌性肥満に抵抗性となることも知られている<sup>7)</sup>. これらの事実はいずれも, WATに発現したUCP1も動物丸ごとの熱産生(エネルギー消費)に一定の役割を果たしていることを示している.

## 2. *in vitro*での脂肪細胞とUCP 1

*in vivo*でWATにUCP1陽性細胞が出現する機構については, 少なくとも二つの可能性が考えられる. 一つは, 既に分化して存在する白色脂肪細胞が刺激によってUCP1を発現し, 褐色脂肪細胞様に転換する可能性であるが, それとは別に, WAT中に未分化な褐色脂肪前駆細胞が存在し, これが刺激によって成熟褐色脂肪細胞に分化するのもかもしれない. これらを区別するためにわれわれは, p53欠失マウスの腹腔内WATから前駆脂肪細胞を分離し*in vitro*で分化させて, 肩甲間BATから分離した褐色脂肪細胞株HB2<sup>8)</sup>と

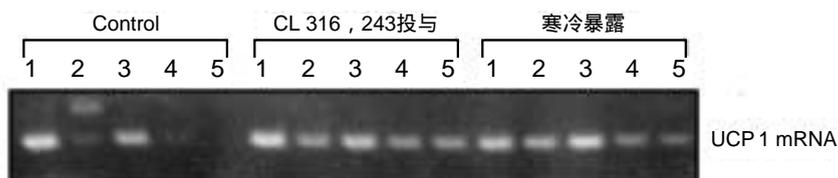


図1 寒冷暴露および $\beta_3$ AR作動薬(CL316,243)投与後のマウス脂肪組織におけるUCP1の発現

Control, 室温; 寒冷暴露, 4℃, 2週間; CL316,243(0.1mg/kg/day)2週間, 皮下投与. 1, 肩甲間BAT; 2, 生殖器周囲WAT; 3, 腎周囲WAT; 4, 後腹膜WAT; 5, 鼠径部WAT

比較検討した。

癌抑制遺伝子p53の欠失マウスから分離した細胞は, *in vitro*で継代培養が可能である。そこで, 通常の飼育下でUCP1が検出されない生殖器周囲および後腹膜WATから, コラゲナーゼ処理法によって前駆脂肪細胞画分を分離・培養・クローニングして, 単一細胞由来の細胞株を複数樹立した HW1, 4, 6, 7, 11)。これらの細胞はいずれも, IBMX-デキサメタゾン-インスリンで処理すると, 細胞内中性脂肪の蓄積, グリセロール-3-リン酸脱水酵素活性の上昇, aP2 mRNAの発現などが起こり, 典型的な脂肪細胞へと分化する。

HB2をPPAR リガンド(トログリタゾン)とノルエピネフリンで短時間(4時間)刺激すると, UCP1の発現が誘導される<sup>8)</sup>。このような条件で脂肪細胞に分化させたHWを同様に刺激すると, HW4, 7においてUCP1mRNAの発現がみられ, さらに長時間(3日間)刺激するとHW1, 11においてもUCP1が発現した(図2, A)。一方, HW6ではいずれの条件でもUCP1は検出できなかった。これらの結果は, WATには分化後に適当な刺激が加わるとUCP1を発現する可能性のある前駆脂肪細胞が数多く存在することを示している。さらに, UCP1の発現能力は細胞毎にかなり異なっており, 3T3-L1と同様に強い刺激によっても発現しない細胞(例えばHW6)もあることが明らかになった。このように, 脂肪細胞と一口にいても白色から褐色までかなり広いスペクトルを持っているが, 多くの前駆細胞はUCP1発現能力を有していると思われる。これがヒトでも同様であることは, PPAR リガンドによってヒト脂肪細胞でUCP1発現が起こるといふDigbyらの報告からも明らかである<sup>9)</sup>。

(A)

HW	Cont	NE	Tro	Tro+NE	Tro+NE (72h)
1	-	-	-	-	+
4	-	±	-	+	
6	-	-	-	-	
7	-	±	-	+	
11	-	-	-	-	+
HB2	±	+	±	+++	+++

(B)

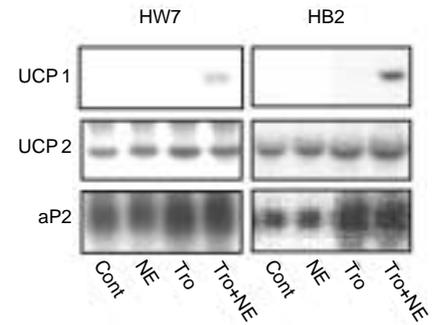


図2 (A)各HWおよびHB2におけるUCP1の発現 (B)HW7とHB2におけるmRNA発現の比較

Cont, 対照; NE, ノルエピネフリン1 $\mu$ M; Tro, PPAR リガンド(トログリタゾン)10 $\mu$ M; Tro+NE, トログリタゾン10 $\mu$ M+ノルエピネフリン1 $\mu$ M

### 3. 肥満ターゲットとしての UCP1の再評価

上述のWAT由来のUCP1発現細胞は通常の褐色脂肪細胞と全く同一と考えるのよのだろうか? 最も強くUCP1が誘導されるHW7について肩甲間BAT由来の褐色脂肪細胞株HB2と比較したところ, UCP2やaP2のmRNA発現はほぼ同じレベルであったが, UCP1mRNAレベルは数%程度にすぎなかった(図2, B)。また, Himms-Hagenら<sup>10)</sup>は $\beta_3$ AR作動薬を投与したマウスの肩甲間BATと後腹膜WATを電子顕微鏡下で観察し, WAT中のUCP1陽性細胞のミトコンドリアはBATの褐色脂肪細胞のそれとはかなり異なるものが多いことを見出している。このように, WAT中のUCP1陽性細胞は典型的な褐色脂肪細胞とはいえないが, 個体レベルで考えるとWAT全体としてのUCP1量はBATと匹敵することになる。したがって, 通常の条件下で脂肪組織を検索し褐色脂肪細胞あるいはUCP1が検出できなかったとしても, 適当な刺激を加えるとUCP1を誘導することができ, 肥満軽減に十分寄与させることが可能であ

ろう。実際にわれわれは, ヒトと同様に褐色脂肪細胞がほとんど見当たらないイヌにおいて,  $\beta_3$ AR作動薬を投与すると全身の脂肪組織に大量のUCP1が発現し, 体脂肪も減少することを確認している<sup>11)</sup>。肥満ターゲット分子としてのUCP1については, 多くの関心がUCP2やUCP3に向けられているが, これらの新しいアイソフォームの役割については未だ議論の多いところである。改めてUCPの原点に立ち返って, UCP1を含めてエネルギー消費や肥満との関係解明に取り組む必要がある。

本研究の一部は生研機構基礎研究推進事業(PROBRAIN)の支援によった。

### 文献

- 1) Young P, Arch JRS, Ashwell M.: Brown adipose tissue in the parametrial fat pad of the mouse. FEBS Lett 1984, 167: 10-14.
- 2) Cousin B, Cinti S, Morroni M, et al.: Occurrence of brown adipocytes in rat white adipose tissue: Molecular and morphological characterization. J Cell Sci 1992, 103: 931-942.
- 3) Himms-Hagen J, Cui J, Danforth E, et al.: Effect of CL-316,243, a ther-

- mogenic beta 3-agonist, on energy balance and brown and white adipose tissues in rats. *Am J Physiol* 1994, 266 : R1371-1382.
- 4) Nagase I, Yoshida T, Kumamoto T, et al. : Expression of uncoupling protein in skeletal muscle and white fat of obese mice treated with thermogenic  $\beta$ -adrenergic agonist. *J Clin Invest* 1996, 97 : 2898-2904.
- 5) Umekawa T, Yoshida T, Sakane N, et al. : Anti-obesity and anti-diabetic effects of CL 316, 243, a highly specific  $\beta$ -adrenoceptor agonist, in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats : Induction of uncoupling protein and activation of glucose transporter 4 in white fat. *Eur J Endocrinol* 1997, 136 : 429-437.
- 6) Guerra C, Koza RA, Yamashita H, et al. : Emergence of brown adipocytes in white fat in mice under genetic control ; Effects on body weight and adiposity. *J Clin Invest* 1998, 102 : 412-420.
- 7) Kopecky J, Clarke G, Enerback S, et al. : Expression of the mitochondrial uncoupling protein gene from the aP2 gene promoter prevents genetic obesity. *J Clin Invest* 1995, 96 : 2914-2923.
- 8) Irie Y, Asano A, Canas X, et al. : Immortal brown adipocytes from p53-knockout mice : Differentiation and expression of uncoupling proteins. *Biochem Biophys Res Comm* 1999, 255 : 221-225.
- 9) Digby JE, Montague CT, Sewter CP, et al. : Thiazolidinedione exposure increases the expression of uncoupling protein 1 in cultured human preadipocytes. *Diabetes* 1998, 47 : 138-141.
- 10) Himms-Hagen J, Melnyk A, Zingaretti MC, et al. : Multilocular fat cells in WAT of CL-316243-treated rats derive directly from white adipocytes. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000, 279 : C670-C681.
- 11) Sasaki N, Uchida E, Niiyama M, et al. : Anti-obesity effect of selective agonists to the  $\beta$ -adrenergic receptor in dogs. . Recruitment of thermogenic brown adipocytes and reduction of adiposity after chronic treatment with  $\beta$ -adrenergic agonist. *J Vet Med Sci* 1998, 60 : 465-469.