

# 論文内容要旨

Selective activation of PPAR $\alpha$  maintains thermogenic capacity of beige adipocytes

(PPAR $\alpha$  の選択的活性化はベージュ脂肪細胞の熱産生能を維持する)

iScience, 26:107143, 2023, in press.

主指導教員：服部 登 教授

(医系科学研究科 分子内科学)

副指導教員：浅野 知一郎 教授

(医系科学研究科 医化学)

副指導教員：大野 晴也 講師

(広島大学病院 内分泌代謝診療科)

江草 玄太郎

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

近年、グルコースと脂肪酸を燃焼し **Uncoupling protein 1;UCP1** を介して熱産生を行う熱産生関連脂肪細胞(褐色脂肪細胞、ベージュ脂肪細胞)が抗肥満治療の標的として注目されている。

ベージュ脂肪細胞は、 $\beta$  アドレナリン受容体刺激薬、PPAR $\gamma$  アゴニストである

**Rosiglitazone**(以下 **Rosi**)を用いて生合成が可能であるが、これらの薬剤は浮腫や頻拍など副作用のため実臨床での長期使用が難しい。そこで我々は、ベージュ脂肪細胞の機能維持に関連する薬理的に調整が可能な因子と転写調整機構について探索を行った。

### 1. ベージュ脂肪細胞の分化刺激を除去すると、熱産生遺伝子群と共に転写因子 *Ppara* の発現が低下する

不死化脂肪前駆細胞に **Rosi**、野生型マウス(C57BL/6)に  $\beta$  アドレナリン受容体刺激薬である **CL316,243**(以下 **CL**)を用いてベージュ脂肪細胞を生合成した後、分化刺激を除去し発現の変化した遺伝子群について RNA-seq で解析した。発現が有意に低下した遺伝子の中でも、転写因子では *Ppara* が最も低下していた。ベージュ脂肪細胞の分化過程においても、PPAR $\alpha$  の発現が上昇していたことから、ベージュ脂肪細胞の機能維持に PPAR $\alpha$  が重要である可能性を見出した。

### 2. ペマフィブラートは生合成したベージュ脂肪細胞の熱産生能を維持する

PPAR $\alpha$  はリガンド依存的に活性化する転写因子である。そこで、生合成したベージュ脂肪細胞に PPAR $\alpha$  の薬理的活性化が与える影響について、選択的 PPAR $\alpha$  モジュレーターである **Pemafibrate**(以下 **Pema**)を用いて検討した。不死化脂肪前駆細胞に **Rosi** を用いて生合成したベージュ脂肪細胞の分化刺激を **Pema** へ切り替えた群(**Rosi-Pema**)と、分化刺激を抜いた群(**Rosi-off**)を、分化刺激を切り替える直前の群(**Rosi**)と比較した。*Ucp1* をはじめとする熱産生関連遺伝子の発現は、**Rosi-Pema** 群で維持され、細胞の酸素消費量も **Rosi-off** 群と比較し有意に増加していた。以上から、ベージュ脂肪細胞の熱産生機能の維持には、**Pema** による選択的な PPAR $\alpha$  活性化が有用であることが示唆された。

### 3. ペマフィブラート投与はベージュ脂肪細胞を維持し、食餌誘導性肥満マウスの耐糖能異常と体重増加を抑制する

次に、マウス生体で生合成したベージュ脂肪に **Pema** が与える影響について検討した。まず、熱中性下で野生型マウス(C57BL/6)に 7 日間 **CL** 処置を行いベージュ脂肪細胞を生合成した後、高脂肪食を負荷と同時に 4 週間 **Pema** へ切り替えた群(**CL-Pema**)、**CL** を中止した群(**CL-off**)を用いて解析した。**CL-Pema** 群では、体重増加並びに、腹腔内ブドウ糖負荷試験で糖負荷 30 分後の血糖値上昇が有意に抑制された。また、**CL-Pema** 群では、**CL-off** 群と比較し鼠径部白色脂肪組織中で **UCP1** などの熱産生関連遺伝子・蛋白の発現が増加し、組織学的にも **UCP1** 染色陽性のベージュ脂肪細胞を確認した。以上から、マウス生体で生合成したベージュ脂肪は **Pema** により維持され、食餌誘導性肥満や耐糖能障害を抑制する可能性が示唆された。

#### 4. ELK1 はペマフィブラートによる熱産生遺伝子制御機構における PPAR $\alpha$ の重要な Co-factor である

Pema による熱産生遺伝子転写調節機構の探索を目的に、Rosi で生合成したベージュ脂肪への分化刺激を選択的 PPAR $\alpha$  アゴニスト(GW9578、Pema)へ切り替えた群(Rosi-GW9578、Rosi-Pema)で調整される遺伝子群について、RNA-seq で検討した。多次元尺度構成法から Rosi-Pema と Rosi-GW9578 は異なった遺伝子プロファイルを示し、*De novo* モチーフ解析では、Rosi-Pema 遺伝子群のプロモーター領域に、転写因子 E-twenty-six(ETS) transcription factor ELK1(以下 ELK1)の存在を確認した。ELK1 のノックダウンにより Pema による熱産生遺伝子群の誘導が阻害された。クロマチン免疫沈降法で評価すると、Pema 投与により *Ucp1* 転写開始点近傍で PPAR $\alpha$ 、ELK1 が共局在し、その enrichment が増加していた。以上から、ELK1 は Pema による熱産生遺伝子発現に必要な PPAR $\alpha$  の Co-factor であることが示唆された。

以上から、ペマフィブラート投与によりベージュ脂肪細胞の機能維持が可能であり、機序の一つとして、熱産生関連遺伝子発現調節における PPAR $\alpha$ -ELK1 転写複合体の関与が明らかとなった。ペマフィブラートは臨床で広く使用されている薬剤であり、肥満関連代謝疾患の治療における長期的な有用性について期待される。