

## 論文内容要旨

報告番号	甲 栄 第 307 号	氏名	森 優樹
題 目	<p><b>All-trans retinoic acid induces lipophagy through the activation of the AMPK-Beclin1 signaling pathway and reduces Rubicon expression in adipocytes</b>  (脂肪細胞においてall-transレチノイン酸はAMPK-Beclin1シグナリング経路の活性化を介したリポファジーの誘導やRubicon発現の減少を引き起こす)</p>		
<p>肥満改善の新しい標的として、細胞内成分の分解機構であるオートファジーによる脂肪滴の分解(リポファジー)が注目されている。過去の疫学研究では、脂肪蓄積と血中ビタミンA濃度の間に負の相関があることが示されている。ビタミンAの活性本体であるall-transレチノイン酸(atRA)は、肥満モデルマウスの脂肪蓄積を抑制することや、肝細胞のオートファジー活性を亢進させることが報告されている。しかしながら、atRAがリポファジーに与える影響はこれまで検討されていなかった。本研究では、atRAによるリポファジーへの影響やその機序の解明を目的として、マウスの脂肪組織や脂肪細胞を用いて検討を行った。</p> <p>C57BL/6Jマウス(35週齢)にatRAを4週間腹腔内投与した結果、コントロールとなるDMSO投与群に比べatRA投与群では体重あたりの精巣上体周囲脂肪組織(WAT)重量や脂肪細胞サイズが低値を示した。また、DMSO投与群に比べatRA投与群のWATでは、オートファジーマーカータンパク質であるLC3B-II発現量の高値、オートファジー依存的に分解されるp62発現量の低値が見られ、WATにおいてatRAはオートファジーを誘導することが示唆された。次に、オートファジー活性を定量的に評価できるGFP-LC3-RFP-LC3ΔGプローブを安定発現させたマウス脂肪前駆細胞株(3T3-L1細胞)を用いて解析した結果、atRAは脂肪細胞においてオートファジー活性を亢進させることが分かった。リポファジーでは脂肪滴の膜タンパク質perilipin-1とLC3Bが共局在することが知られているため、共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した結果、脂肪細胞へのatRA処理はperilipin-1とLC3Bの共局在を増加させた。一方、オートファジー必須遺伝子ATG5に対するsiRNAを用いた脂肪細胞のオートファジーの抑制は、atRAによる脂肪分解で上昇する培地中の遊離脂肪酸濃度を低下させたことから、脂肪細胞においてatRAはリポファジーを誘導することが示唆された。次に、atRAのリポファジー誘導におけるオートファジー亢進の代表的な機序としてAMP-activated protein kinase (AMPK)-Beclin1経路の関与を検討した。その結果、脂肪細胞においてatRA処理はAMPK及びBeclin1タンパク質のリン酸化を増加させ、siRNAを用いてAMPKをノックダウンさせるとatRA処理による培地中の遊離脂肪酸濃度の上昇が抑制された。次に、オートファジー活性の亢進に寄与するAMPK-Beclin1経路以外の経路としてオートファジー抑制因子であるRubiconへの影響を検討した結果、脂肪細胞へのatRA処理はRubiconのタンパク質発現量を減少させた。最後に、脂肪組織のRubiconは加齢によって減少することが報告されていることから、この原因としてatRA量増加の関与の可能性を検討した。その結果、脂肪組織において最も発現量が高いatRA合成酵素aldehyde dehydrogenase 1A1発現量は、若齢マウスと比べ高齢マウスの脂肪組織において高値を示した。</p> <p>以上より、脂肪細胞においてatRAはAMPK-Beclin1シグナリング経路を介したオートファジー活性化によってリポファジーを誘導する可能性が示された。また、高齢マウスの脂肪組織ではatRA量が増加する結果、Rubicon発現量が減少する可能性が示された。</p>			

報告番号	甲 栄 第 307 号	氏名	森 優樹
審査委員	主査 二川 健 副査 阪上 浩 副査 赤川 貢		
題目	<p><b>All-<i>trans</i> retinoic acid induces lipophagy through the activation of the AMPK-Beclin1 signaling pathway and reduces Rubicon expression in adipocytes</b>  (脂肪細胞においてall-<i>trans</i>レチノイン酸はAMPK-Beclin1シグナリング経路の活性化を介したリポファジーの誘導やRubicon発現の減少を引き起こす)</p>		
著者	<p><b>Yuki Mori, Masashi Masuda, Risa Yoshida-Shimizu, Saki Aoyagi, Yuichiro Adachi, Anh The Nguyen, Yusuke Maruyama, Yosuke Okumura, Yuki Kamei, Maiko Sakai, Kohta Ohnishi, Hirokazu Ohminami, Yutaka Taketani</b></p>		
	<p>令和 6 年 1 月 22 日 The Journal of Nutritional Biochemistryに受理済</p>		
要旨	<p>本論文では、脂肪細胞においてall-<i>trans</i>レチノイン酸 (atRA) がAMP-activated protein kinase (AMPK) シグナリング経路を介したリポファジーの誘導やRubicon発現の減少を引き起こすことを明らかにしたものである。</p> <p>肥満改善の新しい標的として、細胞内成分の分解機構であるオートファジーによる脂肪滴の分解 (リポファジー) が注目されている。過去の疫学研究では、脂肪蓄積と血中ビタミンA濃度との間に負の相関があることが示されている。ビタミンAの活性本体であるatRAは、肥満モデルマウスの脂肪蓄積を抑制することや、肝細胞のオートファジー活性を亢進させることが知られているが、atRAがリポファジーに与える影響は明らかとされていない。今回、マウスの脂肪組織やマウス脂肪前駆細胞株 (3T3-L1細胞) を用いてatRAによるリポファジーへの影響やその機序を明らかにすることを目的とした。</p> <p>C57BL/6Jマウス (35週齢) にatRAを4週間腹腔内投与した結果、コントロールとなるDMSO投与群に比べatRA投与群では体重あたりの精巢上体周囲脂肪組織 (WAT) の重量や脂肪細胞サイズの低値と、オートファジーの促進を示した。次に、脂肪細胞に分化させた3T3-L1細胞にatRAを処理すると、オートファジー活性を亢進させ、脂肪滴の膜タンパク質perilipin-1とオートファジーマーカータンパク質LC3Bの共局在を増加させた。一方、オートファジー必須遺伝子Atg5に対するsiRNAを用いて脂肪細胞のオートファジーを抑制させると、atRAによる脂肪細胞の脂肪滴分解効果が減弱した。atRAによるリポファジー誘導機序として、AMPK-Beclin1経路が関与することを示した。また、脂肪細胞へのatRA処理は、AMPK-Beclin1経路以外にオートファジー抑制因子であるRubiconのタンパク質発現量を減少させた。</p> <p>以上の結果から、脂肪細胞においてatRAはAMPK-Beclin1シグナリング経路を介したオートファジーの活性化によってリポファジーを誘導することを明らかとした。また、atRAはAMPK-Beclin1シグナリング経路以外にRubiconもオートファジー誘導に関与する可能性が示された。</p> <p>本研究は、atRAが脂肪細胞においてリポファジーを誘導する機序を提案し、肥満症の予防や治療法を確立するための重要な知見となることから、博士 (栄養学) の学位授与に値すると判定した。</p>		