

## 脂肪滴とオートファジー

## Lipid Droplets and Autophagy

篠原 友樹, 大崎 雄樹, 鈴木 倫毅, 藤本 豊士

Yuki Shinohara, Yuki Ohsaki, Michitaka Suzuki and Toyoshi Fujimoto

名古屋大学・大学院医学系研究科・分子細胞学分野

**要旨** オートファジー研究の急速な展開にともない、オートファジーと脂肪滴の関係も大きな注目を集めている。しかし脂肪滴が単にオートファジーで取り込まれるオルガネラの一つなのか、あるいはオートファジー成立に本質的に関わる構造なのかという問題の解決には至っていない。本稿では脂肪滴とオートファジーに関連する最近の研究を紹介し、論考した。

**キーワード**：脂肪滴, オートファジー, 隔離膜, 小胞体

## 1. はじめに

オートファジー（マクロオートファジー）の最大の謎は隔離膜の由来である。古くから小胞体の一部が転化したものであるとする説と、既存のオルガネラとは関係なく新規に形成されるという説が唱えられてきた。最近、小胞体起源説を支持する結果が哺乳類細胞で相次いで報告されたが<sup>1,2)</sup>、最終的な決着を見るまでには至っていない。小胞体以外の構造に関わる経路の存在が否定された訳ではなく、また酵母では preautophagosomal structure (PAS) という哺乳類細胞には見られない構造の重要性が指摘されている。

脂肪滴も隔離膜形成への関与が疑われてきた構造である。脂肪滴に蓄えられている脂質エステルは膜脂質合成のために使われることが知られており、脂肪滴とオートファゴソームは、フリーズフラクチャー法で観察される膜内粒子が少なく、内在性蛋白質が乏しい点で共通している<sup>3)</sup>。最近、脂肪滴とオートファジーの関係についての論文が相次いで発表され、大きな注目を集めた<sup>4,5)</sup>。さらに白色脂肪細胞の分化にオートファジーが必要であることを示す論文も発表された<sup>6~8)</sup>。これらの結果は脂肪滴とオートファジーの密接な関連を示すが、全ての結果を統一的に説明、理解することはできていないのが現状である。

本稿では最初に脂肪滴の基本的性質について述べ、ついで最近の報告を紹介しつつ、哺乳類細胞における脂肪滴とオートファジーの関係について考察したい。

## 2. 脂肪滴の構造と形成メカニズム

## 2.1 脂肪滴の基本構造

脂肪滴はコレステロールエステル (CE), トリアシルグリセロール (TG), ジアシルグリセロール (DG) などの脂質エステルでつくられるコア部分が体積の大部分を占め、表面は磷脂質一重層で覆われている<sup>9)</sup> (図 1)。脂質エステルの組成は細胞種、培養条件によって異なり、脂肪細胞では TG がほとんどだが、他の細胞では CE がかなりの比率を占める。通常の電顕写真では脂肪滴内部は無構造に見えるが、細胞種によっては膜様構造が観察されることもある。一方、磷脂質一重層にはホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、リゾホスファチジルコリンなどが含まれ、その脂肪酸組成は小胞体膜などの磷脂質とは異なる。脂肪滴にはエステル化されていないコレステロールも存在するが、その存在様式は定かでない。

脂肪滴の蛋白質の大半は表層にあると考えられている。脂肪滴に貯蔵される脂質エステルの分解は、TG を加水分解して DG にする反応を触媒する脂肪トリグリセリドリパーゼ (ATGL), DG を加水分解するホルモン感受性リパーゼ (HSL) などの酵素で触媒されるが、その反応は Perilipin, ADRP, TIP47 などの PAT ファミリー蛋白質、リパーゼ活性の制御に関わる CGI-58 など、脂肪滴に存在する蛋白質によって制御される<sup>10)</sup>。脂肪滴にはこのほかに、ステロール合成経路の分子のほか、細胞内トラフィッキングやシグナリングなど多様な機能に関わる分子の局在が報告されている。

## 2.2 形成メカニズム

脂肪滴は小胞体でできると考えられている。その根拠は、TG 合成の最終段階を触媒する酵素 (DGAT1, DGAT2) と CE 合成の最終段階を触媒する酵素 (ACAT1, ACAT2) がいずれも小胞体の膜貫通蛋白質であることにある。これらの酵

〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町 65  
FAX: 052-744-2011  
E-mail: tfujimot@med.nagoya-u.ac.jp  
2010年2月18日受付

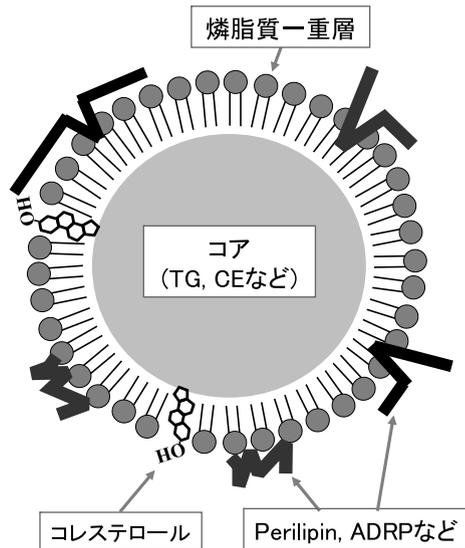


図1 脂肪滴の模式図

脂肪滴は、中心に脂質エステル（トリグリセリド [TG]、コレステロールエステル [CE] など）の塊があり、その周囲を磷脂質一重層が被うという基本構造を取ると考えられている。perilipin, ADRP などの脂肪滴蛋白質は磷脂質一重層にアンカーして存在すると考えられる。この模式図では中心部分を無構造に描いているが、内部に膜構造や可溶性蛋白質などが存在するという報告もある。

素で作られる TG, CE は疎水性の強い分子なので、小胞体の脂質二重層の真ん中に貯留すると考えるのが自然である。小胞体膜に蓄積した脂質エステルの塊が、小胞体膜の細胞質側の一葉に被われたまま膨隆し、やがて分離独立する (Budding) モデル<sup>11)</sup> が一般に信じられているが、実験的根拠は乏しい。脂質エステルの塊が小胞体両葉に包まれて小胞体膜から解離するという仮説 (Hatching 説；この場合、小胞体には一過性の孔があく)<sup>12)</sup>、小胞体に近接する小胞に脂質エステルが貯留して脂肪滴となるという説<sup>13)</sup> などもある。また細菌では細胞膜の細胞質側表面（膜内ではなく膜表面）に脂質エステル（ワックス）が蓄積し、脂肪滴となるとされている<sup>14)</sup>。

脂肪滴形成は Arf1-COPI 系の発現または機能の阻害により抑制される<sup>15~17)</sup>。このことは小胞輸送が脂肪滴形成に必要であることを示唆するが、脂質一重層で被われた脂肪滴と COPI 小胞が直接相互作用するという実験結果はない。Arf1-COPI 系は、ATGL や TIP47 など脂質エステル分解に関わる蛋白質の輸送を介して、間接的に脂肪滴形成に影響するだけなのかもしれない。

### 3. 脂肪滴とオートファジー

Singh らは肝細胞の脂肪滴がオートファジーによって分解されることを報告し、リポファジー (lipophagy) と名付けた (図2)<sup>5)</sup>。オートファジーに必要な分子である Atg7 を欠損させたマウスの肝細胞、やはりオートファジーに必要な Atg5 を欠損させたマウスの胎児線維芽細胞、薬剤でオートファジーを阻害した細胞などで脂肪滴が過剰に形成されること、

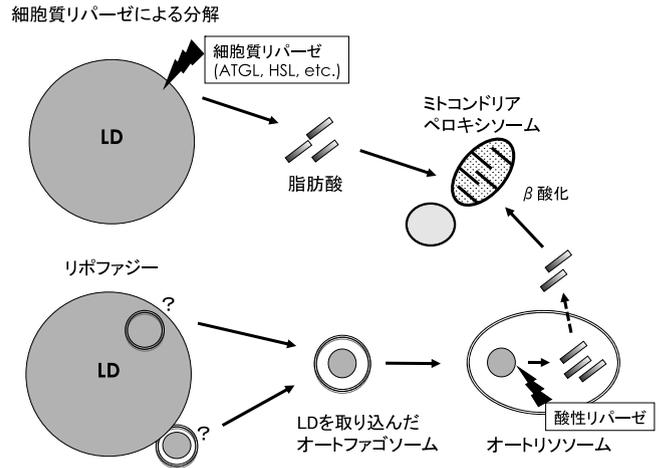


図2 脂肪滴の脂質エステルを分解する2つの経路

細胞質には複数のリパーゼ (ATGL, HSL など) があり、脂肪分解のシグナルが伝達されると脂肪滴に作用して脂質エステルを分解し、脂肪酸を遊離する。脂肪酸はミトコンドリア、ペロキシソームでβ酸化を受けるほか、膜成分などとして利用される。細胞質のリパーゼによる脂質分解の経路は早くから知られており、詳細な分子機構の解析も進んでいる。一方、リポファジーでは脂肪滴内部もしくは脂肪滴近傍で形成されるオートファゴソームが脂肪滴を取り込む。オートファゴソームはリソソームと融合してオートリソソームとなり、脂質エステルは酸性リパーゼの作用を受けて分解される。この経路の存在は最近報告されたばかりであり、その制御機構、また細胞質リパーゼ経路との役割分担などについては今後の検討に委ねられている。

高脂肪食摂取でリポファジーが抑制されることなどが観察されている。また彼らは脂肪滴内部に LC3 (LC3-I) が構成性に存在することを示し、脂肪滴を起点として LC3-II 陽性のオートファゴソームが形成されて脂肪滴を取り込み、最終的にリソソームで分解すると推論している。なお LC3-I は通常細胞質の可溶性蛋白質として存在するが、磷脂質であるフォスファチジルエタノールアミンが C 末に共有結合して LC3-II となり、隔離膜、オートファゴソームなどの膜の形成に関わる。

リポファジーはペキソファジー、マイトファジー、ER ファジーなどと同様に特定のターゲットを選択的に取り込む機構と位置づけられている。酵母のペキソファジーでは Atg30-Atg11 結合、マイトファジーでは Atg32-Atg11 結合が、ターゲットとなるオルガネラとオートファゴソームの特異的接合に関与するが<sup>18)</sup>、リポファジーにもそれらに対応する機構があるのか、あるいは LC3-I が脂肪滴に存在することから見て、脂肪滴は他のオルガネラとは異なる特殊性を持つのかという点は分かっていない。また脂質代謝の観点からは、脂質エステルの分解において、既知の ATGL, HSL など細胞質の酵素群とリポファジー・リソソーム系がどのように機能分担するのかが興味深い。

一方、柴田らは LC3-II が脂肪滴形成に中心的な役割を担うことを報告した<sup>4)</sup>。興味深いのは、同じ系統の肝特異的 Atg7 欠損マウスの肝臓を用いた実験において、Singh らが野

生型肝臓より脂肪滴が多いとしているのに対し、柴田らは脂肪滴がほとんど形成されないことを示している点である。オートファジーが阻害されると、ペロキシソームやミトコンドリアなど、脂肪滴の脂質エステル分解で生じる脂肪酸の代謝に関わるオルガネラの活性にも影響が出ることが予想され、その結果として脂肪滴に変化が生じる可能性がある。上記の2つの実験結果は一見、相矛盾するが、使われたマウスの月齢の差(4ヶ月<sup>5)</sup>と1ヶ月<sup>4)</sup>や他の何らかの条件の差が、脂肪代謝における各オルガネラの関与の度合いに違いをもたらした、脂肪滴の挙動に影響した可能性は否定できない。

さらに柴田らが絶食マウスの肝臓、心臓の脂肪滴表面にLC3-IIが局在することを示しているのに対し<sup>4)</sup>、SinghらはLC3-Iは脂肪滴内部にあると報告している<sup>5)</sup>。細胞質の可溶性蛋白質と考えられているLC3-Iが脂肪滴コアにあるならば、疎水性の脂質エステルが占有するとされてきた脂肪滴の内部構造についての理解を大きく変える必要が出てくる。柴田らが示した脂肪滴表面のLC3-IIと脂肪滴形成の関係についても今後の検討が必要だが、LC3-IIができないAtg5欠損マウス線維芽細胞でも正常対照細胞と同様の脂肪滴形成が見られ(篠原ら、未発表)、LC3-IIが脂肪滴形成に必須とは言えないと思われる。

脂肪滴とオートファジーの直接的な関わりとは別に、オートファジーが脂肪細胞の分化に関与することが報告されている<sup>7,8)</sup>。脂肪組織特異的にAtg7を欠損させたマウスでは、白色脂肪細胞の数や体積が激減し、褐色脂肪細胞の特徴を備えた細胞の増加が見られる。この結果は白色脂肪細胞になるべき前駆細胞が褐色脂肪細胞に分化したことによってもたらされた可能性が考えられるが、2種類の脂肪細胞が共通の前駆細胞から分化するのではないという事実、また3週齢の若いマウスではAtg7欠損型と野生型の白色脂肪組織に差が見られないという結果により棄却される。齧歯類では出生後に褐色脂肪細胞が白色脂肪細胞に分化転換するため、その際の細胞質リモデリングに必須となるオートファジーの不在により白色脂肪細胞の形成不全がもたらされたとする考えが有力である<sup>7)</sup>。

脂肪滴とオートファジーの関係性は細胞種によって異なる可能性が高い。脂肪滴に貯蔵される脂質エステルの組成、ATGL, HSLなど細胞質リパーゼやPATファミリー蛋白質の発現量などは細胞によって大きな差がある。また動物体内の細胞ではオートファジー制御に重要なインシュリンに対する感受性や年齢によるオートファジー活性の違いなど、さらに多様な因子が影響すると考えられる。これらの要因を考慮した上で、脂肪滴が単にオートファジーのクライアントの一つなのか、それともより本質的にオートファジーに関わる構造なのかを検討していく必要があるだろう。

#### 4. 超低密度リポタンパク質形成とオートファジー

肝細胞の脂肪滴に貯留する脂質は、膜結合リボソームでの翻訳と同調して、アポリポ蛋白質B100(ApoB)に付加

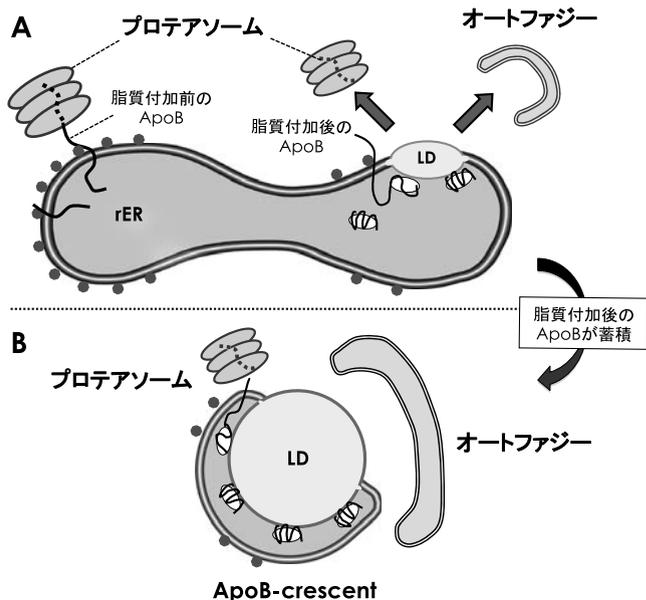


図3 脂肪滴へのApoB蓄積とオートファジー

A. 巨大な蛋白質であるApoBは翻訳と同期して脂質付加を受け、小胞体内腔に入る。この脂質付加が阻害されると、ApoBはトランスロコン(翻訳されたペプチドが小胞体内腔に入る通路)から細胞質側に抜き出され、プロテアソームで分解を受ける。  
B. 脂質付加され小胞体内腔に入った後のApoBもプロテアソーム、オートファジーで分解されるらしい。その詳細はまだ不明であるが、脂質付加後のApoBが脂肪滴付近で細胞質側に逆行輸送されてプロテアソーム分解を受ける、脂質付加後のApoBが脂肪滴ごとオートファジーによって処理されるなどの機構が考えられる。

され、超低密度リポタンパク質(VLDL)の前駆体(pre-VLDL)を形成する。何らかの原因で脂質付加されなかったApoBは細胞質側に引き抜かれ、プロテアソーム分解を受けるが、脂質付加を受け小胞体内腔に入ったApoBを分解するメカニズムも存在する。我々は脂質付加後のApoBの分解が脂肪滴近傍で起こり、この分解にプロテアソームとオートファジーが関与することを見出した<sup>19,20)</sup>(図3)。すなわちオートファジーあるいはプロテアソームを阻害すると、脂質付加後のApoBが脂肪滴周囲に集積し、ApoB-crescentという特異な構造を形成する。プロテアソーム阻害により蓄積したApoB-crescentにはLC3陽性のオートファゴソームがしばしば隣接し、免疫電顕ではApoB陽性の脂肪滴を包み込むリソソームが観察される。これらのことから脂質付加後のApoBは脂肪滴ごとオートファゴソームに貪食されると考えられる(図3)。一方、多価不飽和脂肪酸を負荷した細胞のER以降の分泌経路で起こるApoB分解にもオートファジーの関与が示されている<sup>21)</sup>。この現象と脂肪滴やApoB-crescentの関係は明らかではなく、今後の検討にゆだねられている。

#### 5. おわりに

DFCP1が存在するオメガソーム<sup>22)</sup>、小胞体膜と隔離膜の連続<sup>1,2)</sup>など、小胞体がオートファゴソームの起源であるこ

とを示唆する論文に注目が集まっている。しかし小胞体の近傍には脂肪滴が存在する<sup>2)</sup>。脂肪滴は隔離膜形成の単なる傍観者に過ぎないのか、それとも実は真犯人なのか、後者だとしたら主犯なのか、小胞体の共犯者という位置づけが正しいのか。隔離膜の由来に関する謎は、脂肪滴に関する疑問、すなわち「脂肪滴のコアは単に脂質エステルが無構造な塊なのか？」という問題と表裏一体の関係にあるのかもしれない。これらに確たる答えはまだ出ていないが、真犯人が追い詰められつつあるのは間違いない。今後数年間の研究の展開からは目が離せない。

## 文 献

- 1) Hayashi-Nishino, M., Fujita, N., Noda, T., Yamaguchi, A., Yoshimori, T. and Yamamoto, A.: *Nat. Cell Biol.*, **11**, 1433–1437 (2009)
- 2) Yla-Anttila, P., Vihinen, H., Jokitalo, E. and Eskelinen, E.L.: *Autophagy*, **5**, 1180–1185 (2009)
- 3) Baba, M., Osumi, M. and Ohsumi, Y.: *Cell Struct Funct*, **20**, 465–471 (1995)
- 4) Shibata, M., Yoshimura, K., Furuya, N., Koike, M., Ueno, T., Komatsu, M., Arai, H., Tanaka, K., Kominami, E. and Uchiyama, Y.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **382**, 419–423 (2009)
- 5) Singh, R., Kaushik, S., Wang, Y., Xiang, Y., Novak, I., Komatsu, M., Tanaka, K., Cuervo, A.M. and Czaja, M.J.: *Nature*, **458**, 1131–1135 (2009)
- 6) Baerga, R., Zhang, Y., Chen, P.H., Goldman, S. and Jin, S.: *Autophagy*, **5**, 1118–1130 (2009)
- 7) Singh, R., Xiang, Y., Wang, Y., Baikati, K., Cuervo, A.M., Luu, Y.K., Tang, Y., Pessin, J.E., Schwartz, G.J. and Czaja, M.J.: *J. Clin. Invest.*, **119**, 3329–3339 (2009)
- 8) Zhang, Y., Goldman, S., Baerga, R., Zhao, Y., Komatsu, M. and Jin, S.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 19860–19865 (2009)
- 9) Fujimoto, T., Ohsaki, Y., Cheng, J., Suzuki, M. and Shinohara, Y.: *Histochem. Cell Biol.*, **130**, 263–279 (2008)
- 10) Brasaemle, D.L.: *J. Lipid. Res.*, **48**, 2547–2559 (2007)
- 11) Murphy, D.J. and Vance, J.: *Trends Biochem. Sci.*, **24**, 109–115 (1999)
- 12) Ploegh, H.L.: *Nature*, **448**, 435–438 (2007)
- 13) Walther, T.C. and Farese, R.V., Jr.: *Biochim. Biophys. Acta*, **1791**, 459–466 (2009)
- 14) Waltermann, M. and Steinbuechel, A.: *J. Bacteriol.*, **187**, 3607–3619 (2005)
- 15) Guo, Y., Walther, T.C., Rao, M., Stuurman, N., Goshima, G., Terayama, K., Wong, J.S., Vale, R.D., Walter, P. and Farese, R.V.: *Nature*, **453**, 657–661 (2008)
- 16) Beller, M., Sztalryd, C., Southall, N., Bell, M., Jackle, H., Auld, D.S. and Oliver, B.: *PLoS Biol.*, **6**, e292 (2008)
- 17) Soni, K.G., Mardones, G.A., Sougrat, R., Smirnova, E., Jackson, C.L. and Bonifacino, J.S.: *J. Cell Sci.*, **122**, 1834–1841 (2009)
- 18) Ishihara, N. and Mizushima, N.: *Dev. Cell*, **17**, 1–2 (2009)
- 19) Ohsaki, Y., Cheng, J., Suzuki, M., Fujita, A. and Fujimoto, T.: *J. Cell Sci.*, **121**, 2415–2422 (2008)
- 20) Ohsaki, Y., Cheng, J., Fujita, A., Tokumoto, T. and Fujimoto, T.: *Mol. Biol. Cell*, **17**, 2674–2683 (2006)
- 21) Pan, M., Maitin, V., Parathath, S., Andreo, U., Lin, S.X., St Germain, C., Yao, Z., Maxfield, F.R., Williams, K.J. and Fisher, E.A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 5862–5867 (2008)
- 22) Axe, E.L., Walker, S.A., Manifava, M., Chandra, P., Roderick, H.L., Habermann, A., Griffiths, G. and Ktistakis, N.T.: *J. Cell Biol.*, **182**, 685–701 (2008)