

要 約

報告番号	甲 ㊦ 第	号	氏 名	山 本 博 之
------	-------	---	-----	---------

主 論 文 題 名

Dynamic subcellular localization of aquaporin-7 in white adipocytes
(白色脂肪細胞におけるアクアポリン7の細胞内局在の解析)

(内 容 の 要 旨)

白色脂肪細胞は生体内の代謝調節において重要な役割を果たしている。アクアポリン7 (AQP7) は白色脂肪細胞に発現する膜蛋白質で、水だけでなくグリセロールを通すことが知られている。AQP7ノックアウトマウスでは脂肪細胞内にグリセロールおよび中性脂肪が蓄積し肥大化することが知られており、肥満や脂質代謝異常との関連性が示唆されている。しかし、AQP7の発現については周囲の毛細血管に発現するのみという報告もあり、相反している状況である。また、AQP7の脂肪分解における局在変化やその役割については依然不明な点が多い。3T3-L1細胞由来の脂肪細胞やマウスより採取した脂肪組織を用い、免疫組織染色の最適化および蛍光蛋白質を利用したイメージングによりAQP7の局在と調節因子を明らかにし、脂質代謝におけるAQP7の役割を明らかにすることを目的に研究をおこなった。

最初に3T3-L1細胞では分化誘導に伴ってAQP7の発現が増大していくこと、フローサイトメトリーにてAQP7抗体がAQP7を認識していることを確認した。また、免疫組織染色の最適化に取り組み、トリクロロ酢酸を使用した固定法を用いて、包埋することなく脂肪細胞・組織の共焦点顕微鏡により観察可能な実験系を確立した。確立した方法による解析では、AQP7は脂肪細胞の形質膜に発現を認めたが周囲の毛細血管に比べその信号強度は低値であった。次に、脂肪分解の過程でのAQP7の変化について脂肪組織を用いて調べたところ、ノルエピネフリンによる刺激にてAQP7は細胞内、特に脂肪滴周辺へと局在が変化することが観察された。ノルエピネフリン刺激ではインスリン刺激に比べ、AQP7の内在化が観察された細胞の割合が有意に高かった。

さらには3T3-L1細胞由来の脂肪細胞を利用して、AQP7の局在変化と関連する蛋白質の探索を行った。最初にAQP7と蛍光蛋白質との融合蛋白質を発現するベクターを作成し、その分布について免疫染色の結果と整合的であることを確認した。次にAQP7-EGFPを3T3-L1由来脂肪細胞に強制発現させた細胞をライブイメージングにて観察した。脂肪分解刺激であるフォルスコリン刺激により、AQP7が細胞膜より内膜系へ移行していくことが観察された。フォルスコリンのようなprotein kinase Aの経路による刺激では脂肪滴周辺蛋白質の局在変化も知られているが、その中でもCGI-58との共強制発現においてAQP7の局在は細胞膜から細胞内に変化することが確認された。このことよりCGI-58はAQP7の細胞膜から内膜系への局在変化を調節していることが考えられた。

以上より、マウスの脂肪組織においてAQP7は毛細血管だけでなく脂肪細胞にも発現し、脂肪分解刺激によりその局在が変化し、その過程をCGI-58が調整している可能性が示唆された。