

脂肪滴での中性脂肪の蓄積と分解を制御する PAT ファミリー

山口智広

昭和大学薬学部生物化学教室、准教授

要 旨

細胞内脂肪滴は、全身の細胞に存在する細胞小器官であり、中性脂肪がリン脂質一重層によって囲まれた構造を持つ。脂肪滴は単なる余剰脂肪の貯蔵庫ではなく、その表面に存在するタンパク質が、積極的に脂質代謝を制御している。哺乳動物細胞の脂肪滴には PAT ファミリーという相同性のあるタンパク質群が存在し、脂肪の蓄積と分解に関わっている。我々はこれまでに PAT ファミリーに関連する2つの脂肪滴局在タンパク質、CGI-58と MLDP を見出した。CGI-58は脂肪細胞の主要なリパーゼである ATGL と相互作用することによって、その酵素活性を促進させる。MLDP は心臓の脂肪滴に特異的に存在するタンパク質であり、PPAR α によって遺伝子発現が制御されている。本稿ではこれらの因子を中心として、脂肪滴における脂肪の蓄積と分解の機構について概説する。

Key Words : 脂肪滴, 脂質代謝, PAT ファミリー, CGI-58, MLDP

1. はじめに

人類は長い進化の過程で絶えず飢えという危険にさらされていた。そのため動物は過剰に摂取したエネルギーを無駄にしないように、それを中性脂肪の形で蓄積し、飢餓、絶食の際には脂肪酸などに分解しエネルギー源として利用する仕組みを獲得してきた。しかし皮肉なことに、飽食が常態化した先進社会において、そのエネルギー貯蔵の仕組みは肥満やメタボリックシンドロームの原因となっている。

動物が過剰に摂取したエネルギーは中性脂肪として脂肪細胞内の脂肪滴 (lipid droplet) と呼ばれる器官に蓄積される。脂肪滴はトリアシルグリセロール (TG) やコレステロールエステル (CE) といった中性脂肪がリン脂質一重層に覆われた構造を持ち、真核細胞に普遍的に存在している。従来、脂肪滴は単に細胞内で過剰になった脂質がエステル化されて蓄

積した機能的に不活性な構造体とされ、自身が脂質代謝に積極的に関わっているとは考えられてこなかった。しかし、1990年代に Perilipin というタンパク質が発見され、それが脂肪滴の脂質一重層に存在することが明らかになったことから、脂肪滴に対する認識が変化し始める。最近の研究から、脂肪滴の表面には多くのタンパク質が存在し、体内の脂質ホメオスタシスに重要な役割を果たしていることがわかってきた。脂肪滴はミトコンドリアやゴルジ体と同列の、ひとつの細胞小器官 (オルガネラ) なのである。(図1)。

脂肪滴は全身の細胞に存在しているが、その形態や機能には多様性がある¹⁾。脂肪細胞を構成する成熟脂肪細胞の内部は1個の巨大な脂肪滴でほとんど埋め尽くされており、その過剰蓄積は肥満へとつながる。成熟脂肪細胞の脂肪滴が巨大 (~200 μ m) であるのに対し、心筋や骨格筋の脂肪滴は極めて小型 (~1 μ m)

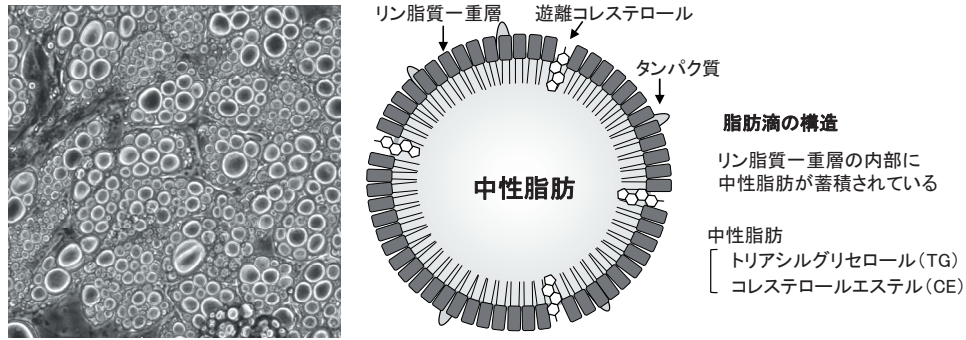


図1 (左) 成熟脂肪細胞へ分化したヒト間葉系幹細胞. 細胞中の大部分を脂肪滴が占める. (右) 脂肪滴の構造. リン脂質一重層やコレステロールの内部に中性脂肪が蓄積されている. 中性脂肪とは主に TG と CE を指す.

である. しかし, 心臓や筋肉にとって脂肪酸は主要なエネルギー源であり, これらの脂肪滴では脂質の代謝回転 (ターンオーバー) が非常に速いという特徴がある. また, 肝細胞では主に TG が, マクロファージでは主に CE が蓄積されているが, これらの細胞において, 脂肪滴の大きさは周辺の脂質濃度に応じて敏感に変化することが知られている. 肝臓での脂肪滴の肥大は脂肪肝となり, マクロファージでの脂肪蓄積は動脈硬化症の要因となる. 精巣などに存在するステロイド産生細胞も脂肪滴が発達した細胞であり, 小型の脂肪滴が多数集合した形態を有し, この中にステロイドホルモンの原料となる CE を貯蔵している.

このように, 脂肪滴は様々な機能を持ち, 生体の脂質ホメオスタシスに寄与しているが, 脂肪滴表面における脂質代謝の分子機構については未だ不明な点が多い. 本稿では脂肪滴とその局在タンパク質の機能について, 代表的な脂肪滴タンパク質である PAT ファミリーとその関連タンパク質について, 我々の研究成果を交えて解説する.

2. PAT ファミリー

哺乳動物細胞において, PAT ドメインというアミノ酸配列に相同性を有する一群のタンパク質が存在しており, PAT ファミリーと総称されている. PAT ファミリーとしては Perilipin, ADRP, TIP47, S3-12, MLDP が報告されており, PAT とは初期に発見された前記3つの頭文字に由来している²⁾ (図2). 特にN末端側の PAT-1領域と11-mer repeat領域で高いホモ

ロジーがあり, いずれも脂肪滴表面に局在するが, 組織分布には特異性がある. Perilipin は最初に見出された PAT タンパク質であり, 脂肪細胞とステロイド産生細胞に選択的に発現している. C末端の異なる Perilipin A, Perilipin B のバリエーションが存在するが, 脂肪細胞では Perilipin A が優位 (85%) に存在している^{3,4)}. S3-12 も脂肪細胞に存在しているが, Perilipin が成熟脂肪細胞に特有の大きな脂肪滴に局在しているのに対し, S3-12 は別の比較的小型の脂肪滴に存在している⁵⁾. ADRP と TIP47 はユビキタスに存在しているが, ADRP は肝臓で比較的发現が高い. MLDP は我々が最初に機能解析を行い, 命名したタンパク質であり, 詳細は後述するが心臓に高発現している.

PAT ファミリーの発見は複数の研究者によってほぼ同時期になされたため, 同一のタンパク質に複数の名が存在するものがある. ADRP はアディポフィリン, MLDP は OXPAT/LSDP5 と呼ばれる. そのため2009年に名称の統一が図られ, PLIN1~5 とされた. 対応は PLIN1 (Perilipin), PLIN2 (ADRP), PLIN3 (TIP47), PLIN4 (S3-12), PLIN5 (MLDP) である⁶⁾.

我々は以前より脂肪滴をひとつの膜ドメインとしてとらえ, その局在タンパク質の探索を進めてきた. 結果としてこれまでに PAT ファミリーに関連する2つの機能タンパク質を見出した. ひとつは Perilipin と結合する CGI-58 であり, もうひとつは新規 PAT ファミリーとしての MLDP である.

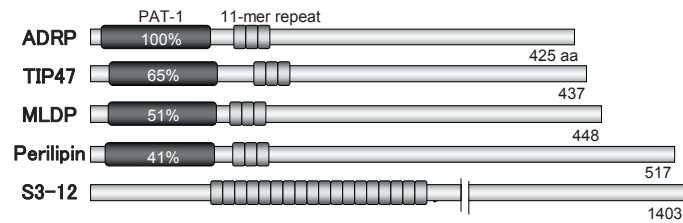


図2 脂肪滴に局在するPATファミリータンパク質。N末端側のPAT-1領域(%はADRPとの相同性比較)と11-mer repeat領域において相同性が高い。図には示していないがC末端側も相同性があり、PAT-2領域とも呼ばれる。S3-12はPAT-1領域がなく、11-mer repeatが長い。マウスでのアミノ酸(aa)数を示す。

3. CGI-58と Perilipin による脂肪分解(リポリシス)のメカニズム

3.1 脂肪細胞における脂肪動員の機構

過剰に摂取したエネルギーは脂肪細胞の脂肪滴にTGとして蓄積されており、必要時にはTGは脂肪酸(FA)とグリセロールに分解され、血中へ放出(脂肪動員)される。脂肪分解(リポリシス)によるTGの代謝調節は、体内の脂質ホメオスタシスに重要な役割を果たしている。脂肪細胞におけるTGの過剰な蓄積は肥満につながり、またリポリシスによる血中FAの増加は2型糖尿病の要因となる。それでは、脂肪滴に蓄積したTGはどのようにして分解されるのであろうか。これは古くから研究されている課題であり、脂肪細胞がカテコールアミン刺激を受けると、大規模な脂肪動員が起こることが知られていた。そして1970年頃に、ホルモン感受性リパーゼ(HSL)という酵素を中心とした脂肪動員のメカニズム、いわゆるHSLのリン酸化説が提示されていた。カテコールアミン刺激を受け脂肪細胞内のcAMP濃度が上昇すると、HSLがリン酸化され、自身のリパーゼ活性が高まることがin vitroの実験で示されたことから、HSLがTGを脂肪酸とグリセロールにまで分解し、血中への脂肪動員を規定する律速酵素であると考えられた。以降長い間、これこそが脂肪動員の機構であると考えられてきた。しかしこの説には、カテコールアミンが生体の脂肪組織(in vivo)で強力なリポリシスの活性化(~100倍)を起こすのに対し、in vitroでのリン酸化によるHSLの活性化の程度が非常に低い(~2倍)という矛盾があった。脂肪動員の際の大規模なリポリシス活性を説明するにはこれだけでは不十分なのである。

1990年代になり Perilipin の発見をきっかけとして、

リポリシスの解析が急速に展開することになる。Perilipinは脂肪細胞の脂肪滴タンパク質としては最も多量に含まれ、カテコールアミンによる刺激に应答して、最も強くリン酸化されるタンパク質である⁷⁾。Perilipinのノックアウトマウスは白色脂肪組織の重量低下により痩せており、またカテコールアミンによる刺激に应答しないことから、Perilipinが脂肪動員に中心的な役割を果たすことがわかってきた⁸⁾。Perilipinを加えた脂肪分解のスキームを図3に示す。ホルモンが脂肪細胞表面のβアドレナリン作動性受容体(特にβ₃型)に結合すると、3量体型Gタンパク質、アデニレートシクラーゼを介して細胞内のcAMP濃度が上昇し、Aキナーゼ(PKA)が活性化する。活性化したPKAにより、脂肪滴のPerilipinや細胞質のHSLがリン酸化される。リン酸化されたHSLは細胞質から脂肪滴表面へと移行し、内部のTGを基質とした脂肪分解を開始すると考えられている(図3)^{10, 11)}。通常(刺激を受けていない)の脂肪細胞では、Perilipinは脂肪滴へリパーゼが結合するのを防ぐバリアーとしてはたらし、脂肪分解を阻害している。一方、PKAによりリン酸化を受けたPerilipinは一転してHSLの脂肪滴表面への移行を促進し、脂肪分解を昂進する。このように、Perilipinのリン酸化は脂質の貯蔵と分解の方向性を決めるスイッチの役割を果たしている。脂肪組織が過剰なエネルギーを貯蔵し、必要時にすばやく放出するための鍵因子である。

Perilipinに比べ、HSLの遺伝子欠損マウスは劇的な表現型を示さなかった^{12, 13)}。HSLを欠損した脂肪細胞でも、脂肪分解活性は十分に残っており、ホルモン刺激に対する応答能も残っていた。この結果は、HSL以外にも細胞内にTGを分解する因子が存在す

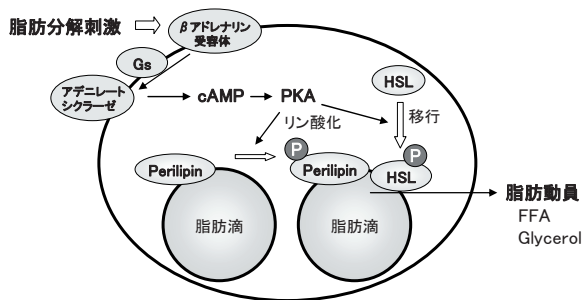


図3 脂肪細胞における脂肪分解機構. カテコールアミン刺激を受けると, G タンパク質, アデニレートシクラーゼ, cAMP を介して PKA が活性化される. PKA は Perilipin と HSL をリン酸化し, リン酸化された HSL は細胞質から脂肪滴表面へ移行する. ただし, このモデルでは脂肪分解の機構は十分に説明できない. さらに ATGL と CGI-58 が必要であることがわかっている.

ることを示唆している. Perilipin 自身は酵素活性を有しておらず, その役割を果たすことはできない. 最近, その機能を担う2つのタンパク質が明らかになった. CGI-58と ATGL である.

3.2 CGI-58 : Perilipin と結合する脂肪滴タンパク質

前述のように Perilipin と HSL だけではリポリシスのメカニズムは説明することができない. そこで我々は Perilipin が単独ではなく, 他の何らかのタンパク質と協調して働くのではないかと予想し, Yeast two-hybrid 法により Perilipin と相互作用する因子の探索を行った. その結果として, CGI-58 (ABHD5 : α/β hydrolase domain containing protein 5ともよばれる) という38kDa のタンパク質を同定した¹⁴⁾.

CGI-58は機能未知のタンパク質であったが, ヒト CGI-58遺伝子が中性脂肪蓄積症であるチャナリンドーフマン症候群 (CDS) の原因遺伝子として報告されていた¹⁵⁾. CDS は魚鱗癬, 脂肪肝などを主徴とする先天性疾患であり, 脂肪滴の蓄積が全身の細胞で認められる. これは CGI-58が in vivo で脂質代謝に関与していることを示唆している. CGI-58は全身の組織に発現しているが, 脂肪細胞に比較的多い. 脂肪細胞のモデルである3T3-L1細胞を用いて検討したところ, CGI-58は脂肪細胞分化の初期に発現が上昇しており, 成熟脂肪細胞で CGI-58は Perilipin と脂肪滴表面に共局在していた¹⁴⁾ (図4A). 一方, Perilipinがホルモン刺激によるリン酸化を受けると, CGI-58との結合が解除され, CGI-58は細胞質全体に局在が広がっていく. CGI-58の配列はマウスからヒトまでよく保存されており, リパーゼ様のモチーフ

を有している. ただし活性中心に当たる Ser が Asn となっており, in vitro で酵素活性を測定したところ, CGI-58にリパーゼ活性は認められなかった¹⁶⁾.

次に CGI-58と疾患との関連について検討を行った. CDS では CGI-58遺伝子の欠損, 点変異やスプライス変異など, 多種の変異体が報告されている^{15, 17)}. 我々は2例の CDS 患者に見られる点変異を有する CGI-58は Perilipin との結合能力が減弱しており, 脂肪滴に局在できないことを見出した (図4B). 点変異による CGI-58のミスターゲティングが CDS 発症の要因となっていると考えられる¹⁴⁾. また, CGI-58の生理的機能を RNAi 法 (ノックダウン) により検討した. マウス肝癌由来 Hepa1細胞や未分化の3T3-L1細胞において, CGI-58をノックダウンすると, 通常の細胞に比べ明らかに脂肪滴が肥大化することが確認された. さらに, 3T3-L1脂肪細胞における脂肪分解活性を, 細胞外に遊離されるグリセロール量を指標として測定すると, CGI-58のノックダウンにより脂肪分解活性は有意に低下していた¹⁶⁾. これらの結果は, CGI-58は脂肪分解を促進する因子 (lipolytic factor) であることを示唆している. CGI-58はリパーゼ活性をもたないのに, どのようにして脂肪分解を促進しているのだろうか. その機構は, ATGL の発見により解かれることになる.

3.3 ATGL : 脂肪細胞における TG 分解の律速酵素

2004年に, 脂肪細胞で TG 分解を担う HSL 以外のリパーゼとして ATGL (adipose triglyceride lipase:desnutrin, iPLA₂ともよばれる) が報告された¹⁸⁻²⁰⁾. ATGL は全身の組織に発現しているが, 脂

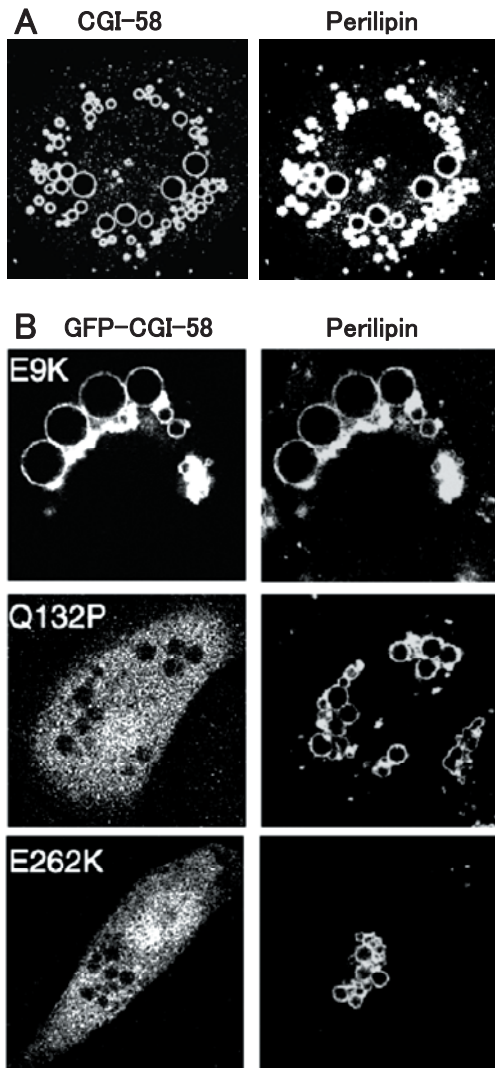


図4 (A) 3T3-L1 脂肪細胞において CGI-58 は Perilipin と脂肪滴表面で共局在する。(B) CDS 患者に見られる点変異 (Q132P および E262K) を持つ GFP-CGI-58 は, Perilipin との結合能力が低下し, 脂肪滴に局在できない。

肪組織に比較的多い。HeLa 細胞において ATGL の発現を抑制すると、脂肪滴の顕著な肥大が観察された²¹⁾。HSL ノックアウトマウスで残存する脂肪分解活性は主として ATGL によるものだと考えられる。Zechner らは ATGL のノックアウトマウスを解析し、ATGL 欠損により脂肪組織重量が増加すること、また脂肪分解刺激時の TG 分解活性が80%以上阻害されることを見出した²²⁾。このマウスでは脂肪酸の利用低下に伴い、エネルギー源としてグルコースの利用が昂進されていた。この *in vivo* での解析結果は、HSL ではなく ATGL が TG 分解の律速酵素であることを示唆している。また、HSL は TG が分解されて生成するジアシルグリセロール (DG) を主な基質と

していることが示された²³⁾。

我々は CGI-58がどのようにして脂肪分解を促進しているのか検討を進め、結果として CGI-58を ATGL と混合すると、ATGL のリパーゼ活性が増加することを *in vitro* の実験で見出した¹⁶⁾。よって、CGI-58はリパーゼ活性をもたないが、ATGL の共役因子 (コファクター) として機能し、脂肪分解を昂進すると考えられる (図5)。また、Lass らにより CGI-58が ATGL と直接相互作用することや、CDS で見られる点変異をもつ CGI-58は ATGL を活性化する能力が欠損していることが示された²⁴⁾。CGI-58 が ATGL を活性化することが、脂肪滴における脂肪分解の始動の鍵になると考えられる。

以上をまとめると、通常 (刺激を受けていない) の脂肪細胞では、Perilipin は脂肪滴表面で CGI-58 と結合している。一方、細胞がカテコールアミン刺激を受けると、Perilipin は PKA によりリン酸化され、CGI-58 との結合が解除される。その後 CGI-58 は ATGL と相互作用し、ATGL のリパーゼ活性を上昇させると考えられる。ATGL と CGI-58 の複合体により生成された DG は HSL によってモノアシルグリセロール (MG) に分解され、さらにモノグリセリドリパーゼ (MGL) によって脂肪酸とグリセロールにまで分解され、血中に放出される (図5)。このように、脂肪滴表面でのリポリシスは、Perilipin, ATGL, CGI-58, HSL が協調して働くことで達成されており、これら Lipolytic factors の脂肪滴表面への結合と解離が活性調節に重要である。

4. カテコールアミン刺激による脂肪滴の構造変化

カテコールアミンによる脂肪分解刺激時には、脂肪細胞において劇的な脂肪滴の形態変化が観察される。通常の成熟脂肪細胞では、主に大きな脂肪滴だけが観察される。しかし、細胞がカテコールアミン刺激を受けると、極微小の脂肪滴 (1 μ m 以下) が細胞質全体に多数分散するのが確認される^{16, 25)} (図6)。我々は、この微小脂肪滴の形成過程や役割について、最近開発された脂肪滴可視化技術である、CARS 顕微鏡を利用して検討を行った。CARS (Coherent Anti-stokes Raman Scattering) 顕微鏡には、C-H 伸縮振動に由来する信号成分を捕らえ、画像を構成す

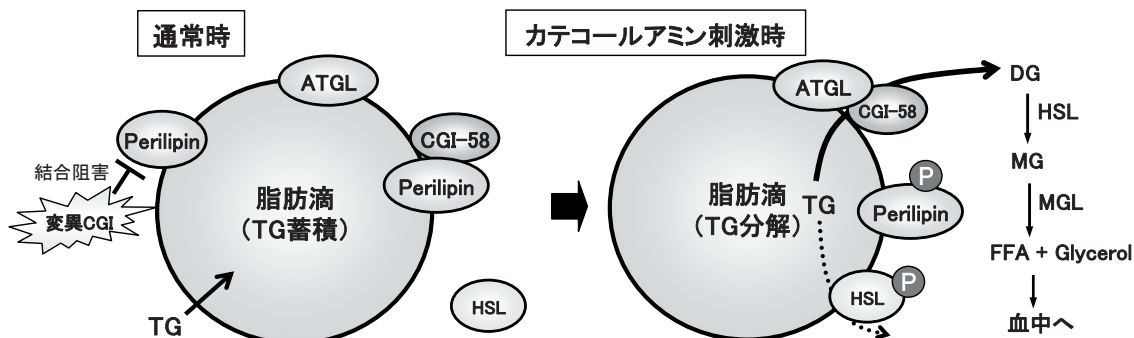


図5 CGI-58 と ATGL を加えた脂肪分解のメカニズム. ATGL は CGI-58 と協調し, TG 分解の律速酵素として機能する. HSL は主に DG の分解に寄与していると考えられる.

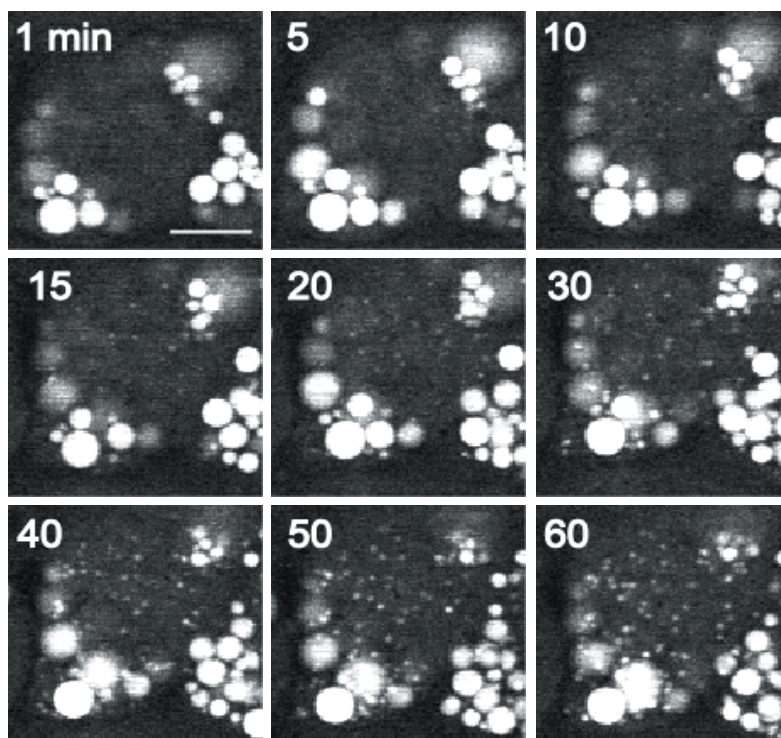


図6 3T3-L1 細胞の脂肪滴を CARS 顕微鏡で経時観察. 数字は脂肪分解刺激後の時間 (分) を示す. 微小脂肪滴が細胞質中に出現するのがわかる.

る機能がある. C-H bond は脂肪酸に多く存在しており, 細胞中で脂肪酸が高濃度に存在する部位は脂肪滴であるため, CARS 顕微鏡は脂肪滴を特異的に検出することができる²⁶⁾. GFP などの人工的な蛍光標識を使わずに, 生細胞の脂肪滴を観察できるという利点がある.

我々は, CARS 顕微鏡を利用してホルモン刺激時の脂肪滴の変化を経時的に観察した (図6). 3T3-L1 脂肪細胞に脂肪分解刺激を与えると, 約10分で, 微小脂肪滴が細胞内に出現し始めた. 興味深いことに, 微小脂肪滴は細胞の特定の場所から出現しているの

ではなく, 細胞質全体から湧き出るように現れていた. この結果は, 微小脂肪滴が, 大きな脂肪滴からちぎれて作られているのではなく, 脂肪滴以外のオルガネラ (小胞体) から形成されていることを示唆している¹⁶⁾ (図7).

脂肪滴の構造変化には CGI-58は関与していないが¹⁶⁾, Perilipin の特定アミノ酸のリン酸化が重要であることが示唆された²⁷⁾. 微小脂肪滴の生理的役割については不明な点が多いが, 現時点で我々はリポリシスの分子機構について次のような仮説を立てている (図7). 基底状態の Perilipin は CGI-58と結合し,

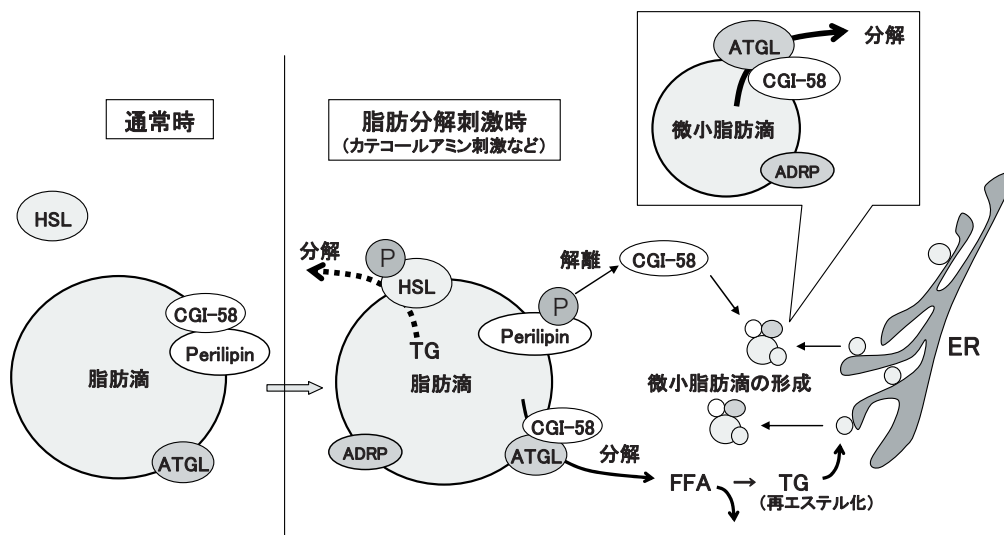


図7 予想される脂肪分解と脂肪滴の形態変化の機構。通常時 CGI-58 は Perilipin と結合している。刺激時には微小脂肪滴が形成され、脂肪分解の主要な場となる。CGI-58 は TG 分解の律速酵素である ATGL のコファクターとして機能する。

脂肪分解を抑制しているが、刺激を受けリン酸化された Perilipin は CGI-58 を遊離する。このとき脂肪滴の構造が変化し無数の微小脂肪滴が形成され、CGI-58 はここで ATGL と結合し脂肪分解を促進していると考えられる。微小脂肪滴はおそらく小胞体から形成され、何らかのしくみで、大きな脂肪滴から連続的に脂肪を移している。微小脂肪滴は含有脂質に対する表面積の割合が大きくなるため、細胞全体として効率的に脂肪分解が進行するのであろう。微小脂肪滴は強力なリポリシス反応の達成に必須の器官であり、この性状解析が今後の重要な研究課題である。

5. MLDP: 心臓に高発現する PAT タンパク質

5.1 PAT ファミリーメンバーとしての MLDP

脂肪滴に存在する PAT ファミリータンパク質としては、Perilipin, ADRP, TIP47, S3-12の4種が先に報告されていた。我々は他にも PAT ファミリーが存在するのか探索を行い、結果としてマウス cDNA データベースより5つ目のメンバーを見出した²⁸⁾。この配列は全長を通じて Perilipin などと相同性を有しているが、特に PAT-1領域と11-mer repeat で高い相同性がある (図2)。マウスだけではなくラットやヒトでもホモログが見出され、哺乳動物で保存されている。この機能未知のタンパク質の組織分布を検討

したところ、興味深いことに、小型の脂肪滴を持つ心臓に高発現していることがわかった (図8A)。また、シヨ糖密度勾配遠心法や、GFP 融合タンパク質の培養細胞での発現実験により、このタンパク質が細胞内の脂肪滴表面に存在していることが確認された (図8B)。我々はこのタンパク質を心臓に高発現する新規 PAT ファミリーという意味で、MLDP (myocardial lipid droplet protein) と名付け、さらに解析を進めた。

5.2 MLDP の発現と機能

PAT ファミリーの特徴として、その遺伝子発現が核内レセプターの一つ PPAR (ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体) によって調節されていることが挙げられる。PPAR は生体の脂質ホメオスタシスに重要な役割を果たす転写因子であり、 α 、 γ および δ の3つのサブタイプが存在する。PPAR α は肝臓に高発現し、脂肪酸の β 酸化に関わる酵素群の遺伝子発現を調節している。PPAR γ は脂肪組織に高発現し、前駆脂肪細胞から脂肪細胞への分化を引き起こす。PPAR δ はユビキタスに発現し、脂質代謝を調節している。これまでに PPAR γ は Perilipin と S3-12の発現を制御しており、PPAR α と δ は ADRP の発現を制御することが分かっていた (図9)。我々は MLDP も PPAR により発現が調節されているのではないかと

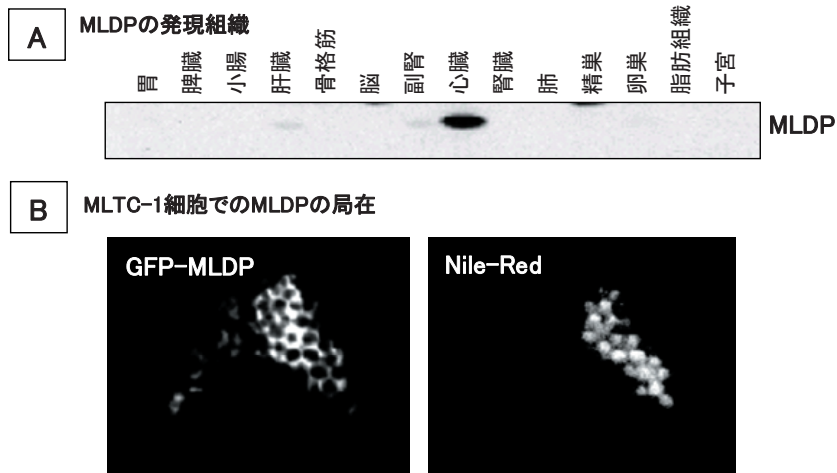


図8 (A) MLDPの組織分布. マウス組織間のMLDP量をウエスタンブロットにより比較した. 心臓に高発現している. (B) ステロイド産生細胞(MLTC-1)におけるGFP-MLDPの局在. GFP-MLDP(左)はNile-Redで染色した脂肪滴(右)を囲むように局在する.

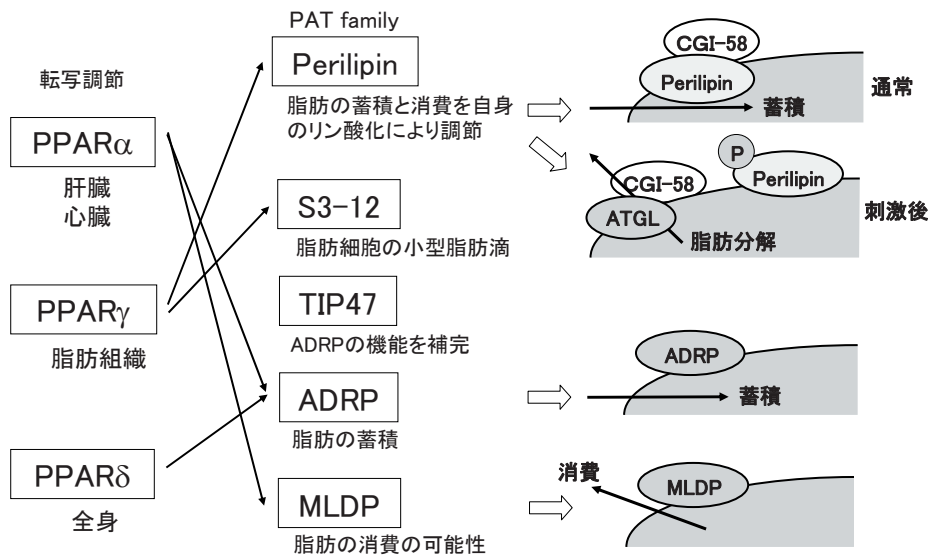


図9 PATファミリーの脂肪滴での役割. 組織特異的に存在するPATタンパク質が, 脂肪の蓄積と分解における, 脂肪滴の特徴を規定している.

考え, 検討を行った. MLTC-1細胞を PPAR のリガンドで処理すると, PPAR α リガンドである Wy14,643によって, 選択的に MLDP の発現が誘導された. さらに, 野生型マウスに PPAR α リガンドを含む食餌を投与すると MLDP の発現は顕著に誘導されたが, PPAR α のノックアウトマウスにおいては MLDP の発現が基本的に極めて低く, かつ PPAR α リガンドによる誘導も認められなかった. また, 心臓以外では, 通常 MLDP タンパク質の発現はほとんど見られないが, PPAR α のリガンドを投与した野生

型マウスでは肝臓や骨格筋でも発現が確認された. よって MLDP は PPAR α の活性化によって発現が促進されると考えられる. 心臓の脂肪滴には MLDP 以外に ADRP が存在しているが, 興味深いことに, PPAR α リガンドにより心臓の MLDP の発現が増加すると, ADRP の発現は逆に減少していた. この結果は, MLDP と ADRP は心臓で異なる機能を持ち, 脂肪酸酸化が昂進される条件では, MLDP の方がより必要とされることを示唆している²⁸⁾.

生理的条件下で MLDP はどのように発現されるの

であろうか。一般に飢餓、絶食時にはエネルギーを脂肪酸に依存する傾向が強まることが知られており、この時心臓や肝臓の脂肪滴は肥大化する²⁹⁾。そこで絶食時の MLDP の発現レベルを検討したところ、心臓と肝臓において発現量が増加していた。特に肝臓では通常ほとんど MLDP は発現していないので、絶食によりその量は劇的に増加している²⁸⁾。よって、MLDP は絶食時の応答反応に関与していることが示唆される。

心臓は、消費エネルギーの多くを脂肪酸に依存している臓器である。しかし、脂肪滴のサイズは極めて小さく、その代わりに脂質のターンオーバーが非常に速いという特徴がある。MLDP は心臓のような脂肪酸酸化の活発な組織、またはそれが活性化された条件下の細胞において脂肪滴に優先的に局在し、脂肪の消費を促進する役割を果たしていると予想される。この証明のためには、MLDP 遺伝子のノックアウトマウスの解析が不可欠であり、現在その解析を進めているところである。

6. 脂肪滴研究の展開

従来、機能的に不活性と考えられていた脂肪滴が、PAT ファミリーの発見をきっかけとして、脂質代謝に重要な役割を果たすオルガネラと認識されるようになった。PAT ファミリーの配列は類似しているが、その脂肪滴での役割は多彩である。Perilipin は脂肪組織において脂肪の蓄積と分解を自身のリン酸化によって調節しており、MLDP は心臓で脂肪の消費に寄与しているようである。また、本稿では触れなかったが、ADRP と TIP47 は全身の細胞で脂肪を蓄積する働きをもち、S3-12 は脂肪細胞分化の初期に必要であると報告されている^{30, 31)}。このような背景から、我々は体内の脂質ホメオスタシスにおける脂肪滴の役割は、組織選択的に発現する PAT ファミリーが規定しているという概念を提案している(図9)。また、脂肪滴には PAT ファミリー以外にも多くのタンパク質が存在している。膜輸送の主要因子である Rab ファミリー、最近明らかになった CIDE ファミリーなどが脂肪滴に見出されている。さらに新たな脂肪滴タンパク質の探索を進めていくことが、脂肪滴の生理機能の解明に必要である。

最近になって、脂肪滴タンパク質は単に脂肪滴を構成しているだけでなく、肥満、動脈硬化症、糖尿病、魚鱗癬など様々な疾患と関連していることがわかってきた。肥満者は非肥満者に比べ皮下脂肪での脂肪分解速度が高く、脂肪細胞での Perilipin 含量が低いという報告があり、Perilipin は肥満になりやすい体質を決める遺伝子であることが示された^{4, 32)}。ヒト Perilipin (PLIN1) 遺伝子座のいくつかの多型が、BMI (body mass index) や肥満と関連していることが示唆されている。また、CGI-58 の欠損は魚鱗癬を、ATGL の欠損はミオパチーを引き起こす³³⁾。今後は脂肪滴タンパク質の細胞生物学的研究と同時に、疾患との関連を解明していくことが必要であろう。

メタボリックシンドロームへの社会的関心から、脂肪滴研究はこの数年で飛躍的に進んだ。しかし、脂肪滴は未だ謎の多いオルガネラであり、解明すべき点が多く残されている。さらなる脂肪滴研究の発展が、脂質代謝に関連する様々な疾患の治療や予防法の開発のための研究基盤になると期待される。

謝 辞

本文中の研究の多くは、筆者が兵庫県立大学大学院生命理学研究科在職中に行ったものであり、細胞機能学分野 大隅隆教授には多大なご指導とご助言を賜りました。心よりお礼申し上げます。昭和大学薬学部 板部洋之教授には以前より本研究についてご理解をいただき、ご助言を賜りました。感謝申し上げます。また、これまで協力して研究を進めてきた大学院生と学部生の皆様、ご助言を頂いた先生方に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Murphy, D. J.: The biogenesis and functions of lipid bodies in animals, plants and microorganisms, *Prog Lipid Res*, 40, 325-438 (2001)
- 2) Miura, S., Gan, J. W., Brzostowski, J., Parisi, M. J., Schultz, C. J., Londos, C., Oliver, B. and Kimmel, A. R.: Functional conservation for lipid storage droplet association among Perilipin, ADRP, and TIP47 (PAT)-related proteins in mammals, *Drosophila*, and *Dictyostelium*, *J Biol Chem*, 277,

- 32253-32257 (2002)
- 3) Greenberg, A. S., Egan, J. J., Wek, S. A., Moos, M. C., Jr., Londos, C. and Kimmel, A. R.: Isolation of cDNAs for perilipins A and B: sequence and expression of lipid droplet-associated proteins of adipocytes, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 90, 12035-12039 (1993)
 - 4) Tai, E. S. and Ordovas, J. M.: The role of perilipin in human obesity and insulin resistance, *Curr Opin Lipidol*, 18, 152-156 (2007)
 - 5) Wolins, N. E., Skinner, J. R., Schoenfish, M. J., Tzekov, A., Bensch, K. G. and Bickel, P. E.: Adipocyte protein S3-12 coats nascent lipid droplets, *J Biol Chem*, 278, 37713-37721 (2003)
 - 6) Kimmel, A. R., Brasaemle, D. L., McAndrews-Hill, M., Sztalryd, C. and Londos, C.: Adoption of PERILIPIN as a unifying nomenclature for the mammalian PAT-family of intracellular, lipid storage droplet proteins, *J Lipid Res*, (2009)
 - 7) Greenberg, A. S., Egan, J. J., Wek, S. A., Garty, N. B., Blanchette-Mackie, E. J. and Londos, C.: Perilipin, a major hormonally regulated adipocyte-specific phosphoprotein associated with the periphery of lipid storage droplets, *J Biol Chem*, 266, 11341-11346 (1991)
 - 8) Martinez-Botas, J., Anderson, J. B., Tessier, D., Lapillonne, A., Chang, B. H., Quast, M. J., Gorenstein, D., Chen, K. H. and Chan, L.: Absence of perilipin results in leanness and reverses obesity in *Lepr(db/db)* mice, *Nat Genet*, 26, 474-479 (2000)
 - 9) Tansey, J. T., Sztalryd, C., Gruia-Gray, J., Roush, D. L., Zee, J. V., Gavriloova, O., Reitman, M. L., Deng, C. X., Li, C., Kimmel, A. R. and Londos, C.: Perilipin ablation results in a lean mouse with aberrant adipocyte lipolysis, enhanced leptin production, and resistance to diet-induced obesity, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98, 6494-6499 (2001)
 - 10) Tansey, J. T., Sztalryd, C., Hlavin, E. M., Kimmel, A. R. and Londos, C.: The central role of perilipin in lipid metabolism and adipocyte lipolysis, *IUBMB Life*, 56, 379-385 (2004)
 - 11) Sztalryd, C., Xu, G., Dorward, H., Tansey, J. T., Contreras, J. A., Kimmel, A. R. and Londos, C.: Perilipin A is essential for the translocation of hormone-sensitive lipase during lipolytic activation, *J Cell Biol*, 161, 1093-1103 (2003)
 - 12) Osuga, J., Ishibashi, S., Oka, T., Yagyu, H., Tozawa, R., Fujimoto, A., Shionoiri, F., Yahagi, N., Kraemer, F. B., Tsutsumi, O. and Yamada, N.: Targeted disruption of hormone-sensitive lipase results in male sterility and adipocyte hypertrophy, but not in obesity, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97, 787-792 (2000)
 - 13) Haemmerle, G., Zimmermann, R., Strauss, J. G., Kratky, D., Riederer, M., Knipping, G. and Zechner, R.: Hormone-sensitive lipase deficiency in mice changes the plasma lipid profile by affecting the tissue-specific expression pattern of lipoprotein lipase in adipose tissue and muscle, *J Biol Chem*, 277, 12946-12952 (2002)
 - 14) Yamaguchi, T., Omatsu, N., Matsushita, S. and Osumi, T.: CGI-58 interacts with perilipin and is localized to lipid droplets. Possible involvement of CGI-58 mislocalization in Chanarin-Dorfman syndrome, *J Biol Chem*, 279, 30490-30497 (2004)
 - 15) Lefevre, C., Jobard, F., Caux, F., Bouadjar, B., Karaduman, A., Heilig, R., Lakhdar, H., Wollenberg, A., Verret, J. L., Weissenbach, J., Ozguc, M., Lathrop, M., Prud'homme, J. F. and Fischer, J.: Mutations in CGI-58, the gene encoding a new protein of the esterase/lipase/thioesterase subfamily, in Chanarin-Dorfman syndrome, *Am J Hum Genet*, 69, 1002-1012 (2001)
 - 16) Yamaguchi, T., Omatsu, N., Morimoto, E., Nakashima, H., Ueno, K., Tanaka, T., Satouchi, K., Hirose, F. and Osumi, T.: CGI-58 facilitates lipolysis on lipid droplets but is not involved in the vesiculation of lipid droplets caused by hormonal stimulation, *J Lipid Res*, 48, 1078-1089 (2007)
 - 17) Yamaguchi, T. and Osumi, T.: Chanarin-Dorfman

- syndrome: deficiency in CGI-58, a lipid droplet-bound coactivator of lipase, *Biochim Biophys Acta*, 1791, 519-523 (2009)
- 18) Zimmermann, R., Strauss, J. G., Haemmerle, G., Schoiswohl, G., Birner-Gruenberger, R., Riederer, M., Lass, A., Neuberger, G., Eisenhaber, F., Hermetter, A. and Zechner, R.: Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase, *Science*, 306, 1383-1386 (2004)
- 19) Jenkins, C. M., Mancuso, D. J., Yan, W., Sims, H. F., Gibson, B. and Gross, R. W.: Identification, cloning, expression, and purification of three novel human calcium-independent phospholipase A2 family members possessing triacylglycerol lipase and acylglycerol transacylase activities, *J Biol Chem*, 279, 48968-48975 (2004)
- 20) Villena, J. A., Roy, S., Sarkadi-Nagy, E., Kim, K. H. and Sul, H. S.: Desnutrin, an adipocyte gene encoding a novel patatin domain-containing protein, is induced by fasting and glucocorticoids: ectopic expression of desnutrin increases triglyceride hydrolysis, *J Biol Chem*, 279, 47066-47075 (2004)
- 21) Smirnova, E., Goldberg, E. B., Makarova, K. S., Lin, L., Brown, W. J. and Jackson, C. L.: ATGL has a key role in lipid droplet/adiposome degradation in mammalian cells, *EMBO Rep*, 7, 106-113 (2006)
- 22) Haemmerle, G., Lass, A., Zimmermann, R., Gorkiewicz, G., Meyer, C., Rozman, J., Heldmaier, G., Maier, R., Theussl, C., Eder, S., Kratky, D., Wagner, E. F., Klingenspor, M., Hoefler, G. and Zechner, R.: Defective lipolysis and altered energy metabolism in mice lacking adipose triglyceride lipase, *Science*, 312, 734-737 (2006)
- 23) Haemmerle, G., Zimmermann, R., Hayn, M., Theussl, C., Waeg, G., Wagner, E., Sattler, W., Magin, T. M., Wagner, E. F. and Zechner, R.: Hormone-sensitive lipase deficiency in mice causes diglyceride accumulation in adipose tissue, muscle, and testis, *J Biol Chem*, 277, 4806-4815 (2002)
- 24) Lass, A., Zimmermann, R., Haemmerle, G., Riederer, M., Schoiswohl, G., Schweiger, M., Kienesberger, P., Strauss, J. G., Gorkiewicz, G. and Zechner, R.: Adipose triglyceride lipase-mediated lipolysis of cellular fat stores is activated by CGI-58 and defective in Chanarin-Dorfman Syndrome, *Cell Metab*, 3, 309-319 (2006)
- 25) Brasaemle, D. L., Dolios, G., Shapiro, L. and Wang, R.: Proteomic analysis of proteins associated with lipid droplets of basal and lipolytically stimulated 3T3-L1 adipocytes, *J Biol Chem*, 279, 46835-46842 (2004)
- 26) Nan, X., Cheng, J. X. and Xie, X. S.: Vibrational imaging of lipid droplets in live fibroblast cells with coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy, *J Lipid Res*, 44, 2202-2208 (2003)
- 27) Marcinkiewicz, A., Gauthier, D., Garcia, A. and Brasaemle, D. L.: The phosphorylation of serine 492 of perilipin a directs lipid droplet fragmentation and dispersion, *J Biol Chem*, 281, 11901-11909 (2006)
- 28) Yamaguchi, T., Matsushita, S., Motojima, K., Hirose, F. and Osumi, T.: MLDP, a novel PAT family protein localized to lipid droplets and enriched in the heart, is regulated by peroxisome proliferator-activated receptor alpha, *J Biol Chem*, 281, 14232-14240 (2006)
- 29) Suzuki, J., Shen, W. J., Nelson, B. D., Selwood, S. P., Murphy, G. M., Jr., Kanehara, H., Takahashi, S., Oida, K., Miyamori, I. and Kraemer, F. B.: Cardiac gene expression profile and lipid accumulation in response to starvation, *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 283, E94-E102 (2002)
- 30) Sztalryd, C., Bell, M., Lu, X., Mertz, P., Hickenbottom, S., Chang, B. H., Chan, L., Kimmel, A. R. and Londos, C.: Functional compensation for adipose differentiation-related protein (ADFP) by TIP47 in an adfp null embryonic cell line, *J Biol Chem*, 281, 34341-34348 (2006)
- 31) Wolins, N. E., Quaynor, B. K., Skinner, J. R.,

- Schoenfish, M. J., Tzekov, A. and Bickel, P. E.: S3-12, Adipophilin, and TIP47 package lipid in adipocytes, *J Biol Chem*, 280, 19146–19155 (2005)
- 32) Mottagui-Tabar, S., Ryden, M., Lofgren, P., Faulds, G., Hoffstedt, J., Brookes, A. J., Andersson, I. and Arner, P.: Evidence for an important role of perilipin in the regulation of human adipocyte lipolysis, *Diabetologia*, 46, 789–797 (2003)
- 33) Schweiger, M., Lass, A., Zimmermann, R., Eichmann, T. O. and Zechner, R.: Neutral lipid storage disease: genetic disorders caused by mutations in adipose triglyceride lipase/PNPLA2 or CGI-58/ABHD5, *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 297, E289–296 (2009)

The important role of the surfaces of lipid droplets in lipid metabolism.

Tomohiro Yamaguchi

School of Pharmaceutical Sciences, Showa University

Abstract

Lipid droplets (LDs) are neutral lipid storage facilities surrounded by a phospholipid monolayer that are now recognized to be functional subcellular organelles rather than metabolically inactive lipid depots. In mammalian cells, LDs contain a class of proteins in their surface layers that share a homologous sequence called the PAT family proteins, including perilipin, ADRP, TIP47, S3-12 and MLDP, which are distributed tissue- or cell-type selectively. PAT proteins play an important role in lipid metabolism in LDs, and their diversity is likely to be related to multiple features of LDs in mammalian tissues. This review particularly focuses on two functional proteins associated with PAT proteins. One is MLDP that is a novel PAT protein enriched in the heart, and the other is CGI-58 that is an interaction partner of perilipin and plays a crucial role in triacylglycerol degradation in adipose tissue.

Key words: lipid droplets, lipid metabolism, PAT family, perilipin, CGI-58

Received 4 December 2009; accepted 18 December 2009.

