

トピックス

アディポソーム (Adiposome)：脂肪細胞が分泌する機能性膜小胞

青木 直人

三重大学大学院生物資源学研究科生物圏生命科学専攻生命機能科学講座

はじめに

脂肪細胞は、過剰に摂取したエネルギーの単なる貯蔵タンクではなく、レプチン、アディポネクチンに代表されるアディポサイトカイン(アディポカイン)を積極的に分泌する内分泌細胞として、糖代謝、脂質代謝、摂食調節などエネルギー代謝において中枢的な役割を担う。食の欧米化が進み、代謝症候群(メタボリックシンドローム)が蔓延しつつある現在社会において、脂肪細胞に対する注目はますます高まると予想される。

筆者らは、乳腺上皮細胞がリン脂質二重層からなる膜小胞を盛んに分泌することを見出し報告したが¹⁾、脂肪細胞が同様な膜小胞を分泌すれば、内分泌細胞として機能する脂肪細胞の新たな作用の発見や、抗肥満治療、抗メタボリックシンドローム治療を目的とした創薬につながるのではと考えた。本稿では脂肪細胞から分泌される膜小胞(アディポソーム：adiposomeと命名)の発見に至る経緯、生化学的解析および予想される機能について紹介したい²⁾。

1. 脂肪細胞が分泌する膜小胞：アディポソームの発見と生化学的解析

これまでに筆者らが見出した乳腺上

皮細胞の他に、免疫担当細胞など種々の細胞がエクソソーム(exosome)に代表される膜小胞を分泌することが報告されてきている^{3,4)}。そこでこれまで報告された膜小胞にはほぼ共通して局在するMFG-E8(milk fat globule-EGF factor 8)を指標にして、3T3-L1脂肪細胞から分泌される膜小胞の探索を行ったところ、培養上清から超遠心分離(100,000xg, 1時間)によって得られた沈殿画分に膜小胞の存在を見出した。MFG-E8の存在量は、3T3-L1細胞の脂肪細胞への分化程度にほぼ依存した。またモデルとして用いた3T3-L1脂肪細胞の培養上清だけでなく、ラット初代培養脂肪細胞の培養上清から回収した沈殿画分にも同様にMFG-E8の存在を確認した。さらに得られた沈殿画分を電子顕微鏡観察すると、図1

に示すような電子密度の高い脂質膜を持つ膜小胞がはっきりと見て取れた。興味深いことに、直径が100nm程度のエクソソームタイプの小胞と、1 μmにもおよぶ小胞の2種が混在することが明らかとなった。同様な結果は、ガン細胞から分泌される膜小胞でも報告されている。以上のように、生化学的証拠に加え形態学的証拠も得られたことから、3T3-L1脂肪細胞が膜小胞を分泌することが明らかとなり、アディポソームと命名した。

アディポソームの機能を探るための第一歩として、局在するタンパク質をウエスタンブロット解析および液体クロマトグラフィー/質量分析(LC/MS)により網羅的に調べたところ、膜小胞存在の指標に用いたMFG-E8はもちろんのこと、膜貫通タンパク質(カベオリン)、細胞質タンパク質(c-Src)、核タンパク質(熱ショックタンパク質、ヒストン)などが局在することが明らかとなった。加えて、細胞外マトリクス関連タンパク質(コラーゲン、ラミニニン、フィブロネクチンなど)も比較的多量に存在することも特徴として挙げられる。またアディポネクチンの一部も存在する。これらのタンパク質の一部について培地中での存在形態を調べた結果、その大部分がアディポソーム

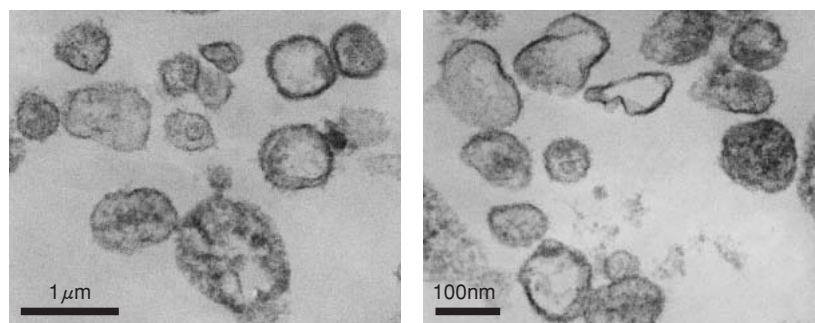


図1 アディポソームの電子顕微鏡画像
3T3-L1脂肪細胞から分泌された膜小胞を超遠心分離により回収し、透過型電子顕微鏡で撮影した。写真は2つの異なる倍率での撮影像。

ムに局在することが明らかとなった。しかしながら、これらタンパク質がどのようにして、なぜアディポソームに局在するかについては、現時点では不明な点が多い。

2. アディポソームの機能は？

MFG-E8に焦点を絞り、アディポソームの分泌制御機構を調べた。生理的条件を考慮して、まずは培養培地に含まれるグルコース濃度に注目した。通常3T3-L1脂肪細胞の培養に推奨されている高グルコース(4,500 mg/ml)含有DMEM培地を、低グルコース(1,000mg/ml)含有DMEM培地に交換すると、アディポソーム中のMFG-E8が有意に減少することが判明した。高グルコース培地による培養下で抗酸化剤NAC(N-アセチルシステイン)を添加すると、用量依存的にアディポソーム中のMFG-E8が減少すること、低グルコース培地培養下の細胞内

活性酸素種(ROS)産生量は高グルコース培地中のそれに比べて低いことより、MFG-E8が局在するアディポソームの分泌は、細胞内の酸化還元(redox)による制御を受けていることが推測される。また肥満時に血中濃度が高まるTNF- α 、インスリンのいずれの処理をした場合にもアディポソーム中のMFG-E8量が上昇した。以上の結果は、アディポソームが栄養・生理状態にตอบสนองして分泌されることを強く示唆する結果として注目している(図2)。

MFG-E8は乳腺上皮細胞によって分泌される乳脂肪球皮膜を構成する主要タンパク質として同定されたのが最初であるが⁵⁾、その後アポトーシス細胞の貪食⁶⁾、受精⁷⁾、血管新生⁸⁾など基本的生命現象において極めて重要な役割を果たすことがノックアウトマウスを用いた発生工学的研究により次々と明らかになってきている。もし生体内でも生理条件に応じて脂肪細胞がアディ

ポソームを分泌しているとすれば、MFG-E8の発現量も変動するはずである。そこで脂肪組織におけるMFG-E8の発現を調べてみた。その結果、高脂肪食摂取により肥満したC57BL/6Jマウス副精巣周囲脂肪組織において、遺伝子レベル、タンパク質レベルいずれの場合も、通常食摂取に比してMFG-E8の発現が劇的に上昇することが明らかとなった。脂肪組織を脂肪細胞画分と間質・血管系(stromal-vascular)画分に分けて発現を調べると、MFG-E8の大部分は脂肪細胞で発現することが判明した。また比較的ユビキタスに発現すると考えられていたMFG-E8は、脂肪組織における発現が非常に高いことも明らかとなった。以上の結果は、生体内においても脂肪細胞が栄養・生理状態に応じてMFG-E8、すなわちアディポソームを分泌していることを示唆していると考えられる。

上述のようにMFG-E8はアポトーシス細胞へ結合することにより、生細胞とアポトーシス細胞を区別する機能を有することが京都大学(前大阪大学)・長田重一教授らのグループにより報告されている⁶⁾。ではアディポソームに結合したMFG-E8はどうか？ 人工的な系ではあるが、アポトーシスを受けたJurkat細胞やアポトーシス細胞の細胞表面に露出するホスファチジルセリンに対してもアディポソームに由来するMFG-E8は明確な結合活性を示した²⁾。脂肪細胞が生体内でどのくらいの頻度でアポトーシスによる死を遂げるかどうか、著者らの知る限り明確に示された報告例はないが、アディポソームに関わる可能性が覗える。

おわりに

アディポソームを通して、脂肪細胞が新たな機能を発現している可能性が高まった。MFG-E8以外にもマトリク

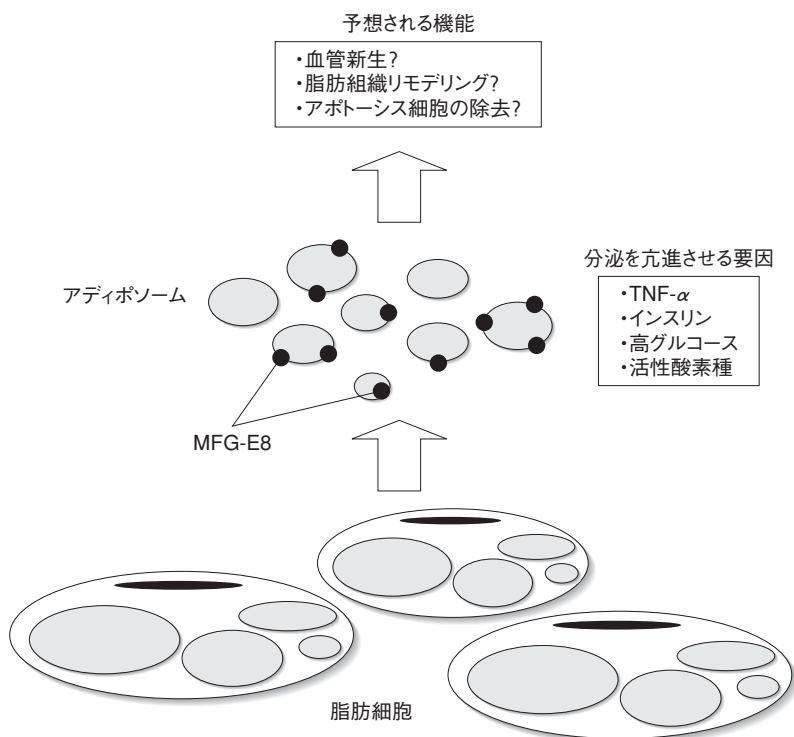


図2 アディポソームの分泌制御と予想される機能

スプロテアーゼなど血管新生や脂肪組織リモデリングに関わる分子もアディポソームに局在することが明らかとなっている²⁾。これら分子がアディポソームという「共通の乗り物」に局在し、協調的かつ効率的に機能発現している可能性が想定される(図2)。MFG-E8は脂肪細胞での発現が非常に高く、アディポソームの機能発現において重要かつ中心的な役割を果たしていると筆者らはにらんでいる。したがって、アディポソームに局在するという存在形態を除けば、MFG-E8はアディポサイトカインの一つに数えられると筆者らは考えている。今後は遺伝子改変動物を用いた実験を進め、アディポソームの分泌と機能発現における積極的な関わりを明らかにしたい。

謝 辞

本研究遂行にあたり多くの共同研究者の方々にご協力、ご助言をいただき

ました。この場を借りて厚く御礼申し上げます。本稿を、アディポミクス研究にも貢献され、本年3月に急逝されました、名古屋大学大学院生命農学研究科・故北川泰雄先生に捧げます。

文 献

- 1) Oshima K, Aoki N, Kato T, et al.: Secretion of a peripheral membrane protein, MFG-E8, as a complex with membrane vesicles. *Eur J Biochem* 2002, **269**: 1209-1218.
- 2) Aoki N, Jin-No S, Nakagawa Y, et al.: Identification and characterization of microvesicles secreted by 3T3-L1 adipocytes: redox- and hormone-dependent induction of MFG-E8-associated microvesicles. *Endocrinology* 2007, epub ahead of print.
- 3) Fevrier B, Raposo G: Exosomes: endosomal-derived vesicles shipping extracellular messages. *Curr Opin Cell Biol* 2004, **16**: 415-421.
- 4) van Niel G, Porto-Carreiro I, Simoes S, et al.: Exosomes: a common pathway for a specialized function. *J Biochem(Tokyo)* 2006, **140**: 13-21.
- 5) Stubbs JD, Lekutis C, Singer KL, et al.: cDNA cloning of a mouse mammary epithelial cell surface protein reveals the existence of epidermal growth factor-like domains linked to factor VIII-like sequences. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990, **87**: 8417-8421.
- 6) Hanayama R, Tanaka M, Miwa K, et al.: Identification of a factor that links apoptotic cells to phagocytes. *Nature* 2002, **417**: 182-187.
- 7) Ensslin MA, Shur BD: Identification of mouse sperm SED1, a bimotif EGF repeat and discoidin-domain protein involved in sperm-egg binding. *Cell* 2003, **114**: 405-417.
- 8) Silvestre JS, Thery C, Hamard G, et al.: Lactadherin promotes VEGF-dependent neovascularization. *Nat Med* 2005, **11**: 499-506.