

トピックス

白色脂肪組織特異的新規膜蛋白Adipocyte adhesion molecule(ACAM)の同定

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科腎・免疫・内分泌代謝内科

江口 潤, 和田 淳, 榎野 博史

はじめに

近年, 肥満研究の進歩により, 脂肪組織は, 単なる脂質の貯蔵臓器ではなく, 様々な生理活性物質を分泌することにより, 食事摂取, インスリン抵抗性に関与し, 生体内のエネルギーバランスを調節していることがわかってい

る^{1,2)}. 肥満は, 肥大した脂肪細胞で構成される脂肪組織が過剰に蓄積した状態である. 我々は, 肥満, インスリン抵抗性の発症機構を解明するために, 内臓脂肪組織に着目し, 内臓脂肪蓄積型肥満, 2型糖尿病, 高血圧, 高脂血症を呈するOtsuka Long-Evans Tokushima Fatty(OLETF)ラット³⁾を用いて, 遺伝子サブトラクション法により内臓脂肪特異的な遺伝子群のスクリーニングを行い, OL-1(Adipocyte adhesion molecule, 以下ACAM), OL-64(Visceral adipose tissue derived serpin, VASPIN)という2つの未知遺伝子を同定した⁴⁾. 今回は, その一つであるACAMについて述べていきたい.

1. ACAMは, CTX遺伝子ファミリーに属する白色脂肪組織特異的遺伝子である

ACAMは, 372アミノ酸をコードし,

N末端にシグナルシーケンス, 細胞外にイムノグロブリンドメインを2個, 膜貫通ドメインを1箇所有する1型膜蛋白であった. さらにホモロジーサーチの結果, coxsackievirus and adenovirus receptor(CAR)をはじめとするCTX遺伝子ファミリーと約35%のホモロジーを認めた. しかし細胞内ドメインはセリン残基に富んでおり, 既存の膜蛋白とはホモロジーを認めなかった. ACAM mRNAの組織分布を検討した結果, ラット, ヒトでは白色脂

肪組織特異的に発現を認めたが, マウスでは, 心臓, 脳にも脂肪組織と同等な発現を認めた.

2. ACAM mRNAの発現は, 肥満の形成に伴い上昇する

OLETFラット群, 正常コントロールLETOラット群, OLETFラットに6週齢よりpioglitazone(1 mg/kg weight/day)を混餌投与したTZDラット群の3群に分け, 白色脂肪組織におけるACAM mRNAの発現を検討した.

OLETFラットの肥満は30週齢をピークとし, 以後インスリンの枯渇に伴い50週齢には体重減少を認める. 一方, LETOラットは, 耐糖能異常を認めず, 加齢に伴いゆるやかな体重増加を認める. また, TZDラットのインスリン分泌は50週齢まで保たれているが, 体重は著しく増加する.

これら3群の脂肪組織でのACAM mRNAの発現を各脂肪別(副睾丸周囲脂肪, 後腹膜脂肪, 腸間膜脂肪, 皮下脂肪

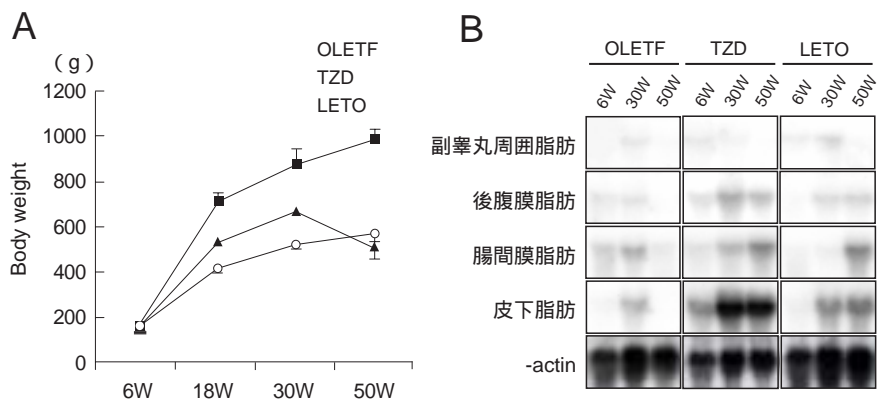


図1 OLETFラットの白色脂肪組織におけるACAM mRNAの発現

- A. OLETFラット群(OLETF), OLETFラットの正常コントロールLETOラット群(LETO), OLETFラットに6週齢より1mg/kg weight/dayのpioglitazoneの混餌を投与したTZD群(TZD)の体重経過.
- B. これら3群の脂肪組織での各脂肪組織別(副睾丸周囲脂肪, 後腹膜脂肪, 腸間膜脂肪, 皮下脂肪), 経時的(6週齢, 30週齢, 50週齢)なACAM mRNAの発現.

脂肪)に、経時的(6週齢, 30週齢, 50週齢)に検討した。

ACAM mRNAはOLETFラットでは、30週齢で腸間膜脂肪、皮下脂肪に特に強く発現するが、50週齢には全ての白色脂肪で低下する。TZDラット群では、体重増加に伴い後腹膜脂肪、腸間膜脂肪で発現上昇し、興味深いことに皮下脂肪での発現が劇的に増強した。LETOラットでは、加齢による体重増加と平行してACAM mRNAの発現も50週齢にピークとなった(図1)。

また、遺伝的肥満糖尿病モデルマウス*db/db*マウスの脂肪組織での発現は、

正常コントロールである*db/m*マウスと比較し、腸間膜、皮下脂肪組織で増加し、高脂肪食負荷マウスでは、内臓脂肪組織での発現が増強していた。さらに、ヒト肥満者でも、皮下脂肪組織での発現はBMIと正の相関を認めた。

3. ACAMは、脂肪細胞の分化に関わる新規接着分子である

ACAMは、脂肪組織中の成熟脂肪細胞のみに発現し、細胞内ではplasma membraneに発現している。また、マウス、ヒト皮下脂肪の初代培養脂肪

細胞を用いて検討すると、脂肪細胞の分化に伴いその発現は上昇する。CTX遺伝子ファミリーは、上皮細胞、内皮細胞において細胞間接着能を持っていることが知られている。ACAM安定発現CHO細胞株を作成し、対照、低発現株、高発現株においてcell aggregation assayを行うと、高発現株は、対照、低発現株と比較し、より大きな細胞凝集塊を形成した(図2)。

おわりに

ACAMは、1) CTX遺伝子ファミリーに属する、2) 白色脂肪組織特異的に発現する、3) ヒト肥満者、肥満モデル動物の白色脂肪組織に強く発現する、4) ヒトとマウスの初代培養脂肪細胞の分化過程で発現上昇する、5) 脂肪細胞のplasma membraneに発現し、細胞間のホモフィリックな接着に関与している、といった特徴的な性質をもつため、我々は、adipocyte adhesion moleculeと命名した。

OLETFラット、肥満モデルマウス、ヒト肥満者の検討で、肥満の形成に伴って発現が上昇し、初代培養脂肪細胞でも脂肪細胞分化に従って発現が上昇することより、肥満形成、脂肪細胞の成熟と強く関連していることが明らかとなった。

現在までのところ、CTX遺伝子ファミリーを含めて成熟脂肪細胞に発現する接着分子の報告はほとんどない。N-cadherinとCadherin-11が未成熟な脂肪細胞に発現するということが報告されているが、脂肪細胞の成熟に伴い発現は消失する⁵⁾。前駆脂肪細胞より成熟脂肪細胞へ分化するときには劇的な細胞形態の変化、脂肪滴の蓄積を来す。

分化に伴う形態変化には、細胞間のinteractionが重要であり、このような接着分子が細胞内のシグナル伝達や細

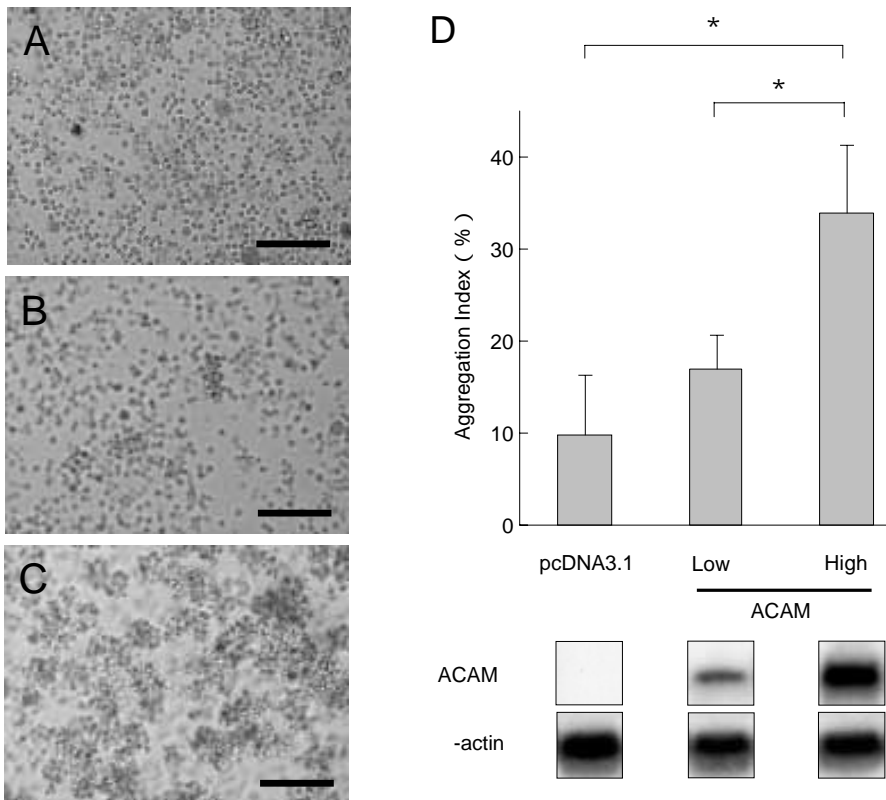


図2 ACAM安定発現CHO細胞株の作成、およびcell aggregation assay
ラットACAMの全翻訳領域をpcDNA3.1/TOPOベクターにサブクローニングし、CHO細胞へ遺伝子導入後G418でセレクションし、stable cell lineを確立した。
A. emptyベクター安定発現CHO細胞 (pcDNA3.1)
B. ACAM低発現CHO細胞 (Low)
C. ACAM高発現CHO細胞 (High)
D. mRNAの発現定量により、高発現ラインを選択し、cell aggregation assayを行った。細胞凝集は、90分のインキュベーション前後の細胞数(N_0 , N_{90})をコールターカウンターで測定し、aggregation index($(N_0 - N_{90})/N_0$)で定量した。(Bars=200 μ m. * $p < 0.001$)

胞骨格の変化を掌っていることが推測される。

現在、ACAMの肥満形成、脂肪細胞分化における役割を検討中であるが、ACAMの機能解析は、肥満、メタボリックシンドロームの治療に結びつく可能性が示唆された⁶⁾。

文献

- 1) Matsuzawa Y, Shimomura I, Nakamura T, et al.: Pathophysiology and pathogenesis of visceral fat obesity. *Ann N Y Acad Sci* 1995, 748 : 399
- 2) Matsuzawa Y, Shimomura I, Kihara S, et al.: Importance of adipocytokines in obesity-related diseases. *Horm Res* 2003, 60 Suppl 3 : 56-59.
- 3) Kawano K, Hirashima T, Mori S, et al.: Spontaneous long-term hyperglycemic rat with diabetic complications. Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty(OLETF) strain. *Diabetes* 1992, 41 : 1422-1428.
- 4) Hida K, Wada J, Zhang H, et al.: Identification of genes specifically expressed in the accumulated visceral adipose tissue of OLETF rats. *J Lipid Res* 2000, 41 : 1615-1622.
- 5) Shin CS, Lecanda F, Sheikh S, et al.: Relative abundance of different cadherins defines differentiation of mesenchymal precursors into osteogenic, myogenic, or adipogenic pathways. *J Cell Biochem* 2000, 78 : 566-577.
- 6) Eguchi J, Wada J, Hida K, et al.: Identification of adipocyte adhesion molecule (ACAM) a novel CTX gene family, implicated in adipocyte maturation and development of obesity. *Biochem J* 2005, 387 : 343-353.