

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	間葉系幹細胞の機能的性差に基づいた組織線維化調節機構の解明				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	山口 賢彦
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	黒川 洵子
		所属・職名	薬学部・准教授	氏名	坂本 多穂
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	山口 賢彦

講演題目	脂肪組織由来幹細胞に高発現する Nr4a1 の組織線維化に対する役割の解析
------	---------------------------------------

**研究の目的、成果及び今後の展望**

【研究の目的】脂肪組織由来の幹細胞は自己複製能と多分化能をもつ間葉系幹細胞である。肥満の進行過程において、脂肪組織由来幹細胞は脂肪細胞へと分化し脂質の貯蔵やアディポカインの分泌を行う。またコラーゲン等の細胞外マトリクスを豊富に産生する線維芽細胞へ分化することで脂肪組織の線維化に寄与することも報告されている。しかし脂肪組織由来幹細胞の機能調節因子と生活習慣病等の発症リスクの関連についてはほとんど理解されていない。これまでに当研究室では脂肪組織由来幹細胞における遺伝子発現を網羅的に解析し、nuclear receptor 4a1 (Nr4a1) が高発現していることを明らかにしている。そこで本研究では脂肪組織由来幹細胞選択的 Nr4a1 欠損マウスを用いて、*in vivo* において Nr4a1 が脂肪組織由来幹細胞の機能調節を介して生理機能の恒常性維持や生活習慣病等の疾患発症に関連する可能性を検討することを目的とした。

【研究の成果】マウス脂肪組織を採取して間質血管画分を調製し、flow cytometry 法により PDGFR $\alpha$ (+) 細胞を分取した。PDGFR $\alpha$ (+) 細胞を脂肪分化条件下で培養したところ脂肪滴を含む脂肪細胞が観察された。また線維化誘導条件下で培養したところ Col1a1 の発現上昇が認められた。以上より PDGFR $\alpha$  は脂肪組織由来幹細胞の有用なマーカーであることが明らかとなった。次に脂肪組織由来幹細胞における Nr4a1 の役割を *in vivo* で検討するため、PDGFR $\alpha$ -Cre;Nr4a1<sup>flx/flx</sup> (Nr4a1-cKO) マウスを作製した。Nr4a1-cKO マウスに Tamoxifen を 25  $\mu$ g/g/day で 6 日間腹腔内投与し、脂肪組織由来幹細胞 (PDGFR $\alpha$ (+) 細胞) における Nr4a1 の発現量を RT-qPCR 法にて定量した結果、Nr4a1-cKO マウスにおいて約 80% の減少が確認された。次に肥満進行時の組織線維化に Nr4a1 が寄与するか検討した。Nr4a1-cKO マウスおよびコントロールマウスに高脂肪食を 8 週間摂餌させたところ、Nr4a1-cKO マウスの皮下脂肪組織では、線維化調節因子である TGF $\beta$ 1 と Col1a1 の発現量は減少していた。さらに脂肪組織由来幹細胞を分取して線維化調節因子の発現量を定量したところ、Col3a1、Mmp2、Timp1 の発現量が有意に減少していた。最後に Nr4a1 の阻害剤が線維化の抑制に有用であるかについても検討した。マウス胚性線維芽細胞 (C3H10T1/2 細胞) に Nr4a1 阻害剤である DIM-C-pPhOH を 20  $\mu$ M 添加し 1 日間培養したところ、Col1a1 の発現量が顕著に減少した。またこの時 TGF $\beta$ 1 添加による細胞の形態変化も DIM-C-pPhOH 存在下では観察されなかった。

【今後の展望】以上の結果より、脂肪組織由来幹細胞において Nr4a1 を欠損させると、肥満の進行下において線維化調節因子が抑制されることが示唆された。今後は Nr4a1 による脂肪組織の線維化調節機構と生活習慣病等の病態との関連が明らかとなることが期待される。