

トピックス

# 脂肪細胞分化における autocrine/paracrine 因子 FGF10 の役割

神戸大学大学院医学研究科応用分子医学講座糖尿病代謝・消化器・腎臓病学分野

阪上 浩, 小川 渉, 春日 雅人

## はじめに

肥満は体内脂肪組織の重量が増加した状態であり、脂肪細胞の増殖や分化機構と密接に関係していると考えられる。脂肪細胞の分化は、生体の栄養状態や代謝状態に応じて、内分泌ホルモン、脂質などの代謝産物とともに、脂肪組織局所での生理活性物質が複雑に関わって制御されていると考えられる<sup>1)</sup>。脂肪細胞自身が分泌する線維芽細胞増殖因子10 (fibroblast growth factor 10; FGF10)も(白色)脂肪細胞の分化を制御する autocrine/paracrine 因子である。

## 1. FGF10と脂肪細胞の終末分化

山崎、伊藤らは、FGF10がマウスの白色脂肪組織のなかで成熟脂肪細胞ではなく、前駆脂肪細胞に発現していることを発見した<sup>2)</sup>。われわれは、この FGF10が培養細胞株である3T3-L1や3T3-F442Aといった前駆脂肪細胞を *in vitro*で脂肪細胞に分化させる過程において、一過性に発現し、細胞外に分泌されることを見出した。すなわち、3T3-L1前駆脂肪細胞を胎児血清下にインスリン、デキサメサゾンとイソブチルメチルキサンチンで分化誘導すると、FGF10の mRNA の発現が増強され、その後発現は急激に減少し、終末分化に入るとほぼ確認できなくな

る(図1 A)。蛋白レベルでも同様に、分化初期にのみ FGF10 の発現が確認され、培養液中にも分泌が確認できる(図1 B)。3T3-F442A前駆脂肪細胞をアラキドン酸アナログである ETYA (eicosatetraenoic acid) やチアゾリジン誘導体などの分化誘導因子で刺激した場合でも、FGF10の発現が認められたことから、FGF10の一過性の発現は、分化誘導に用いられた薬剤に依存するのではなく、むしろ細胞自身の持つ分化プログラムにより決定されていると考えられた。この自己分泌される FGF10 の作用を遮断するため、FGF10の特異抗体を培養液に加えること、すべての FGF 受容体のシグナルを遮断でき得る変異 FGF 受容体 FGFR-1TR を、3T3-L1前駆脂肪細胞に発現させることで終末分化を観察した。これらの方法は、FGF10による

MAPキナーゼの活性化やp70S6キナーゼの活性化が有効に遮断させ得ることがすでに確認されている。いずれの場合においても、分化過程において FGF10のシグナルを遮断すると、3T3-L1細胞の終末分化が抑制され、脂肪滴の蓄積が抑制された<sup>3)</sup>。以上のことから、自己分泌される FGF10は脂肪細胞の終末分化に対して必須の役割を持つと考えられた。では、この FGF10はどのような機序で脂肪細胞の分化に作用するのであろうか。

## 2. FGF10による脂肪細胞分化調節機構

FGF10は分化の初期に一過性に発現が増強し、細胞外に分泌され、autocrine/paracrineの機構にて、脂肪細胞の分化を制御することから、同じ時期に誘導される転写因子C/EBPとの関連を検討した。3T3-L1細胞において、FGF10の特異抗体を培養液に加えることで FGF10のシグナルを遮断し、分化誘導した場合、C/EBPの発現は mRNA、蛋白とも著明に減少していた(図2 A)。さらに終末分化の時期の認める転写因子C/EBPや PPAR の発現も抑制されていた(図2 B)。さらに興味深いことに、FGF10

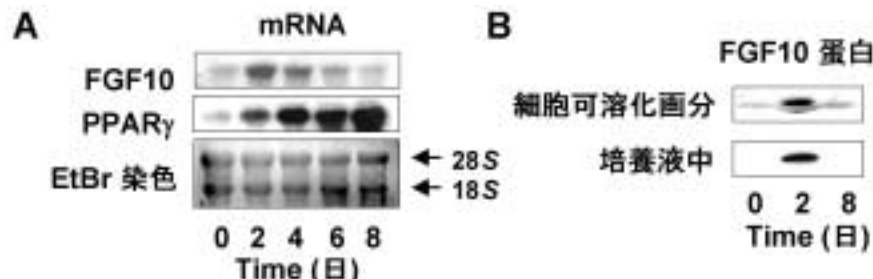


図1 脂肪細胞の分化過程における FGF10 の発現

3T3-L1細胞株の脂肪細胞への分化過程において、(A) FGF10の mRNA は分化誘導後2日目に発現が増強し、終末分化するのに従い、その発現が漸減する。一方、PPAR の mRNA は、終末分化するのに従い、その発現が著増する。(B) FGF10の蛋白レベルでの発現も、細胞可溶化画分や培養液中に分化誘導後2日目のみに確認される。

(Sakaue Hほか: Genes Dev, 2000, 16: 908-912)

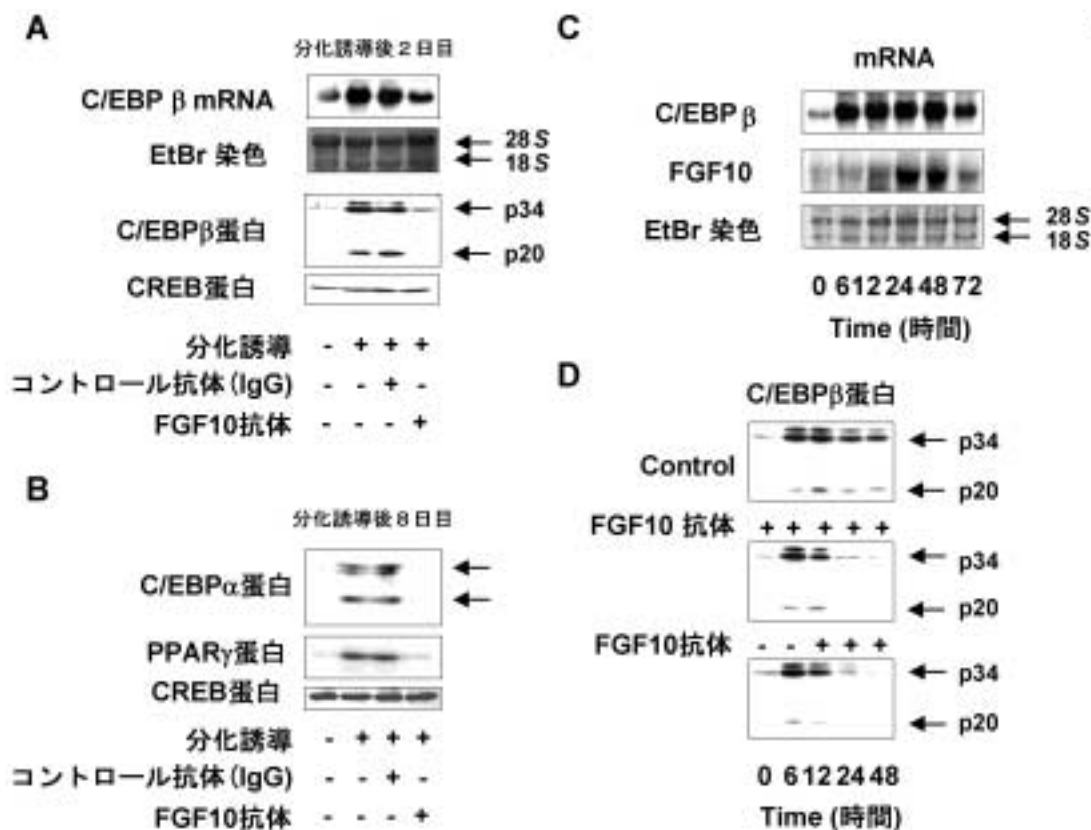


図2 FGF10中和抗体投与による脂肪細胞の分化の抑制

3T3-L1細胞株の脂肪細胞への分化過程において、(A)脂肪細胞の分化を促進する転写因子であるC/EBPはmRNA, 蛋白(p34, p20)とも、FGF10中和抗体を分化誘導時に培養液に加えることで、分化誘導後2日目の発現が著明に抑制される。コントロールとして、正常ウサギIgG抗体を加えたものでは抑制効果されない。またCREB(cAMP response element binding protein)は分化誘導にても誘導されないし、FGF10中和抗体でも抑制されない。同様に、(B)脂肪細胞の分化を促進する転写因子であるC/EBP, PPARも、FGF10中和抗体を分化誘導時に培養液に加えることで、分化誘導後8日目の発現が著明に抑制される。(C)脂肪細胞の分化を促進する転写因子であるC/EBPのmRNAは、分化誘導後6時間で発現が認められるが、FGF10のmRNAは分化誘導後12時間以前には認められない。(D)C/EBP蛋白は、分化誘導後6時間で発現が認められる(上段)。FGF10中和抗体を分化誘導時に培養液に加えることで、分化誘導後24時間以降のC/EBP蛋白の発現は著明に抑制されるが、分化誘導6時間後のC/EBP蛋白の発現には影響がない(中段)。また、FGF10の発現が確認できる分化誘導後24時間の時点でFGF10中和抗体を加えても、分化誘導後48時間の時点でのC/EBP蛋白の発現は著明に抑制される(下段)。

(Sakaue Hほか: Genes Dev, 2000, 16: 908-912)

のシグナルの遮断は、分化誘導初期のC/EBPの誘導には影響を与えず、その後のC/EBPの発現維持に働いていることが明らかとなった(図2C, Dの図説明参照のこと)。このことよりFGF10は、分化過程において、分化に必須な転写因子C/EBPの発現維持、およびC/EBPやPPARの発現誘導に必要であると考えられた。またC/EBPの恒常的活性型を変異

FGF受容体FGFR-1TRと同時に3T3-L1細胞に発現させて分化誘導した場合や、C/EBPの恒常的活性型を3T3-L1細胞に発現させ、かつFGF10の特異抗体を同時に加えて分化誘導した場合には、FGF10シグナル遮断による終末分化の抑制やC/EBP, PPARの発現抑制は認められなかった<sup>3)</sup>ことより、FGF10はC/EBPを介して、終末分化に作用していると考え

られた。

### 3. FGF10のシグナル伝達機構と分化誘導

FGFは数多くの細胞内シグナル伝達因子を活性化させることが知られているが、そのうちp70S6キナーゼに着目した。なぜなら、3T3-L1脂肪細胞の分化の初期にp70S6キナーゼの一過性の活性化が確認し得る。マクロ

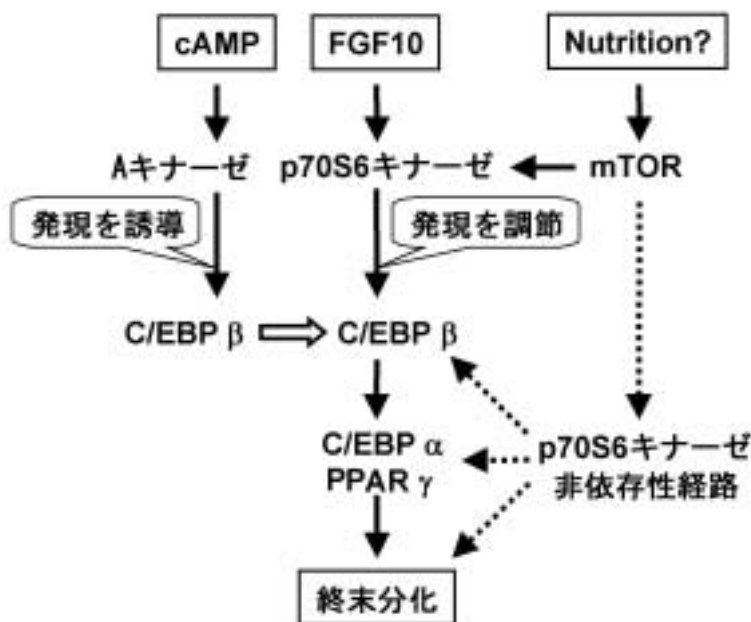


図3 FGF10の作用機序(仮説)

分化初期に一過性に分泌されるFGF10は, autocrine/paracrine機構によってp70S6キナーゼの活性化を通して, cAMP/Aキナーゼが誘導するC/EBPの発現を調節し, 終末分化に作用している可能性が推定される. NutritionによるmTORのシグナルは, 一部p70S6キナーゼの活性化を通して, 終末分化に作用すると考えられるが, p70S6キナーゼ非依存性の経路も想定される.

ライド系抗生剤の一種であるラパマイシンを作用させると3T3-L1細胞のC/EBP発現抑制とともに, 終末分化が抑制されることが知られている<sup>6)</sup>.

ラパマイシンの哺乳動物細胞内での標的分子はmTORもしくはFRAP, RAFTなどと呼ばれる蛋白であり, mTORの下流で機能する分子の一つがp70S6キナーゼである. そこで, 同様に変異FGF受容体FGFR-1TRやFGF10の特異抗体を用いて, FGF10のシグナルを遮断し, 3T3-L1細胞を分化誘導した場合のp70S6キナーゼの活性を測定すると, ラパマイシン処理と同様, 優位に抑制されていることが確認できた(投稿準備中). p70S6キナーゼの脂肪細胞の分化に対する役割を直接的に証明した報告は今までのところないが, FGF10はp70S6キナーゼ経路を介して, C/EBPの発現調節機構に作用すると考えられた(図3).

### おわりに

小西, 伊藤らは, FGF10のノックアウトマウス(FGF10KOマウス)では皮下脂肪組織が消失しており, FGF10KOマウスより得られた胎児線維芽細胞も脂肪細胞への分化が障害されていると報告している<sup>3)</sup>. 以上より, FGF10は個体でも脂肪組織の形成過程の正常な進行に必須の増殖因子であることが明らかとなった. さらに興味深いことに, 培養細胞ではFGF10の単独投与は脂肪細胞の分化にほとんど作用を持たないばかりでなく, 外より持続的に加えられた高濃度のFGF10はむしろ分化に対して抑制的に働くことをわれわれは確認している(未発表データ). 分化過程の初期に一過性の分泌が重要であり, またその濃度も極低濃度である必要があるらしい. これは転写因子カスケードと同様に, 分化に必要な細胞内外のシグナル伝達因子

も分化時期特異的な活性化が必要であることを示唆している. この数年間で, FGFシグナル系ばかりでなく, Wntシグナル系やinsulin/IGF-1シグナル系などが活性化するシグナル伝達因子が分化を正常に進行させるのに必要であることが徐々に明らかとされた<sup>7)</sup>. もちろん個々の素過程のシグナル伝達因子の解析だけでは, 脂肪組織形成過程を調節する統一的な分子機構解明には不十分であることは明らかであるが, 分化プログラムを正常に進行させ得る個々のシグナル伝達因子の時間的, 空間的制御の解析はまず取り組むべき課題であり, 個々のシグナルが持つメッセージが転写因子の活性化に置換され, 下流に位置するシグナルへと収斂する機構を明らかにする必要がある. これを基盤として, 個々の細胞の集合体としての個体が, そのシグナルによりどのように応答し, 脂肪組織が形成されるか, 脂肪組織が生体内の糖・脂質代謝の恒常性の維持に果たす役割をどのように獲得するかを解明することが, 本研究の最終的な目標であろう.

### 文献

- 1) MacDougald AO, Mandrup S: Adipogenesis: Forces that tip the scales. Trends in Endocrinol Metab 2002, 13: 5-11.
- 2) Yamasaki M, Emoto H, Itoh N, et al.: Structure and expression of the rat mRNA encoding a novel member of the fibroblast growth factor family. J Biol Chem 1996, 271: 15918-15921.
- 3) Sakaue H, Konishi M, Itoh N, et al.: Requirement of fibroblast growth factor 10 in development of white adipose tissue. Genes Dev 2002, 16: 908-912.
- 4) Rosen ED, Spiegelman BM: Molecular regulation of adipogenesis. Annu Rev Cell Dev Biol 2000, 16: 145-171.

脂肪細胞分化におけるautocrine/paracrine因子FGF10の役割

- 5) 阪上 浩, 小川 渉, 春日雅人: 多彩な脂肪細胞機能 分化と調節. 内分泌・糖尿病科 2001, 12 : 317-323.
- 6) Yeh WC, Bierer BE, McKnight SL: Rapamycin inhibits clonal expansion and adipocyte differentiation of 3T3-L1 cells. Proc Natl Acad Sci USA 1995, 92 : 11086-11091.
- 7) 森 要之, 阪上 浩, 春日雅人: 脂肪細胞分化を制御するシグナル伝達. Mol Med 2002 39 : 384-391.