

- 4) Collins, R.F., Touret, N., Kuwata, H., Tandon, N.N., Grinstein, S., & Trimble, W.S. (2009) *J. Biol. Chem.*, 284, 30288–30297.
- 5) Huang, M.M., Bolen, J.B., Barnwell, J.W., Shattil, S.J., & Brugge, J.S. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 7844–7848.
- 6) Jaqaman, K.*, Kuwata, H.*, Touret, N., Collins, R., Trimble, W.S., Danuser, G., & Grinstein, S. (*equal contribution) (2011) *Cell*, 146, 593–606.
- 7) Jaqaman, K., Loerke, D., Mettlen, M., Kuwata, H., Grinstein, S., Schmid, S.L., & Danuser, G. (2008) *Nat. Methods*, 5, 695–702.
- 8) Kaizuka, Y., Douglass, A.D., Varma, R., Dustin, M.L., & Vale, R.D. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104, 20296–20301.
- 9) Hoebe, K., Georgel, P., Rutschmann, S., Du, X., Mudd, S., Crozat, K., Sovath, S., Shamel, L., Hartung, T., Zähringer, U., & Beutler, B. (2005) *Nature*, 433, 523–527.
- 10) Stewart, C.R., Stuart, L.M., Wilkinson, K., van Gils, J.M., Deng, J., Halle, A., Rayner, K.J., Boyer, L., Zhong, R., Frazier, W.A., Lacy-Hulbert, A., El Khoury, J., Golenbock, D.T., & Moore, K.J. (2010) *Nat. Immunol.*, 11, 155–161.
- 11) Huang, W., Febbraio, M., & Silverstein, R.L. (2011) *PLoS One*, 6, e29092.
- 12) Miao, W.M., Vasile, E., Lane, W.S., & Lawler, J. (2001) *Blood*, 97, 1689–1696.

桑田 啓貴

(昭和大学歯学部口腔微生物学教室)

Cytoskeletal control of CD36 diffusion promotes its receptor and signaling function in human primary macrophage
Hirotsuka Kuwata (Department of Oral Microbiology, School of Dentistry, Showa University, 1-5-8 Hatanodai, Shinagawa-ku, Tokyo 142-8555, Japan)

異なるライフステージの脂肪細胞におけるアラキドン酸カスケード反応経路の調節とその役割

1. はじめに

脂肪細胞とその前駆脂肪細胞は、アラキドン酸シクロオキシゲナーゼ (COX) 経路を介して複数のタイプの内因性プロスタノイドを生合成する能力を持つ。それらは、脂肪細胞の異なるライフステージの段階において、局所ホルモンとしてオートクラインやパラクラインの様式で周辺に関連細胞に作用して脂肪細胞の分化誘導や成熟過程において多様な作用を引き起こす。脂肪細胞の分化誘導や機能変化におけるプロスタグランジン (PG) 類の役割は複雑である。なぜなら、生合成される PG 類の種類、脂肪細胞

のタイプ、脂肪細胞へ分化誘導する培養条件、さらに、PG 類のそれぞれに対する異なるタイプの複数の受容体サブタイプの存在により、PG 類の作用が違った結果となるからである。例えば、PGE₂ の細胞表面の受容体には 4 種類の受容体サブタイプが存在しており、それぞれが独特の細胞情報伝達経路を示す。また、脂肪細胞で、どの受容体サブタイプが主に発現しているかは、脂肪細胞のライフステージにより事情が異なる¹⁾。

脂肪細胞の分化誘導の中心的な役割を果たす細胞内因子として、核内ホルモン受容体スーパーファミリーに属する転写因子のペルオキシソーム増殖剤応答性因子 (PPAR) の γ サブタイプがある。この核内受容体はリガンド依存的に活性化され、ある種の脂肪酸、過酸化脂質、エイコサノイドなどが有効である。そのうち、アラキドン酸 COX 経路で生合成される PGD₂ が非酵素的に脱水反応して生成する PGJ₂ シリーズが高親和性の活性化リガンドとして有効であることが確認され、さらに、細胞系でも外因性の関連化合物が脂肪細胞の分化誘導や成熟過程の促進因子として報告されるに至った^{2,3)} (図 1)。それ以来、脂肪細胞における PG 関連物質の役割に興味が高まってきた経緯がある。以上の背景の下に、脂肪細胞の分化誘導や成熟過程におけるアラキドン酸 COX 経路の発現様式や調節機構に着目した関連研究を紹介する。

2. 成熟期の脂肪細胞による PGJ₂ シリーズの生合成と脂肪細胞形成における役割

培養系で脂肪細胞の分化誘導や成熟過程をモニターするのに有用な実験系として、マウスの前駆脂肪細胞株の 3T3-L1 細胞株が用いられている。この培養系で脂肪細胞の形成を行うには、未分化の前駆脂肪細胞が増殖する生育期、デキサメタゾン、cAMP レベルの維持に必要な 3-イソブチル-1-メチルキサンチン、そしてインスリンを含む培養液で処理する分化誘導期、さらに、インスリンを含む培養液で脂肪蓄積が起こる成熟期の三つのステージが必要となる。まず、我々は、脂肪細胞の分化誘導の中心因子である核内受容体の PPAR γ を活性化する PGJ₂ シリーズの生成がどのように制御されているか、また、生成された内因性の代謝産物が脂肪細胞機能にどのように関与しているかについて研究した。核内受容体の PPAR γ の発現は、脂肪細胞形成の分化誘導期から成熟期にかけて促進された。また、上記の培養細胞系で各ライフステージにおける検討の結果、アラキドン酸 COX 経路の二つの COX アイソフォーム (COX-1 および COX-2) の発現が認められた。

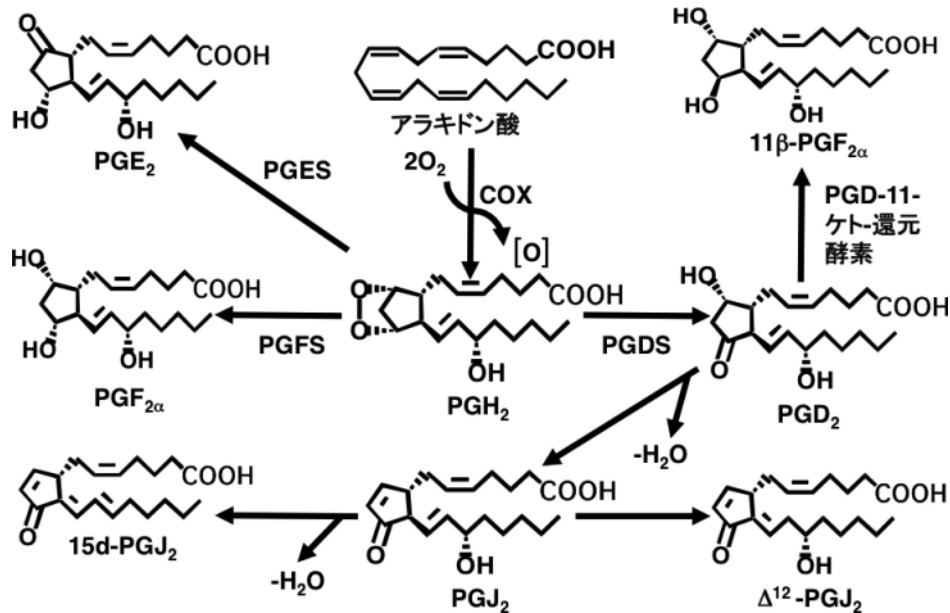


図1 PGD₂とPGJ₂シリーズの生成に至るアラキドン酸COX経路
PGES: PGE合成酵素, PGFS: PGF合成酵素. 他の略号は本文を参照.

次に、COX 酵素の生成物である PGH_2 を基質として PGD_2 を生合成する PGD 合成酵素の発現を調べたところ、脂肪細胞の成熟期には、リポカリン型の PGD 合成酵素 (L-PGDS) が選択的に発現しており、成熟期の進行とともに L-PGDS の発現の増加が認められた^{4,5)}。そこで、我々は、 PGD_2 に由来する PGJ_2 関連物質の生成量を定量的に測定するために、15-デオキシ- $\Delta^{12,14}$ - PGJ_2 (15d- PGJ_2) や Δ^{12} - PGJ_2 に対する高感度で特異的な酵素免疫測定法を開発した^{5,6)}。この手法により、両者の PGJ_2 シリーズを区別して測定することが可能になった。これらの免疫学的測定法を脂肪細胞の培養系に適用したところ、成熟期の進行とともに、脂肪細胞の 15d- PGJ_2 と Δ^{12} - PGJ_2 の生成能が増加することが確認された。一方、成熟期の培養液に COX の特異的な阻害剤を添加すると、成熟期での内因性の PGJ_2 シリーズの生成が有意に抑制されるとともに脂肪蓄積量も顕著に低下した。さらに、COX 阻害剤の存在下に外因性の PGJ_2 シリーズのいずれかを添加した場合、成熟期の脂肪細胞の脂肪形成能は回復した。我々の実験系では、成熟期の脂肪細胞の PGJ_2 関連物質の生成量を比較すると、 Δ^{12} - PGJ_2 が 15d- PGJ_2 よりも生成量が高い傾向にあった。一方、脂肪細胞の培養系で脂肪蓄積や成熟脂肪細胞のマーカー遺伝子の発現を指標に外因性物質の作用を評価すると、*in vitro* で報告されている強力な $PPAR\gamma$ に対する高親和性を反映して 15d- PGJ_2 の方がより効果的であった。

これらの研究結果を合わせて考えると、脂肪細胞の分化誘導後の成熟期における脂肪蓄積の過程において、 PGD_2 に至る経路の発現が促進されて、 PGD_2 に由来する PGJ_2 関連化合物の生成が増加する。これらの内因性の PGJ_2 シリーズは、オートクライン的な様式で $PPAR\gamma$ の活性化リガンドとして有効で、脂肪形成プログラムの促進に部分的に貢献していると考えられる (図 2)。しかし、実際の動物の体内では、より複雑な状況となっていることは容易に想像できる。これまでの研究で、 $PPAR\gamma$ の活性化リガンドとして、 PGJ_2 シリーズのみならず多様な脂溶性物質も有効であるとわかり、生体内での内因性物質の有効な濃度にも多くの議論がある。以上の点を考慮すると、生体内での脂肪組織での脂肪形成に関与する真の内因性リガンドは、特定の限られた化合物ではなく複数の混合物が作用しているものと想定される。

3. 前駆脂肪細胞でのアラキドン酸 COX 経路の発現調節と内因性プロスタノイド類の脂肪細胞機能に対する作用

生体内での脂肪組織では、血液循環などを介して細胞増殖や炎症に関与する様々な代謝調節因子の作用を脂肪細胞とその関連細胞が恒常的に受けている。近年、肥満における脂肪組織では、マクロファージが脂肪組織へ浸潤して分泌する因子による脂肪炎症がインスリン抵抗性の発生に密

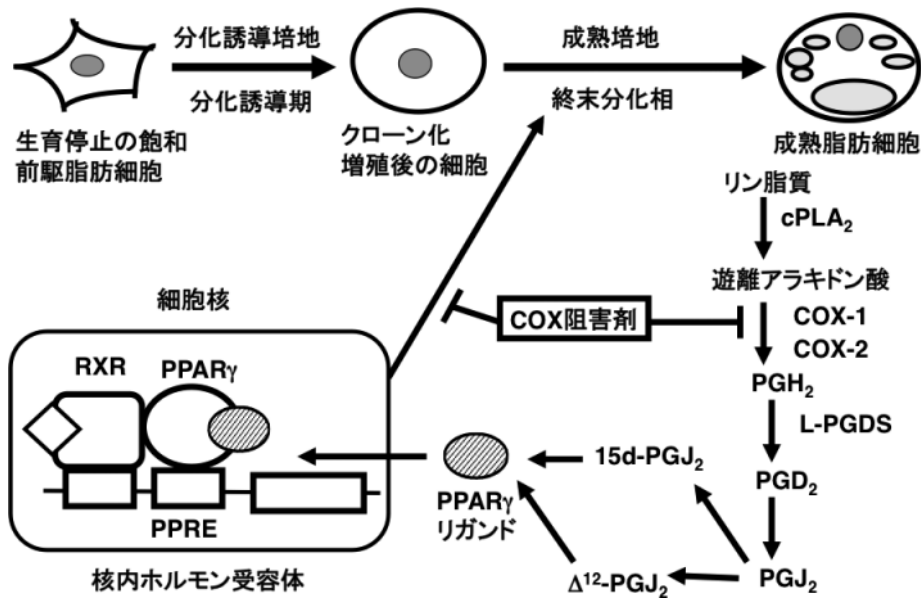


図2 成熟期の脂肪細胞により生成される内因性PGJ₂シリーズの脂肪細胞形成に対するオートクライン作用

cPLA₂:細胞質性ホスホリパーゼA₂, RXR:レチノイドX受容体, PPRE:PPAR_γ応答性DNAエレメント. 他の略号は本文を参照.

接に関連していることはよく知られているとおりである。我々は、異なるライフステージの脂肪細胞で誘導型のCOX-2の関与する遅延性のPG類の生合成調節が脂肪細胞の機能制御に重要と考えて検討を行ってきた。そこで、培養系において異なるライフステージの脂肪細胞を活性化ホルボールジエステルと低濃度のCa²⁺イオノフォアの共存下24時間刺激すると、生育期における未分化の前駆脂肪細胞は、他の分化誘導期や成熟期の脂肪細胞と比べてPGE₂やPGF_{2α}の生合成能が顕著に高いことが示された⁷⁾。これらのPG類の生成の促進には、活性化ホルボールジエステルによるCOX-2の発現誘導が主に関与していた。我々が、脂肪細胞の培養系において、外因性のPG類の作用を見たところ、分化誘導期の脂肪細胞はPGE₂に、一方、成熟期の脂肪細胞はPGF_{2α}に対して、それぞれ特異的に応答することで、有意な脂肪細胞形成の阻害が観察された(図3)。これらの結果は、本細胞株でのPG類に対する特異的な受容体サブタイプの発現様式の違いで説明される。すなわち、分化誘導期から成熟期にかけて、PGE₂に対するEP4受容体サブタイプが主要なものとして発現するが、PGF_{2α}に対するFP受容体は成熟期の後期に選択的に発現している¹⁾。このように、脂肪細胞の分化誘導の抑制因子といっても、PG類の種類や脂肪細胞のライフステージによりそれらの作用様式は一様ではない。

マクロファージの場合、炎症性促進因子の作用で細胞が活性化されるとPGD₂由来の15d-PGJ₂が生成して、フィードバック調節因子として消炎反応に貢献するとされる⁸⁾。上記に述べたように、成熟期の脂肪細胞では、優先的にPGD₂由来のPGJ₂シリーズの生成が促進された。そこで、前駆脂肪細胞でのPGE₂やPGF_{2α}の生合成系に対するPGJ₂関連物質の特異的な相互作用を検討した⁹⁾。その結果、ホルボールジエステルとCa²⁺イオノフォアの混合物による両方のPG類の生成の促進効果は、15d-PGJ₂により有意に阻害されたが、別の関連物質のΔ¹²-PGJ₂にはそれに匹敵する阻害効果は認められなかった。その阻害作用として、15d-PGJ₂により細胞応答でのCOX-2の発現誘導が抑制されることが関与していた。そして細胞応答でのCOX-2の発現誘導の上流に位置する転写因子のNF-κBの活性化が、15d-PGJ₂によりPPAR_γ非依存的に阻害される機構を介するものであった。生体内の脂肪組織でのこの作用の意義について考えてみると、成熟期の脂肪細胞で生成される15d-PGJ₂は、核内受容体のPPAR_γを介してオートクラインの調節作用で脂肪細胞形成の促進に貢献できるとともに、周辺の前駆脂肪細胞にパラクライン的に作用して脂肪細胞形成に阻害的なPGE₂やPGF_{2α}のようなPG類の生成を抑制できる可能性を示す。このことは、脂肪細胞の終末相での脂肪形成過程の促進に寄与する15d-PGJ₂の別の一面を提

供している。

4. おわりに

以上のように、培養脂肪細胞を実験系として用いて、異なるライフステージの脂肪細胞におけるアラキドン酸カスケード反応、特に、PG類の生合成経路の調節と役割に関する研究を紹介した。今回のPG類のような、部位の周辺で作用する寿命の短いオートコイドである脂質メディエーターが、各ライフステージにおいて、それぞれの特性に応じて脂肪細胞の働きを多様な方法で制御できることがわかった。最近の興味深いPG関連研究として、マウスを低温で数週間、処理すると、白色脂肪組織でCOX-2の誘導が促進されて熱発生に関与してエネルギー消費を促進する褐色脂肪組織が発達するという¹⁰⁾。この研究によると、低温で発現誘導されたCOX-2の作用により生成する内因性の特定のPGが、脂肪細胞に分化する前の脂肪芽細胞に作用して、褐色脂肪細胞への分化誘導を優先的に引き起こすと報告されている。そして、脂肪組織でCOX-2が過剰に発現するマウスは、通常のマウスと比較して高脂肪食による肥満が明らかに抑制されるという。今後、褐色脂肪細胞の発達における内因性PGの作用機構や役割がさらに詳細に解析されるであろう。しかし、誘導性COX-2は炎症応答を高める作用があるので、これを特異的に抑えて白色脂肪組織で褐色脂肪細胞の分化誘導を促進する高度に特異的なPG関連の薬物の開発が待たれるところである。また、基礎的な研究課題として、体内の脂肪組織の形成における脂肪細胞へ分化する幹細胞や体内の内臓脂肪の起源などについて根源的な多くの問題が残っている。これらの多くの問題点に取り組む関連研究の活発化とともに、アラキドン酸に由来する生理活性脂質の役割や作用機構の分子基盤に関するさらなる理解も、今後、いっそう進展するものと期待している。

- 1) Tsuboi, H., Sugimoto, Y., Kainoh, T., & Ichikawa, A. (2004) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **322**, 1066–1072.
- 2) Forman, B.M., Tontonoz, P., Chen, J., Brun, R.P., Spiegelman, B.M., & Evans, R.M. (1995) *Cell*, **83**, 803–812.
- 3) Kliewer, S.A., Lenhard, J.M., Wilson, T.M., Patel, I., Morris, D.C., & Lehmann, J.M. (1995) *Cell*, **83**, 813–819.
- 4) Lu, S., Nishimura, K., Hossain, M.A., Jisaka, M., Nagaya, T., & Yokota, K. (2004) *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **118**, 133–153.
- 5) Mazid, M.A., Chowdhury, A.A., Nagao, K., Nishimura, K., Jisaka, M., Nagaya, T., & Yokota, K. (2006) *FEBS Lett.*, **580**, 6885–6890.
- 6) Hossain, M.S., Chowdhury, A.A., Rahman, M.S., Nishimura,

- K., Jisaka, M., Nagaya, T., Shono, F., & Yokota, K. (2011) *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*, **94**, 73–80.
- 7) Xu, L., Nishimura, K., Jisaka, M., Nagaya, T., & Yokota, K. (2006) *Biochim. Biophys. Acta*, **1761**, 434–444.
- 8) Straus, D.S., Pascual, G., Li, M., Welch, J.S., Ricote, M., Hsiang, C.-H., Sengchanthalangsy, L.L., Ghosh, G., & Glass, C.K. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 4844–4849.
- 9) Chowdhury, A.A., Rahman, M.S., Nishimura, K., Jisaka, M., Nagaya, T., Ishikawa, T., Shono, F., & Yokota, K. (2011) *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*, **95**, 53–62.
- 10) Vegiopoulos, A., Müller-Decker, K., Strzoda, D., Schmitt, I., Chichelnitskiy, E., Ostertag, A., Diaz, M.B., Rozman, J., de Angelis, M.H., Nüsing, R.M., Meyer, C.W., Wahli, W., Klingenspor, M., & Herzig, S. (2010) *Science*, **328**, 1158–1161.

横田 一成

(島根大学生物資源科学部生命工学科)

Regulation and role of the arachidonate cascade at different life stages of adipocytes

Kazushige Yokota (Department of Life Science and Biotechnology, Faculty of Life and Environmental Science, Shimane University, 1060 Nishikawatsu-cho, Matsue, Shimane 690-8504, Japan)

脊髄の疼痛発症におけるシナプス制御

1. はじめに

痛みは、生体防御システムのための警告反応である。一方、痛みの原因が治癒した後も持続する痛みや、長期の炎症、神経損傷により発生する慢性痛はそれ自身が病態であり、侵害性刺激に対する閾値が低下することに起因する痛覚過敏反応や、通常では痛みと感じない触覚刺激による疼痛反応であるアロディニアを伴うことが多い。慢性痛は単一の原因では説明できず、遺伝子発現変動、リン酸化などの翻訳後修飾、細胞の活性化など、機能的、器質的な可塑性変化が、痛覚伝達系の末梢組織から大脳皮質に至るまでの、痛覚の発生、伝達、受容の場で生じる。なかでも、脊髄後角は、一次求心性線維の終末部、上位中枢よりの下行性投射神経や、興奮性および抑制性の介在神経によってシナプス伝達が制御され、疼痛の中樞性感作に重要な役割をもつ。脊髄後角の一次求心性線維は神経伝達物質としてグルタミン酸やサブスタンスPなどの神経ペプチドを放出する。グルタミン酸は脊髄後角の α -アミノ-3-ヒドロキシ-5-メチル-4-イソキサゾールプロピオン酸 (AMPA) 受容体