

# 2021年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	<b>RNF185による褐色脂肪細胞の分化制御機構の解明</b>
キーワード	① 褐色脂肪細胞、② ユビキチンリガーゼ、③ 生活習慣病

## 研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏名	ナガシマ シュン 長島 駿
配付時の所属先・職位等 (令和3年4月1日現在)	東京薬科大学 生命科学部 助教
現在の所属先・職位等 (令和4年7月1日現在)	東京薬科大学 生命科学部 助教
プロフィール	東京薬科大学生命科学部卒業、同大学生命科学研究科修士課程および博士課程修了、博士(生命科学)の学位を取得。東京薬科大学 生命科学部 助教、Cambridge大学の研究員を経て、現職に着任。ミトコンドリアを中心とした細胞生物学に関する研究に従事。

## 1. 研究の概要

褐色脂肪細胞は熱産生を担う細胞であり、褐色脂肪細胞の活性化や増加が抗肥満に働くことが知られている。褐色脂肪細胞の分化誘導にPGC1 $\alpha$ やPRDM16が関与することが明らかであるが、褐色脂肪細胞の分化制御機構には未解明な点が多く残っている。褐色脂肪細胞の分化制御機構の解明は、褐色脂肪細胞の増加や活性化に寄与することから、生活習慣病の予防や改善への貢献が期待される。本研究では、膜局在型のユビキチンリガーゼに着目し、ユビキチンリガーゼによる褐色脂肪細胞の分化制御機構の解明を試みた。ミトコンドリア外膜型ユビキチンリガーゼであるMITOLやMUL1ではなく、RNF185が褐色脂肪細胞の分化を制御することが示唆された。今後、更なる解析を続けて、RNF185によるユビキチンシグナリングを介した褐色脂肪細胞の分化制御機構を解明する。解明された分化制御機構を基に褐色脂肪細胞を増やす創薬研究への発展を目指す。

## 2. 研究の動機、目的

肥満や生活習慣病はさまざまな合併症を引き起こすリスクが高いことから、肥満の予防や改善法の確立がひとつの課題となっている。また、加齢とともに肥満者の割合が増加しており、肥満の予防は健康寿命の延伸に重要である。脂肪細胞は肥満と密接な関係があり、体内には大きく分けて2つの異なる役割をもつ白色脂肪細胞と褐色脂肪細胞が存在する。白色脂肪細胞は血中にある過剰な中性脂肪などを取り込み、エネルギー貯蔵の役割を担う。肥満に伴って白色脂肪細胞が肥大化し、肥大化によって脂肪細胞が機能不全に陥ることが生活習慣病の発症につながると考えられている。一方、褐色脂肪細胞は熱産生による体温調節を担い、エネルギーを消費する役割を持つ。褐色脂肪細胞の量が多い人は体脂肪が少なく、肥満度を表す指数であるBMIが低いとの報告があることから、褐色脂肪細胞の活性化が脂肪を燃焼し、肥満や糖尿病などの生活習慣病の予防や改善に大きな効果を持つことが期待されている。

褐色脂肪細胞の特徴として、ミトコンドリアが多く、小さい脂肪滴が数多くある。褐色脂肪細胞のミトコンドリアはATP産生だけでなく、熱産生も担う。これらの細胞に特異的に発現す

るミトコンドリアタンパク質uncoupling protein 1(UCP1)が熱産生の中心的な役割を担っている。このUCP1の発現誘導を担うPGC1 $\alpha$ やPRDM16が褐色脂肪細胞の分化を制御することが明らかである。しかしながら、褐色脂肪細胞の分化メカニズムには未解明な点が多く残されており、分化メカニズムの詳細な解明は褐色脂肪細胞の活性化の増加を促す創薬に結びつくことが期待される。我々はミトコンドリア外膜に局在するユビキチンリガーゼMITOL(別名MARCH5)がミトコンドリアの形態や品質管理に重要であることを報告してきた。ユビキチンリガーゼは基質をユビキチン化することにより、基質の分解、局在変化、活性化を促す。近年、様々な転写因子がミトコンドリアに局在し、ミトコンドリアと核内を行き来することが報告されており、ミトコンドリアと転写誘導に密接な関係があることが示唆されている。本研究では、MITOL、MUL1、RNF185といったミトコンドリア外膜に局在が報告されているユビキチンリガーゼに注目し、ユビキチンリガーゼによる褐色脂肪細胞の分化制御メカニズムの解明を行なった。

### 3. 研究の結果

褐色脂肪細胞の分化に関与するユビキチンリガーゼを同定するために、マウス新生児の肩甲骨間から未分化な褐色脂肪細胞を取り出し、初代培養を行い、ユビキチンリガーゼに対するsiRNAを用いて遺伝子の発現を抑制した後に、分化誘導刺激を行った。まず、ウェスタンブロット法を用いてタンパク質レベルで比較した結果、MITOLやMUL1の発現を抑制した細胞では褐色脂肪細胞の分化に大きな違いは認められなかったが、RNF185を欠失した細胞では褐色脂肪細胞特異的なマーカーであるUCP1の減少が認められた。定量PCR法を用いてmRNAレベルを比較した結果、UCP1、熱産生に関わるCIDE-A、UCP1などの発現制御に関わるPGC1 $\alpha$ の減少が認められた。同様に、不死化した褐色脂肪細胞前駆細胞であるT37i細胞においてもRNF185の発現を抑制させるとUCP1の発現誘導が認められなかった。詳細に解析を進めると、褐色脂肪前駆細胞からUCP1を発現する褐色脂肪細胞の初期の段階で分化に異常が生じていることが明らかとなった。

### 4. 研究者としてのこれからの展望

本研究結果より、RNF185が褐色脂肪細胞の分化を制御することが明らかとなった。これまではマウス由来の褐色脂肪細胞を用いた解析を行ってきたが、創薬研究への発展を考慮するとヒト細胞を用いた褐色脂肪細胞の研究が必要である。人工多能性幹細胞であるヒトinduced Pluripotent Stem Cell(iPS細胞)を用いた褐色脂肪細胞への分化誘導系を構築できたので、ヒトの細胞系においてもRNF185が褐色脂肪細胞の分化誘導に関与するかを明らかにする。また、RNF185はユビキチンリガーゼであることから、RNF185の基質を同定することが分子メカニズムの解明に必要である。RNF185の基質探索に関しても引き続き行い、RNF185による褐色脂肪細胞の分化制御に関わる分子の同定を行う。基礎研究による研究データを積み重ねていき、創薬研究に発展させるような研究成果を目指す。

### 5. 支援者(寄付企業等や社会一般)等へのメッセージ

この度は、本研究課題に若手研究者奨励金を授与していただき、誠にありがとうございました。ご支援のおかげで、本研究を前進させることができました。本研究課題に継続して取り組み、発展・飛躍させ、素晴らしい研究成果として報告できるように精進して参ります。研究を進め、肥満や生活習慣病を改善できるような創薬研究へと発展を目指して参ります。