

## 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 4年 4月 26日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 京都大学大学院医学研究科  
職 名 教授  
研究代表者 竹内 理

下記のとおり令和3年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:20001)

1. 共同研究課題名	転写後調節による脂肪細胞制御機構の解明			
2. 共同研究目的	mRNA 分解酵素 Regnase-1 を脂肪細胞特異的に欠損するマウスでの代謝の変化を、群馬大学の保有する小動物代謝モニタリングシステム(Oxymax)を用いて共同で解析し、生体の脂肪分化および糖・脂質代謝における Regnase-1 の役割を明らかにする。			
3. 共同研究期間	令和3年 4月 1日 ~ 令和4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) 竹内 理	大学院医学研究科	教授	研究の総括	
(分担研究者) 吉永 正憲 久保 隆博	大学院医学研究科 医学部	助教 学部学生	研究の計画、実験の実施および解析 遺伝子欠損マウスの表現型解析	
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	分子糖代謝制御	氏 名	藤谷 与士夫

※ 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

### (1) 個体レベルのエネルギー代謝における Regnase-1 の機能解析

脂肪細胞特異的 Regnase-1 欠損マウスにおける脂肪量減少・耐糖能改善の原因として、褐色・ベージュ脂肪細胞による熱産生の亢進が考えられる。2020年度のOxymaxを用いた代謝解析から、このマウスにおいて代謝が亢進していることを示唆する予備データが得られており、本年度は脂肪組織から回収した間質血管細胞群(SVF)を *in vitro* でベージュ脂肪細胞に分化させ、細胞外フラックスアナライザーによる解析を行い *in vivo* のときと同様に代謝の亢進がみとめられるか検討する。また、脂肪細胞のベージュ化は脂肪組織に存在するM2マクロファージや好酸球などの免疫細胞によっても促進されることが知られている。そこで脂肪細胞特異的 Regnase-1 欠損マウスの脂肪組織中の免疫細胞についてもFACSにより検討する。

### (2) 脂肪細胞における Regnase-1 の標的遺伝子の探索

昨年度、脂肪細胞において Regnase-1 により発現が制御される遺伝子の探索を実施し、褐色・ベージュ脂肪細胞のマーカーを Regnase-1 の標的候補遺伝子として見出した。本年は、さらにルシフェラーゼを用いたレポーターアッセイを行うことで、Regnase-1 強制発現により標的候補遺伝子群のレポーターの発現が低下するか検討する。また、脂肪組織中への免疫細胞浸潤に関与すると考えられる遺伝子群についてもレポーターを作出し、同様の解析を加える。

## 7. 共同研究の成果

### (1) 個体レベルのエネルギー代謝における Regnase-1 の機能解析

Regnase-1 欠損ベージュ脂肪細胞におけるエネルギー代謝を細胞外フラックスアナライザーにより検討したところ、Regnase-1 を欠損した脂肪細胞ではミトコンドリアでの最大呼吸能が増加していることを見出した。また、Regnase-1 欠損ベージュ脂肪細胞においては、UCP1 や PGC1  $\alpha$  IRF4 などのベージュ脂肪細胞関連の遺伝子発現が亢進していた。これらの結果より、ミトコンドリアによるエネルギー代謝の亢進が示唆された。次に、脂肪細胞特異的 Regnase-1 欠損マウスの脂肪組織中の免疫細胞について検討したところ、ベージュ化を促進することが知られている好酸球の割合が特に増加していることを見出した。

### (2) 脂肪細胞における Regnase-1 の標的遺伝子の探索

脂肪細胞特異的 Regnase-1 欠損マウスの白色脂肪のトランスクリプトーム解析により Regnase-1 標的候補と考えられた遺伝子の mRNA 群に関し、ルシフェラーゼ・レポーターアッセイを実施したところ、褐色・ベージュ脂肪細胞に重要な転写因子群および好酸球の浸潤に関与するケモカイン群の mRNA が Regnase-1 の標的であることを示唆する結果が得られた。

上記の結果から、脂肪細胞における Regnase-1 はベージュ脂肪細胞の転写因子群の発現調節および好酸球の遊走制御により、ベージュ化を阻害する可能性が示唆された。今後はさらにその詳細なメカニズムについて検討を進める予定である。

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

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

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)

1. Yoshinaga, M., Bassik, MC., and Takeuchi, O.: Identification of novel post-transcriptional regulators in erythroid differentiation, 第44回日本分子生物学会年会, 1-3 December 2021.

2. Yasukura, S., Yoshinaga, M., Bassik MC., and Takeuchi, O.: Analysis of metabolic reprogramming in macrophage utilizing genome-wide CRISPR screening. 第50回日本免疫学会学術集会, 8-10 December 2021.

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)

・令和3年12月にオンラインにて共同研究に関して得られたデータと今後の方針について議論を行った。