

【奨励賞受賞者研究トピックス】

脂肪組織のミトコンドリアストレスが個体に及ぼす影響

野崎 優香、小林 正樹、樋上 賀一

東京理科大学薬学部生命創薬科学科 分子病理・代謝学研究室

キーワード：白色脂肪組織、ミトコンドリアストレス、MIPEP、GDF15

1. はじめに

白色脂肪組織 (White adipose tissue; WAT) は、主に皮下や内臓に分布し、体内に摂取した栄養分を中性脂肪として貯蔵する「エネルギー貯蔵の場」として知られている。一方、WAT がホルモン、サイトカイン、増殖因子といった多数の内分泌タンパク質を放出する内分泌臓器であることも 1990 年代後半から明確に認識されるようになってきた。WAT の主要な構成細胞である白色脂肪細胞は、細胞質のほとんどが単胞性の大きな脂肪滴で占められており、存在するミトコンドリア量が少ない。そのため、WAT におけるミトコンドリアの役割に関しては、これまであまり議論されてこなかった。しかし近年、WAT におけるミトコンドリアストレスは、脂肪細胞の分化・脂質代謝、インスリン感受性などに関与し、2 型糖尿病やインスリン抵抗性の原因となる可能性が報告されるようになってきた^[1]。それゆえ、ミトコンドリアの恒常性維持が、WAT そのものの性質に及ぼす影響は大きいと考えられる。本稿では、特にミトコンドリア内のタンパク質恒常性維持を担うペプチダーゼである MIPEP (Mitochondrial intermediated peptidase) に着目し、WAT のミトコンドリアストレスへの応答反応と、その応答が及ぼす全身への影響について解析を行った結果を報告する。

2. ミトコンドリアストレスと MIPEP

ミトコンドリア内でミスフォールドしたペプチドが蓄積することは、重大なミトコンドリア障害である。Mitochondrial unfolded protein response (UPR^{mt}) は、不要ミトコンドリアタンパク質の成熟異常・蓄積を含む、様々なミトコンドリア機能異常により惹起される代表的なミトコンドリアストレス応答である^[2]。ミトコンドリアストレスを契機に、細胞内では核 DNA からスト

レス応答性の遺伝子として、シャペロン、プロテアーゼ、ミトカイン (ミトコンドリアストレス誘発性サイトカイン) などの発現が誘導されることが知られている^[3]。つまり UPR^{mt} は、ミトコンドリアの機能を回復し、最適な細胞環境を維持するための監視機構であると言える。尚、これらの発現に関わる転写因子として、現在までに ATF4、ATF5、CHOP が関与することが示唆されているが、未だミトコンドリアストレスが核ゲノムの転写活性を上げるメカニズムには不明な点が多い。

99% 以上のミトコンドリア局在タンパク質は核 DNA にコードされており、細胞質での翻訳後、ミトコンドリアへと輸送され、mitochondrial signal peptidase (MtSPase) による切断を受けて活性化される。我々が着目する MIPEP は、MtSPase の 1 つである mitochondrial processing peptidase (MPP) により 1 度切断されたミトコンドリアタンパク質を基質とし、2 段階目の切断を担うペプチダーゼである^[4]。電子伝達系構成タンパク質の 1 つである cytochrome c oxidase subunit 4 (COXIV) や、TCA サイクルを担う酵素の 1 つである malate dehydrogenase 2 (MDH2) は、MIPEP の基質として既知であることから^[5]、MIPEP の欠損はミトコンドリアのプロテオスタシス障害を起こすことが考えられた。

我々は過去に、白色脂肪組織において、ミトコンドリア恒常性維持に重要な因子である Sirtuin-3 (SIRT3) のプロセッシングに MIPEP が重要であることを報告している^[6]。そこで、*Mipep*^{flax/flax} マウスと Adiponectin-Cre マウスを交配させることで、脂肪組織特異的にミトコンドリアストレスが誘導される MIPEP 欠損 (Adipose-specific *Mipep* Knockout; *A-Mipep KO*) マウスを作製し、脂肪組織におけるミトコンドリアストレスに対するストレス応答の分子機構と、全身への影響を解析した。

3. ミトコンドリア UPR が白色脂肪細胞の分化に及ぼす影響

A-Mipep KO マウスは、野生型 (WT) マウスと比べ、摂餌量に変化がないにも関わらず離乳後の体重および WAT の重量が低下した。また、*A-Mipep KO* マウスの白色脂肪組織では、lipoblast 様の未分化な脂肪細胞が多

連絡先：野崎 優香

〒278-8510 千葉県野田市山崎 2641

TEL : 04-7124-1501 (ex. 6536)

FAX : 04-7121-3676

E-mail : nozaki@rs.tus.ac.jp

く観察された。これらの結果は、MIPEP 欠損により脂肪細胞の分化不全が起きていることを示唆した。そこで、成熟脂肪細胞マーカー (*Adiponectin*, *Leptin*) および脂肪分化に関わる分子 (*Ppar γ* , *cEBP α* , *cEBP β* , *cEBP δ*) の mRNA を測定した結果、*A-Mipep KO* マウスの WAT ではこれらの発現が低下していた。

前述の通り、MIPEP はミトコンドリアタンパク質のプロセッシングを担うタンパク質であることから、この分化不全の原因ミトコンドリアストレスであると考え、MIPEP の基質として既知である SIRT3, COXIV, MDH2 の発現を Western blot で測定した。その結果、MIPEP 欠損によって SIRT3, COXIV の発現は低下していた一方で、MDH2 は増加するなど、ミトコンドリアタンパク質の恒常性の異常が示唆された。これらの結果から、*A-Mipep KO* マウスの WAT では、ミトコンドリアタンパク質のプロセッシング異常により、脂肪細胞の分化不全が生じている可能性が示唆された。

4. MIPEP 欠損による非典型的なミトコンドリア UPR の惹起

ミトコンドリアストレスの 1 つである UPRmt は、核 DNA からシャペロン、ミトコンドリアプロテアーゼ、ミトカインの転写が増強されることが知られている^[3]。そこで、*A-Mipep KO* マウスの WAT でこれらの UPRmt 応答性因子の mRNA を測定した結果、シャペロンとプロテアーゼの発現には変化がないか減少したにも関わらず、ミトカイン (*Gdf15*, *Fgf2*) の発現のみが MIPEP 欠損により増加した。核 DNA にコードされている UPRmt 応答性のこれらのミトカインは、転写・翻訳のあと細胞外に放出されることで、生体の酸化ストレスや炎症を軽減することが知られている。そこで、血漿中のこれらのミトカインの発現を ELISA で測定した結果、MIPEP 欠損により GDF15 のみ血中で増加していた。以上の結果から、我々の作製した *A-Mipep KO* マウスは、WAT において非典型的な UPRmt を誘導し、GDF15 を血中に放出することが明らかになった。

5. 脂肪組織特異的ミトコンドリア UPR が個体に及ぼす影響

GDF15 は UPRmt により誘導される代表的なミトカインで、正負の両作用が報告されている。実際、血漿 GDF15 が高値を示した *A-Mipep KO* マウス 30 週齢に Lipopolysaccharide (LPS) を暴露した結果、WT マウスは 4 日程度でほとんどが死亡したが、*A-Mipep KO* マウスはこれに抵抗性を示した。一方で、*A-Mipep KO* マウスの平均寿命は短縮した。GDF15 は若齢期には LPS などによる細胞障害に抵抗を示す因子である^[7]。一方、血漿 GDF15 は加齢に伴い増加し、高齢者の身体能力や認知機能と負に相関することが報告されている^[8]。以上のことを踏まえ、*A-Mipep KO* マウスは、脂肪細胞における非典型的 UPRmt を介した GDF15 の発現増加などにより、若齢期では LPS などの急性ストレスに対して抵抗性・改善傾向を示すが、高齢期までの長期にわたる

UPRmt では寿命短縮など老化促進に寄与する、という拮抗的表現型を示すことが明らかになった。

6. おわりに

脂肪組織特異的な MIPEP 欠損は、個体に対して正負の影響を及ぼす GDF15 の血漿レベルを増加させ、若齢・高齢において拮抗的表現型をもたらすことが示唆された。今後、MIPEP 欠損による脂肪細胞内の UPRmt 惹起機構、*A-Mipep KO* により放出される GDF15 を含むミトカインプロファイルの全容及びその発現制御機構などを解析する必要があるが、本研究成果は、急性炎症反応や老化・寿命制御機構の理解に繋がるものと期待できる。

参考文献

1. Kusminski CM, Scherer PE. Mitochondrial dysfunction in white adipose tissue. *Trends Endocrinol Metab.* 2012;23(9):435-43.
2. Shpilka T, Haynes CM. The mitochondrial UPR: mechanisms, physiological functions and implications in ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2018;19(2):109-20.
3. Zhao Q, Wang J, Levichkin IV, Stasinopoulos S, Ryan MT, Hoogenraad NJ. A mitochondrial specific stress response in mammalian cells. *Embo j.* 2002;21(17):4411-9.
4. Isaya G, Kalousek F, Fenton WA, Rosenberg LE. Cleavage of precursors by the mitochondrial processing peptidase requires a compatible mature protein or an intermediate octapeptide. *J Cell Biol.* 1991;113(1):65-76.
5. Vögtle FN, Prinz C, Kellermann J, Lottspeich F, Pfanner N, Meisinger C. Mitochondrial protein turnover: role of the precursor intermediate peptidase Oct1 in protein stabilization. *Mol Biol Cell.* 2011;22(13):2135-43.
6. Kobayashi M, Takeda K, Narita T, Nagai K, Okita N, Sudo Y, *et al.* Mitochondrial intermediate peptidase is a novel regulator of sirtuin-3 activation by caloric restriction. *FEBS Lett.* 2017;591(24):4067-73.
7. Abulizi P, Loganathan N, Zhao D, Mele T, Zhang Y, Zwiep T, *et al.* Growth Differentiation Factor-15 Deficiency Augments Inflammatory Response and Exacerbates Septic Heart and Renal Injury Induced by Lipopolysaccharide. *Sci Rep.* 2017;7(1):1037.
8. Conte M, Martucci M, Mosconi G, Chiariello A, Cappuccilli M, Totti V, *et al.* GDF15 Plasma Level Is Inversely Associated With Level of Physical Activity and Correlates With Markers of Inflammation and Muscle Weakness. *Front Immunol.* 2020;11:915.