

- 266.
- 15) Clarke, P.G. (1990) *Anat. Embryol. (Berl.)*, 181, 195-213.
- 16) Terrinoni, A., Ranalli, M., Cadot, B., Leta, A., Bagetta, G., Vousden, K.H., & Melino, G. (2004) *Oncogene*, 23, 3721-3725.
- 17) Degtarev, A., Huang, Z., Boyce, M., Li, Y., Jagtap, P., Mizushima, N., Cuny, G.D., Mitchison, T.J., Moskowitz, M.A., & Yuan, J. (2005) *Nature Chem. Biol.*, 1, 112-119.
- 18) Sperandio, S., de Belle, I., & Bredesen, D.E. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 97, 14376-14381.

岡澤 均

(東京医科歯科大学難治疾患研究所神経病理学分野)

Neurodegeneration is apoptosis?—Regulation of neuronal death by YAPdeltaC—

Hitoshi Okazawa (Department of Neuropathology, Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University, 1-5-45, Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8510, Japan)

## 脂肪滴での脂肪分解と蓄積を制御する PAT ファミリー

### 1. はじめに

脂肪滴 (lipid droplets) は中性脂肪がリン脂質一重層によって覆われたオルガネラであり、真核細胞に普遍的に存在している。脂肪滴は単なる余剰脂肪の貯蔵庫ではなく、自身が活発に脂質代謝を行い、生体の脂質ホメオスタシスに重要な役割を果たしている。また、脂肪滴の異常は肥満

や動脈硬化症などに関連していることから、その基礎的理解は医学的にも重要な課題である。この数年間で脂肪滴の理解は飛躍的に進み、他のオルガネラとの相互作用や脂質代謝の分子機構などがわかってきた。本稿では、脂肪滴局在タンパク質である PAT ファミリーを中心として、その役割を我々の研究成果を交えて概説する。

### 2. PAT ファミリーの構造と特徴

脂肪滴は全身の細胞に存在しているが、その形態や機能には多様性がある<sup>1)</sup>。例えば、脂肪細胞や肝細胞は大型の脂肪滴を有し、全身に脂肪を供給しているのに対し、心筋や骨格筋は小型の脂肪滴に自身の消費する脂肪を貯蔵している。肝細胞やマクロファージの脂肪滴は外部環境によってその大きさを敏感に変化させる。またステロイド産生細胞では、ぶどうの房のような形状の脂肪滴にホルモン合成のためのコレステロールエステルを蓄えている。このような脂肪滴の多様性には、その表面に局在するタンパク質群が重要な役割を果たしていると考えられる。実際に、脂肪滴には多種のタンパク質が局在し、その組成は細胞種や環境要因によって異なることがプロテオミクス解析からわかっている。特に哺乳動物の脂肪滴には PAT ファミリーという相同性のあるタンパク質が存在しており、ペリリピン、ADRP (adipocyte differentiation-related protein: ADFP, adipophilin と呼ばれる)、TIP47、S3-12 の4種が報告されている<sup>2)</sup>。PAT とは前記三つの頭文字をとったものである。特に N 末端の PAT-1 領域と 11-mer repeat で高いホモロジーがある (図 1) が、これらの発現には組織特異性がある。ペリリピンは脂肪細胞およびステロイド産生細胞に選択的に発現し、C 末端の違いで A, B, C のバリエーションがある。S3-12 も脂肪細胞に高発現している。一方、

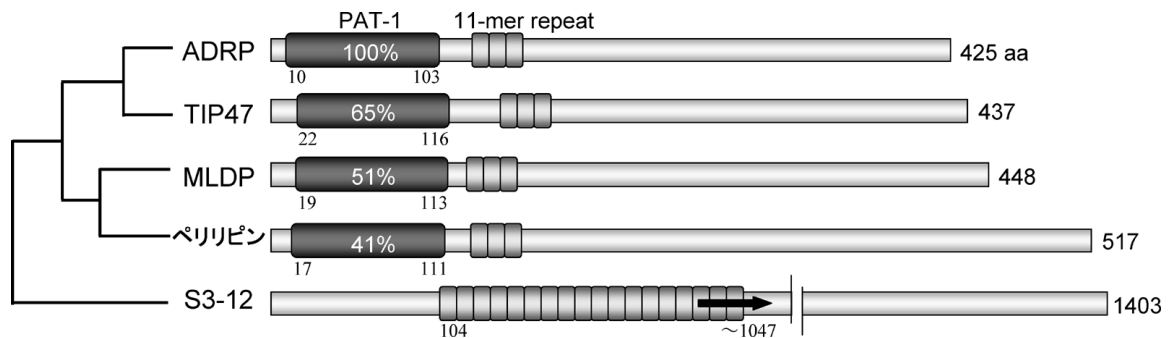


図 1 マウス PAT ファミリー

保存性の高い PAT-1 領域 (%は ADRP の配列に対する比較) と 11-mer repeat 領域を示す。C 末端側もメンバー間で弱い保存性がある。11-mer repeat は脂質結合タンパク質に特徴的な配列である。S3-12 は PAT-1 領域がなく、11-mer repeat が長い。

ADRP と TIP47 はユビキタスに存在している。

PAT ファミリーの別の特徴として、ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 (PPAR) による遺伝子発現制御が挙げられる。PPAR は生体の脂質ホメオスタシスを制御する核内レセプターであり、 $\alpha$ 、 $\gamma$  および  $\delta$  の三つのアイソフォームが存在する。PPAR $\alpha$  は肝臓に、 $\gamma$  は脂肪組織に高発現し、 $\delta$  はユビキタスに発現している。この分布に対応するように、PPAR $\gamma$  は脂肪細胞においてペリリピンと S3-12 遺伝子を制御しており、PPAR $\alpha$  は肝臓において ADRP を制御している。ただし、ADRP は PPAR $\delta$  や  $\gamma$  により制御される組織もあり、アイソフォームによる選択性があるようだ。

### 3. MLDP：心臓に高発現する新規 PAT ファミリー

我々は上記以外にも PAT ファミリーが存在するののかについて検索を行い、五つ目のメンバーをマウス cDNA データベースより見出した<sup>3)</sup>。この配列 (Riken cDNA 2310076L09) は全長を通じてペリリピンなどと相同性を有しているが、特に PAT-1 と 11-mer repeat で高い相同性がある (図 1)。ラット、ヒトでも相同的な配列が見出され、動物細胞で保存されている。我々はこれを MLDP (myocardial lipid droplet protein) と名付け解析を始めた。この名前は以下の解析結果に由来している。まず、発現分布を調べたところ、意外なことに、小型の脂肪滴を持つ心臓に特異的に発現していた。心臓以外ではタンパク質レベルでほとんど発現は見られない。細胞分画法や、GFP-MLDP の発現実験などから、MLDP が脂肪滴表面に局在することが確認され、新規の PAT ファミリーであることが支持される。また、我々は MLDP の脂肪滴への局在化には N 末端の PAT-1 と 11-mer repeat を含む領域が重要であることを見出している。

次に MLDP 遺伝子発現への PPAR の関与を検討した。MLTC-1 細胞を PPAR のリガンドで処理すると、PPAR $\alpha$  リガンドである Wy14,643 によって、選択的に MLDP の発現が誘導された。さらに、野生型マウスに PPAR $\alpha$  リガンドを含む食餌を投与すると MLDP の発現は顕著に誘導されたが、PPAR $\alpha$  のノックアウトマウスにおいては MLDP の基本レベルの発現が極めて低く、かつリガンドによる誘導も認められなかった。また、心臓以外では、通常 MLDP タンパク質の発現はほとんど見られないが、PPAR $\alpha$  の活性化により肝臓や骨格筋でも発現が誘導されていた。よって MLDP は PPAR $\alpha$  の標的遺伝子であると考えられる。興味深いことに、PPAR $\alpha$  リガンドにより心臓

の MLDP タンパク質の発現が増加すると、ADRP の発現は逆に減少していた。この結果は、心臓において両者が異なる機能を持ち、脂肪酸酸化が亢進されるような条件下では MLDP の方が必要とされることを示唆している。また、絶食時には心臓の脂肪滴が肥大化することが知られているが、我々は絶食によって MLDP の心臓と肝臓における発現が上昇することを見出している<sup>3)</sup>。

心臓は、消費エネルギーの多くを脂肪酸に依存する一方、その貯蔵容量が極めて少なく、その代わりに脂質のターンオーバーが非常に速いという特徴がある。MLDP は心臓のような脂肪酸酸化の活発な組織、またはそれが活性化された条件下の細胞において脂肪滴に優先的に局在し、積極的な脂肪の消費に寄与していると予想される。in vivo で MLDP がそのような役割を果たしているのか、さらなる検討が必要である。

### 4. ペリリピン：脂肪細胞のリポリシスにおける役割

脂肪細胞は体内の余剰エネルギーをトリアシルグリセロール (TG) として脂肪滴に蓄積し、成熟脂肪細胞では脂肪滴が細胞の大部分を占めるまでに発達する。これが個体レベルで肥満へとつながるのであるが、蓄積された TG はどのようにして分解されるのか。この脂肪分解 (リポリシス) においてペリリピンが重要な役割を果たしている。カテコールアミンが脂肪細胞膜の  $\beta$  アドレナリン作動性受容体に結合すると G タンパク質、アデニレートシクラーゼを介して細胞内の cAMP 濃度が上昇し、PKA (A キナーゼ) が活性化する。活性化した PKA により、脂肪滴のペリリピンや細胞質のホルモン感受性リパーゼ (HSL) がリン酸化される。リン酸化された HSL は細胞質から脂肪滴表面へと移行し、内部の TG を基質とした脂肪分解を開始すると考えられている (文献 4 および図 2A)。ペリリピンは通常は HSL が脂肪滴表面へ結合しないようバリアーとして働き、リポリシスを阻害している。しかし、リン酸化を受けたペリリピンは一転して HSL の脂肪滴への結合を促進させ、リポリシスを昂進させる。この過程には脂肪滴表面の構造変化が関与していると予想されている。

リポリシスの研究の歴史は古く、長い間 HSL が脂肪細胞における TG 分解の律速酵素だと認識されていた。しかし、近年 HSL のノックアウトマウスが報告され、このマウスは十分に脂肪分解活性が残っており、肥満にもならないことが明らかになった<sup>5,6)</sup>。結果として、HSL は TG よりもジアシルグリセロールの分解に重要な酵素であることがわかり、TG 分解には何か別の因子が関与することが示さ

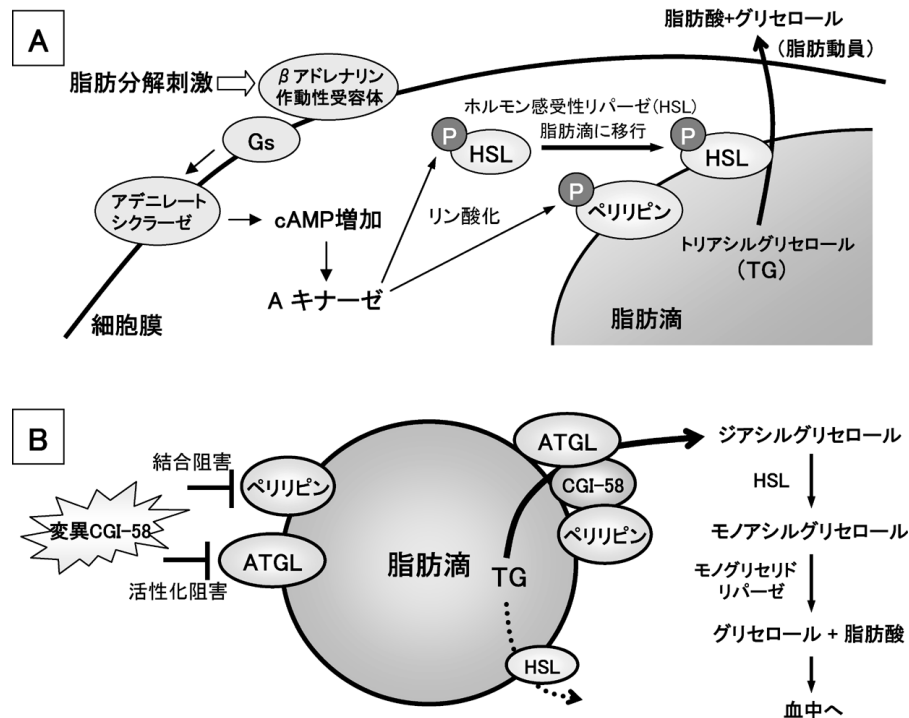


図2 脂肪細胞における脂肪分解機構

A, 脂肪分解刺激による脂肪動員の経路. B, 最近明らかになった脂肪滴におけるトリアシルグリセロール (TG) の異化機構. ATGL は CGI-58 と協調し TG 分解の律速酵素として機能する. CDS で見られる CGI-58 変異体は, ATGL の活性化能およびペリリピンとの結合能を持たない.

れた. ペリリピンがその一つであるが, 自身が酵素活性を有しているわけではなく, HSL とペリリピンだけではリポリシスの分子機構は説明できない.

このような背景のもと, 04 年にそのパズルを埋める二つの因子が別々に報告された. CGI-58 と ATGL である.

### 1) CGI-58

我々はペリリピンと相互作用する因子を酵母 two-hybrid 法により探索し, CGI-58 という 38 kDa のタンパク質を同定した<sup>7)</sup>. CGI-58 は機能未知のタンパク質であったが, ヒト CGI-58 遺伝子が中性脂肪蓄積症であるチャナリンドーフマン症候群 (CDS) の原因遺伝子として報告されていた<sup>8)</sup>. CDS は魚鱗癬, 脂肪肝などを症状とする先天性疾患であり, 全身の細胞で脂肪滴の異常な蓄積が認められる. これは CGI-58 が生体内で脂質代謝に関与していることを示唆しており, 我々は機能解析を始めた. CGI-58 の配列はマウスからヒトまでよく保存されており, リパーゼ様のモチーフを有している. ただし活性中心に当たる Ser が Asn となっている. 酵素活性を測定したところ, やはりリパーゼ活性は認められなかった. CGI-58 はユビキタ

スに発現しているが, 脂肪細胞で比較的高い. 3T3-L1 細胞の脂肪細胞分化に伴い発現が上昇し, 確かに内在性の CGI-58 はペリリピンと脂肪滴表面で共局在していた. 次に疾患との関連について検討を行った. CDS では CGI-58 遺伝子の欠損, 点変異やスプライス変異など, 多種の変異体が報告されている. 我々は CDS に相当する点変異を有する CGI-58 はペリリピンとの相互作用能力が減弱しており, 脂肪滴に局在できないことを見出した. 点変異による CGI-58 のミスターゲティングが CDS 発症の要因となっていると考えられる<sup>7)</sup>.

さらに, CGI-58 の機能を RNAi 法により検討した. Hepa1 細胞や未分化の 3T3-L1 細胞において CGI-58 の発現を抑制すると, コントロールに比べ明らかな脂肪滴の肥大化が確認された. さらに, CGI-58 RNAi 細胞では脂肪分解活性が有意に低下していた. このことは CGI-58 が脂肪分解を促進させる因子 (lipolytic factor) であることを示唆している. CGI-58 自身はリパーゼ活性を持たないのに, どのようにして脂肪分解を促進させるのであろうか. その機構は ATGL の発見と解析により解かれることになる.

## 2) ATGL (adipose triglyceride lipase)

04年に、脂肪細胞でTG分解を担うHSL以外のリパーゼとしてATGL (desnutrin, iPLA<sub>2</sub>とも呼ばれる)が報告された<sup>9)</sup>。ATGLは脂肪滴局在タンパク質であり、ユビキタスに発現しているが、脂肪組織に比較的多い。HeLa細胞におけるATGL RNAiは脂肪滴の顕著な肥大を引き起こす。ATGLは自身がリパーゼ活性を有しており、HSLノックアウトマウスで残存する脂肪分解活性はATGLによるものだと考えられる。また、HSLが分解刺激をうけて脂肪滴に局在するのは異なり、ATGLは刺激による局在の変化はない。ZechnerらはATGLのノックアウトマウスを解析し、ATGL欠損により脂肪組織重量が増加すること、脂肪分解刺激時のTG分解活性が80%以上阻害されることを見出した<sup>10)</sup>。このマウスでは脂肪酸の利用低下に伴い、エネルギー源としてグルコースの利用が昂進されていた。これらの*in vivo*での解析結果は、HSLではなくATGLこそがTGの異化機構の律速酵素であることを示唆している。そして06年、同グループはCGI-58がATGLのアクチベーターであると報告した<sup>11)</sup>。彼らは、CGI-58自身はリパーゼ活性を持たないが、ATGLのコファクターとして機能し、酵素活性を20倍にも上昇させることを*in vitro*で示している。さらにCGI-58とATGLは直接的に相互作用し、CDSで見られる点変異を持つCGI-58はATGLを活性化できないと報告している。CGI-58がATGLを活性化することが、脂肪滴におけるTG分解の始動の鍵になるであろう(図2B)。

ATGLはCGI-58と協調して働き、またCGI-58はペリリピンとも結合する。これらの相互作用の詳細については未だ不明な点もある。例えば、脂肪細胞がカテコールアミン刺激を受けると、ペリリピンのリン酸化に伴いCGI-58との結合が解除される。その後ペリリピンは脂肪滴表面に留まるが、CGI-58は細胞質へと遊離していく(投稿中および文献12)。CGI-58は脂肪分解を促進する因子であるのに、なぜ遊離してしまうのか疑問である。また、脂肪分解刺激時には脂肪滴の膜構造が劇的に変化することが知られている。刺激後10分ほどで、細胞質全体に無数の微小な脂肪滴が分散するのが確認されるようになる。脂肪滴の動態の分子機構は、CGI-58の不可解な挙動とも関連すると予想され、今後の研究課題である。

## 5. その他のPATファミリー

1) ADRPとTIP47—ADRPとTIP47はどちらもユビキタスに発現している。ADRPは脂肪細胞において未分化時

には発現しているが、分化の進行につれユビキチン-プロテアソーム系により分解され、代わりにペリリピンが脂肪滴をコートするようになる。脂肪組織以外では、ADRPのタンパク質量は細胞内の脂肪蓄積量に依存して敏感に変化する。脂肪含量や脂肪肝などのマーカーとして利用することができる。ADRPのノックアウトマウスは明らかな表現型を示さなかった。ただ、高脂肪食による負荷を与えた時に、脂肪肝の発生がある程度抑制されることが認められ、ADRPが脂肪滴の蓄積に機能することが示唆されている<sup>13)</sup>。

TIP47は最初、マンノース6-リン酸受容体と結合し、ゴルジ体とエンドソーム間の膜輸送を担う因子として報告された<sup>14)</sup>。しかし、近年様々な細胞の脂肪滴に局在することが見出されている。最近Londosらは、ADRPを欠損した細胞ではTIP47が代わりに高発現するようになり、ADRPの機能を補完していると報告した<sup>15)</sup>。TIP47とADRPは共に脂肪の代謝回転に関与し、機能的にもTIP47が脂肪滴の因子として妥当であることを示している。これがTIP47のゴルジ体での膜輸送とどう相関するのかは答えが出ていない。総じて、TIP47とADRPは、機能的に重複する非脂肪細胞における主要なPATファミリーだといえる。

2) S3-12—S3-12はペリリピンと同様に脂肪細胞に高発現しているが、お互いに異なる脂肪滴をコートしている。ペリリピンは成熟脂肪細胞に特有な直径数 $\mu\text{m}$ 以上の大きな脂肪滴に局在するのに対し、S3-12は0.5 $\mu\text{m}$ ほどの小型の脂肪滴に局在している<sup>16)</sup>。S3-12は脂肪滴が形成される初期段階において機能していると予想されているが、生理的役割はわかっていない。

## 6. おわりに

以上のようにPATファミリーの役割は多彩であるが、脂肪滴での脂肪の蓄積と分解を制御するタンパク質群とまとめることができる。ADRPとTIP47は脂肪を蓄積するはたらきがあり、ペリリピンは蓄積と分解を自身のリン酸化によって調節している。MLDPについてはさらなる解析が必要であるが、脂肪の分解に寄与すると推定される。これらの背景から、我々は体内の脂質ホメオスタシスにおける脂肪滴の役割は、組織選択的に発現するPATファミリーが決めているという概念を提案している。最近ヒトのペリリピンの遺伝子多型と肥満との関連が報告されたことも、本概念を支持するものといえよう。ペリリピンは肥満になりやすい体質を決める遺伝子だと考えられ、創薬の標的として注目される。他のPATファミリーの疾患との関

連についても今後の研究が期待される。

メタボリックシンドロームへの社会的関心から、関連する基礎研究は日々発展している。脂肪滴研究も例外ではなく、関係する論文の急激な増加がそれを物語っている。しかし、脂肪滴についてはその形成機構やメンブレントラフィック経路など、解明すべき課題が多く残されている。Rabの存在など、他のオルガネラとの相同性が予想される一方、脂質一重層という決定的な違いが、単純な比較を困難にしている。脂肪滴の全容解明のためには、PATファミリーを含めた局在タンパク質の解析の集積に加えて、脂肪滴の独自性に即したユニークな解析手法を探る必要があるだろう。

本文中 CGI-58 と MLDP の研究は、兵庫県立大学 大隅隆教授のもとで進めたものであり、深く感謝いたします。また、紙面の都合上引用できなかった文献があることをお詫び申し上げます。

- 1) Murphy, D.J. (2001) *Prog. Lipid Res.*, 40, 325–438.
- 2) Miura, S., Gan, J.W., Brzostowski, J., Parisi, M.J., Schultz, C. J., Londos, C., Oliver, B., & Kimmel, A.R. (2002) *J. Biol. Chem.*, 277, 32253–32257.
- 3) Yamaguchi, T., Matsushita, S., Motojima, K., Hirose, F., & Osumi, T. (2006) *J. Biol. Chem.*, 281, 14232–14240.
- 4) Sztalryd, C., Xu, G., Dorward, H., Tansey, J.T., Contreras, J. A., Kimmel, A.R., & Londos, C. (2003) *J. Cell Biol.*, 161, 1093–1103.
- 5) Osuga, J., Ishibashi, S., Oka, T., Yagyū, H., Tozawa, R., Fujimoto, A., Shionoiri, F., Yahagi, N., Kraemer, F.B., Tsutsumi, O., & Yamada, N. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97, 787–792.
- 6) Haemmerle, G., Zimmermann, R., Hayn, M., Theussl, C., Waeg, G., Wagner, E., Sattler, W., Magin, T.M., Wagner, E.F., & Zechner, R. (2002) *J. Biol. Chem.*, 277, 4806–4815.
- 7) Yamaguchi, T., Omatsu, N., Matsushita, S., & Osumi, T. (2004) *J. Biol. Chem.*, 279, 30490–30497.
- 8) Lefèvre, C., Jobard, F., Caux, F., Bouadjar, B., Karaduman, A., Heilig, R., Lakhdar, H., Wollenberg, A., Verret, J.L., Weissenbach, J., Özgüç, M., Lathrop, M., Prud'homme, J.F., & Fischer, J. (2001) *Am. J. Hum. Genet.*, 69, 1002–1012.
- 9) Zimmermann, R., Strauss, J.G., Haemmerle, G., Schoiswohl, G., Birner-Gruenberger, R., Riederer, M., Lass, A., Neuberger, G., Eisenhaber, F., Hermetter, A., & Zechner, R. (2004) *Science*, 306, 1383–1386.
- 10) Haemmerle, G., Lass, A., Zimmermann, R., Gorkiewicz, G., Meyer, C., Rozman, J., Heldmaier, G., Maier, R., Theussl, C., Eder, S., Kratky, D., Wagner, E.F., Klingenspor, M., Hoefler, G., & Zechner, R. (2006) *Science*, 312, 734–737.
- 11) Lass, A., Zimmermann, R., Haemmerle, G., Riederer, M., Schoiswohl, G., Schweiger, M., Kienesberger, P., Strauss, J.G., Gorkiewicz, G., & Zechner, R. (2006) *Cell Metab.*, 3, 309–

319.

- 12) Subramanian, V., Rothenberg, A., Gomez, C., Cohen, A.W., Garcia, A., Bhattacharyya, S., Shapiro, L., Dolios, G., Wang, R., Lisanti, M.P., & Brasaemle, D.L. (2004) *J. Biol. Chem.*, 279, 42062–42071.
- 13) Chang, B.H., Li, L., Paul, A., Taniguchi, S., Nannegari, V., Heird, W.C., & Chan, L. (2006) *Mol. Cell Biol.*, 26, 1063–1076.
- 14) Diaz, E. & Pfeffer, S.R. (1998) *Cell*, 93, 433–443.
- 15) Sztalryd, C., Bell, M., Lu, X., Mertz, P., Hickenbottom, S., Chang, B.H., Chan, L., Kimmel, A.R., & Londos, C. (2006) *J. Biol. Chem.*, 281, 34341–34348.
- 16) Wolins, N.E., Skinner, J.R., Schoenfish, M.J., Tzekov, A., Bensch, K.G., & Bickel, P.E. (2003) *J. Biol. Chem.*, 278, 37713–37721.

山口 智広

(兵庫県立大学大学院生命理学研究科細胞機能学分野)

PAT family: lipid droplet-associated proteins that regulate the fat storage and lipolysis  
Tomohiro Yamaguchi (Graduate School of Life Science, University of Hyogo, 3-2-1 Koto, Kamigori, Hyogo, 678-1297, Japan)

## ホルモンが神経内分泌細胞内で分泌顆粒へと選別輸送される機構

### はじめに

生体内で遠隔臓器へシグナルを伝達するシステムとして、神経系と内分泌系がある。神経系の細胞は、神経伝達物質として生理活性アミン、アミノ酸誘導体に加えて、エンケファリン、ダイノルフィン、ボンベシンなどの神経ペプチドも神経終末からシナプス間隙に向けて開口放出する。内分泌系の細胞は、インスリン、成長ホルモンなどのペプチドホルモンに加えて、甲状腺ホルモン、GABA、グルタミン酸などの生理活性アミンを血流中に開口放出し、標的器官の細胞にシグナルを伝達する。多くの場合、神経細胞はシナプス小胞のみならず分泌顆粒を持ち、内分泌細胞も分泌顆粒のみならずシナプス様小胞を持つので、本稿では両者をまとめて神経内分泌細胞と呼ぶ。このような神経内分泌細胞におけるタンパク質分泌経路を図1に示す。神経内分泌細胞では、ペプチドホルモンや神経ペプチドは粗面小胞体で合成された後、ゴルジ装置を経てトランスゴ