

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

令和 3年 6月 8日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 岐阜大学大学院医学系研究科総合病態内科学

職 名 助教

研究代表者 田口 皓一郎

下記のとおり令和2年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:20013)

1. 共同研究課題名	脂肪細胞におけるRE1-Silencing Transcription Factor (REST)発現の意義			
2. 共同研究目的	申請者らは、神経細胞遺伝子の多くを負に調節している REST を欠損させたマウス (REST-KO)を作出し、2018 年、2019 年度の共同研究においてこのマウスの脂肪細胞の表現型を明らかにすることを申請し、採択された。その後このマウスは肥満となり、酸素消費量が減少していることが示され、原因として REST-KO における白色脂肪(WAT)のミトコンドリア機能の低下が示唆された。今回の研究は REST-KO の WAT のミトコンドリア機能を詳細に評価し、加えてミトコンドリア機能低下の機序を解明することを目的とする。			
3. 共同研究期間	令和 2年 4月 1日 ~ 令和 3年 3月 31日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 田口 皓一郎	岐阜大学大学院医学系研究科	助教	研究の総括	
(分担研究者) 不破 雅之 梶田 和男 青木 仁美	岐阜大学大学院医学系研究科 岐阜大学大学院医学系研究科 岐阜大学大学院医学系研究科	大学院生 准教授 講師	動物飼育 細胞培養 実験動物提供	
5. 群馬大学生体調節研究所の共同研究担当教員	分野名	代謝エピジェネティクス分野	氏名	稲垣毅

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同研究計画

- ◎ REST-KO 及び対照マウスから採取した白色/褐色脂肪組織のstromal vascular fraction (SVF)を培養し、白色脂肪へ分化誘導を行う。この分化した細胞のミトコンドリア機能をフラックスアナライザーを用いて解析する。
- ② C57/BL/6 マウスの白色/褐色脂肪組織から採取したSVF を培養、分化誘導を行った後、レンチウイルスに組み込んだ shRNA により RRST を欠失させ、フラックスアナライザーで①と同様の検討を行う。
- ③ REST-KO で認められたWAT でのcytochrome C の蛋白発現低下がどのような機序で行われたかを解明する。mRNA のレベルでの発現低下は認められていないので、転写後調節が行われたと考えられる。マイクロアレイのモジュール解析で低下していたミトコンドリア翻訳遺伝子群は、ミトコンドリアリボソームに関するものであった。そこでリボソームの機能に注目し、REST-KO の WAT でのリボソームに結合した mRNA を測定することにより、翻訳活性の測定を試みる。

7. 共同研究の成果

REST-KO の特徴がWAT でのミトコンドリア機能低下であることを更に確認するため、WT、REST-KO のWAT からSVF を採取し、分化誘導を行い、以下の結論を得た。

- ① 分化誘導で得られた初代培養脂肪細胞において、REST-KO 由来の WAT は、対象より大きな油滴が認められた。また Mitotracker Red の取り込みで評価したミトコンドリア機能は REST-KO で低下していた。しかしこの解析を行う時に、Mitotracker の取り込みが細胞質のみならず、脂肪滴でも認められることが明らかとなった。近年BAT において細胞質ミトコンドリア(CM)と油滴周辺ミトコンドリア(PDM)があり、前者は中性脂肪の燃焼、後者は中性脂肪の油滴への補給を行っていることが示された。しかし WAT においてこのようなミトコンドリアの役割分担がなされているか否かは未知である。WAT のミトコンドリアを考察する際にこの課題は無視できないと考えられた。
- ② マウス WAT から遠心分離法により CM、PDM を分離した。この分画にミトコンドリアが存在することは、Mitotracker の取り込みがあること、cytochrome C が認められること、ミトコンドリア DNA がみとめられることで、確認された。今後 REST-KO の WAT における CM、PDM の解析を行う予定である。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換（本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。）

① 本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文
なし

② この共同研究に基づくとの記載のある論文
なし

③ 学会発表を行った主なもの3件以内(学会名、開催日、演題)

RE1-silencing transcription factor (REST) regulates mitochondrial activity in white adipocytes.
American Diabetes Association 80th Scientific Sessions, 2020.6.12-16.

第 63 回日本糖尿病学会年次学術集会、WEB、2020.10.5-16、Neuron-Restrictive Silencer Factor (NRSF)の脂肪細胞ミトコンドリア生成における役割。

第 93 回日本内分泌学会学術総会、Web 開催、2020.7.20-8.31、Repressor element 1 silencing transcription factor (REST)の脂肪細胞ミトコンドリア生成における役割。

④本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)

新型コロナウイルスの蔓延のため、群馬大学に訪問することができなかつたため、メールでの情報交換のみとなった。