

Opn3 を介した光刺激が褐色脂肪の代謝機能に与える影響について

佐藤 真理

申請時：北海道大学 大学院歯学研究院

現在：北海道大学大学院歯学研究院 准教授

要旨

G-protein-coupled receptor (GPCR)のひとつである Opsin3 (Opn3) は光受容体として知られている。Opn3 は脂肪組織で多く発現しているが、Opn3 が脂肪組織に果たす役割は未だ不明である。興味深いことに Opn3 ノックアウト(Opn3-KO)マウスは野生型 (WT)マウスに比べ、高脂肪食飼育下で易肥満性を示しインスリン抵抗性を生じる。さらに、エピネフリン刺激による熱産生が低下していることから褐色脂肪の機能異常が示唆された。Opn3 を介した光刺激の褐色脂肪代謝への関与を調べるために、Opn3-KO 褐色脂肪細胞を樹立し、光照射実験および代謝機能測定実験を行った。WT 褐色脂肪細胞では、光照射による糖取り込みの増加とミトコンドリアでのエネルギー産生の増加が見られたが、Opn3-KO 褐色脂肪細胞ではこれらの効果は見られなかった。加えて、G-protein 結合領域を変異させた褐色脂肪細胞でも光刺激による効果が消失した。これらのことから、Opn3 を介した光刺激は GPCR シグナルを介して褐色脂肪細胞の代謝を制御することが分かった。この Opn3 を介した光刺激が喚起する細胞内分子機構を明らかにするために、RNA-sequencing 解析を行い、代謝シグナルに関与する 140 遺伝子を同定した。次に、Opn3 を介した光刺激による褐色脂肪代謝への影響を生体レベルで調べるため、in vivo illumination system を用いてマウス褐色脂肪への光刺激を行い代謝機能測定を行った。WT マウスでは光刺激による熱産生および酸素消費量が増大したが、この効果は Opn-KO マウスでは消失した。このことから、Opn3 を介した光刺激は褐色脂肪組織の代謝機能を増強することで全身の代謝を正に制御していることが明らかとなった。

内容

我々の体には二種類の脂肪組織が存在する。腹部に蓄積しやすい白色脂肪は血中の過剰な糖や脂質を貯め込む貯蔵庫であり、肥満を原因とする代謝疾患の負の要因となる。一方、頸部や腋窩に存在する褐色脂肪は取り込んだ糖や脂肪をミトコンドリアの熱産生エネルギーとして消費する、いわゆる“善玉”の脂肪である。近年、このエネルギー代謝の高い褐色脂肪を活性化して、肥満の防止や代謝疾患治療につなげるための研究が盛んに行われている¹。

Opsin は G protein coupled receptor (GPCR) のひとつであり光受容体として知られている。Opsin ファミリーの中では、目の視細胞に発現しているロドプシン (Rhod-opsin, Opsin2)がよく知られているが、近年、目以外の組織にも種々の Opsin の存在が見いだされている。Opn3 は 1999 年にマウスの小脳で発見され²、2008 年にマウス組織の GPCR 発現プロファイリングにより Adipose Cluster

に分類された³。しかし、脂肪組織における Opn3 の光応答機能とその効果に関する報告はこれまでになかった。興味深いことに、脊椎動物の Opn3 ホモログを発現させた HEK293 細胞は光感受性を獲得することが示されており⁴、光受容器である目以外の組織でも Opn3 が光受容体として働いていることが示唆されている。さらに、エステサロンにおいて光照射で脂肪を溶解する光痩身という施術が一般的に行われ効果があることから、Opn3 を介した光刺激が脂肪組織の代謝制御機構に何らかの影響を与えている可能性が考えられた。脂肪組織の Opn3 を介した光応答性とそれが脂肪組織、とりわけ褐色脂肪組織に与える影響を明らかにするために本研究を行った。

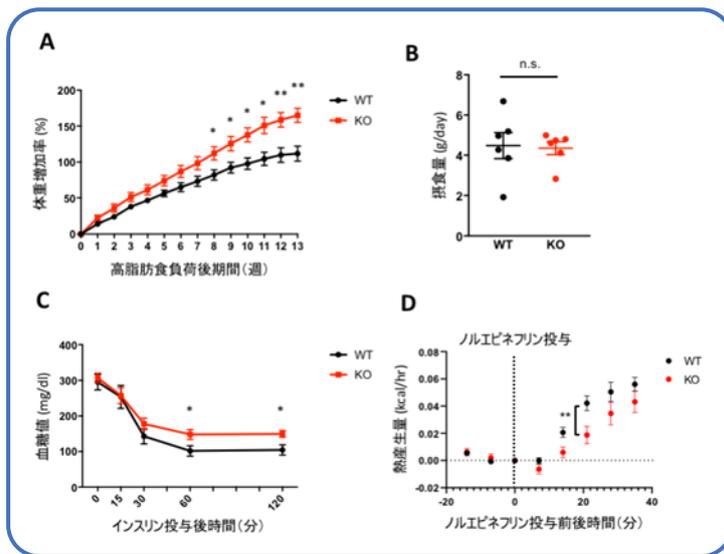


Figure1. Opn3-KOマウスは肥満傾向を示す

Opn3-KO マウス WT はマウスに比べて、高脂肪食負荷により摂食量の変化はないが易肥満性およびインスリン抵抗性を示す (Fig. 1A-C)。これらのマウスにエピネフリン投与による交感神経刺激を加えたところ、Opn3-KO マウスでは熱産生能が低下していた (Fig. 1D)。このことから、Opn3-KO マウスでは褐色脂肪組織の機能低下による代謝異常が生じていることが示唆された。

次に、褐色脂肪組織における Opn3 を介した光応答性とその機能的役割を細胞レベルで詳細に調べるため、Opn3 褐色脂肪細胞を樹立して光照射実験を行った。

その結果、WT 褐色脂肪細胞では光照射によりグルコース取り込み、グルコース依存酸素消費量が、Opn3-KO 褐色脂肪細胞では光照射によるこれらの効果が消失していた (Fig. 2A-B)。さらに、脂肪酸がミトコンドリアに流入するために必要なカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ 1 (CPT1) のタンパク発現および脂肪酸依存酸素消費量が、同様に WT 褐色脂肪細胞でのみ

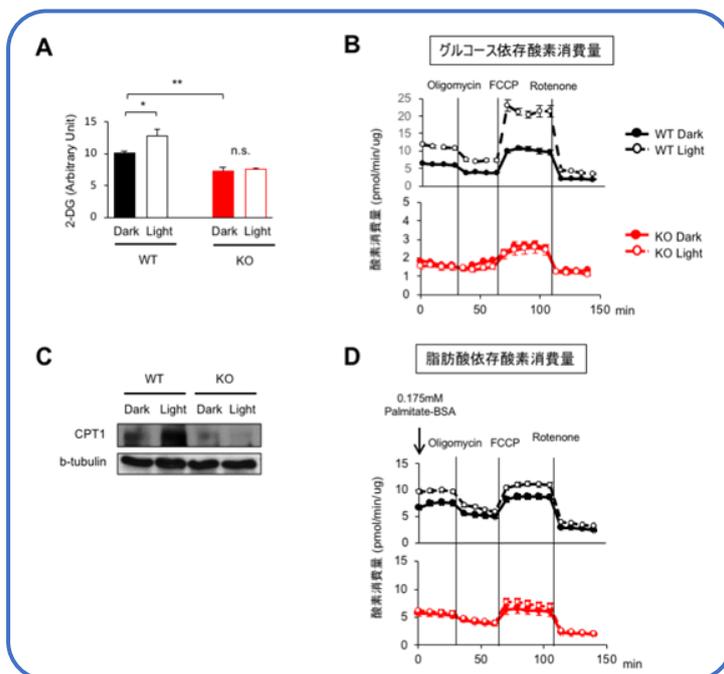


Figure2. Opn3を介した光刺激は褐色脂肪細胞の機能を増強する

光照射で増強された (Fig. 2C-D)。これらの結果から、Opn3 を介した光刺激は褐色脂肪細胞へのグルコースの取り込みを促進し、また脂肪酸のミトコンドリアへの流入を促進すること、それらグルコースと脂肪酸を利用したミトコンドリアの酸化的リン酸化によるエネルギー合成を増強させることが示唆された。

褐色脂肪細胞において、Opn3 を介した光刺激がどのような分子機構を経て上記の代謝機能を制御しているのかを明らかにするため、RNA-sequencing 解析を行った。光照射有無の WT および Opn3-KO 褐色脂肪細胞、計 4 サンプルを用いて遺伝子発現変動を比較した結果、光応答遺伝子が 1726 抽出された。また、その内の 140 遺伝子が Opn3 介在性の光応答遺伝子であった。この Opn3 介在性光応答遺伝子を用いて pathway 解析を行ったところ、脂肪酸酸化、ミトコンドリア代謝に関与するシグナル経路が複数同定された。このことから、褐色脂肪細胞は Opn3 を用いて光にตอบสนองし、140 の遺伝子を介在する代謝シグナルを変化させることで褐色脂肪細胞のエネルギー代謝機構を調節することが示唆された。

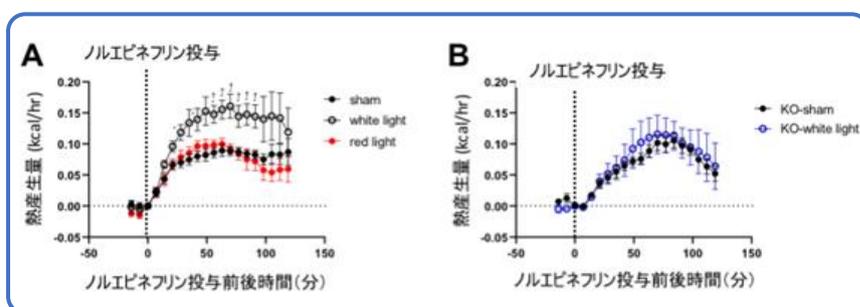


Figure3. Opn3を介した光刺激は褐色脂肪細胞の機能を増強する

実験⁵を行った。マウスの褐色脂肪表層に微小なワイヤレス光照射装置を埋め込み、8日間の連続光照射後にノルエピネフリン投与による交感神経刺激を行った。その結果、WTマウスでは白色光照射による熱産生増強が見られたが赤色光ではこの効果は見られなかった (Fig. 3A)。白色光には Opn3 が感知する 465nm 波長の光を含むため、褐色脂肪は Opn3 を介した光応答により熱産生機能が促進されたと考えられた。実際に、Opn3-KO マウスでは白色光による熱産生増強効果が消失した (Fig. 3B)。

本研究において、1. 褐色脂肪は Opn3 を介して光刺激にตอบสนองして 140 の遺伝子を変動させること
2. 140 の光応答遺伝子は脂肪酸酸化およびミトコンドリア代謝に関わるシグナル経路を介して褐色脂肪のエネルギー代謝を促進させること
3. 生体内においても Opn3 を介した光応答により褐色脂肪の熱産生能が促進されて全身の代謝を正に制御することが明らかとなった。

引用文献

1. Townsend, K. & Tseng, Y.H. Brown adipose tissue: Recent insights into development, metabolic function and therapeutic potential. *Adipocyte* 1, 13-24 (2012).
2. Blackshaw, S. & Snyder, S.H. Encephalopsin: a novel mammalian extraretinal opsin discretely localized in the brain. *J Neurosci* 19, 3681-3690 (1999).

3. Regard, J.B., Sato, I.T. & Coughlin, S.R. Anatomical profiling of G protein-coupled receptor expression. *Cell* 135, 561-571 (2008).
4. Koyanagi, M., Takada, E., Nagata, T., Tsukamoto, H. & Terakita, A. Homologs of vertebrate Opn3 potentially serve as a light sensor in nonphotoreceptive tissue. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110, 4998-5003 (2013).
5. Shin G, Gomez AM, Al-Hasani R, Jeong YR, Kim J, Xie Z, et al. Flexible Near-Field Wireless Optoelectronics as Subdermal Implants for Broad Applications in Optogenetics. *Neuron*. 93(3), 509-521. (2017)

発表業績一覧

論文

1. **Mari Sato**, Significance and application of light therapy based on photoreceptors to the regulation of fat metabolism, *Current Oral Health Reports*, 2021, Published online, 10.1007/s40496-021-00298-2
2. **Mari, Sato**, Tadataka, Tsuji Kunyan, Yang Xiaozhi Ren, Jonathan M. Dreyfuss, Tian Lian Huang, Chih-Hao Wang, Farnaz Shamsi, Luiz O. Leiria, Matthew D. Lynes, King-Wai Yau., Yu-Hua Tseng, Cell-autonomous light sensitivity via Opsin3 regulates fuel utilization in brown adipocytes, *PLOS Biology*, 2020, Published online, doi.org/10.1371/journal.pbio.3000630
3. Luiz Osório Leiria, Chih-Hao Wang, Matthew D. Lynes, Kunyan Yang, Farnaz Shamsi, **Mari Sato**, Satoru Sugimoto, Emily Y. Chen, Valerie Bussberg, Niven R. Narain, Brian E. Sansbury, Justin Darcy, Tian Lian Huang, Sean D. Kodani, Masaji Sakaguchi, Andréa L. Rocha¹, Tim J. Schulz, Alexander Bartelt, Gökhan S. Hotamisligi, Michael F. Hirshman, Klausvan Leyen, Laurie J. Goodyear, Matthias Blüher, Aaron M. Cypess, Michael A. Kiebish, Matthew Spite, Yu-Hua Tseng. 12-Lipoxygenase Regulates Cold Adaptation and Glucose Metabolism by Producing the Omega-3 Lipid 12-HEPE from Brown Fat. *Cell Metabolism*, 2019, 30(4):786-783, doi.org/10.1016/j.cmet.2019.07.001

学会発表

1. **Mari Sato**, Light sensitivity of brown adipose tissue via photoreceptor Opsin3, 第63回歯科基礎医学学会学術大会, 神奈川, 2021/10/10
2. **佐藤 真理**, Light sensitivity and metabolic regulation of brown adipose tissue via

Opsin3, 第 64 回日本糖尿病学会年次学術集会, 富山, 2021/5/22

3 . **Mari Sato**, Kunyan Yang, Xiaozhi Ren, King-Wai Yau, Yu-Hua Tseng, Cell-autonomous light sensitivity via Opsin3 regulates fuel usage in brown adipocytes, 55th European Association for the Study of Diabetes Annual Meeting, Sep 16-20, 2019, Barcelona, Spain

4 . **佐藤 真理**, Light Sensitivity of Brown Adipose Tissue, 第 58 回日本生体医工学会大会, 沖縄, 2019/6/7

5 . **佐藤 真理**, Light Sensitivity of Brown Adipose Tissue, 第 60 回歯科基礎医学会学術大会, 福岡, 2018/9/6

6 . **Mari Sato**, Xiaozhi Ren, Luiz O Leiria, Chih-Hao Wang, Matthew Lynes, King-Wai Yau, Yu-Hua Tseng, Cell-autonomous light sensitivity via Opsin 3 regulates fuel utilization in adipose tissue, American Diabetes Association's 77th Scientific Sessions, June 9-13, 2017, San Diego, California