

## 脂肪細胞分化初期に発現が変動する遺伝子群の単離及び機能解析

西塚 誠

## Cloning and Characterization of Inducible Genes at the Beginning of Adipocyte Differentiation

Makoto NISHIZUKA

*Department of Molecular Biology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University, 3-1 Tanabe-dori, Mizuho-ku, Nagoya 467-8603, Japan*

(Received June 27, 2003)

Adipocyte differentiation takes place via a complex series of steps. While PPAR $\gamma$  and C/EBP $\alpha$  are known to be master regulators, the events at the earliest stage of adipocyte differentiation are not yet known. In this study, we cloned the genes that are induced at the beginning of the differentiation of 3T3-L1 preadipocyte cells. Of 102 clones obtained, only several clones were already reported as genes that are expressed differentially during adipocyte development. The expression of TCL/TC10 $\beta$ L (TC10-like/TC10 $\beta$ Long) and RGS2 (regulators of G protein signaling 2) genes isolated here rapidly increased after the addition of inducers (insulin, dexamethasone, 3-isobutyl-1-methylxanthine, fetal bovine serum [FBS]). Further, the antisense TCL/TC10 $\beta$ L inhibited the adipogenesis of mouse 3T3-L1 preadipocyte cells, prevented cytoplasmic triglyceride accumulation, and decreased the expression of PPAR $\gamma$  and C/EBP $\alpha$ . Moreover, the constitutive overexpression of TCL/TC10 $\beta$ L or RGS2 in the mouse fibroblast cell line NIH-3T3 results in efficient adipocyte conversion when stimulated with 10% FBS, insulin, 3-isobutyl-1-methylxanthine, dexamethasone, and PPAR $\gamma$  ligand BRL49653. These results strongly suggest that TCL/TC10 $\beta$ L and RGS2 have crucial roles in the program of adipocyte differentiation, probably linked to the PPAR $\gamma$  pathway. Using a subtraction protocol, the genes specifically regulated by TCL/TC10 $\beta$ L were also isolated. The expression pattern of some was similar to TCL/TC10 $\beta$ L expression in adipogenesis, suggesting that these genes are regulated by TCL/TC10 $\beta$ L.

**Key words**—obesity; diabetes; adipocyte differentiation; gene expression

## 1. はじめに

肥満は糖尿病、高脂血症、動脈硬化症などの生活習慣病のリスクファクターとして、現在大きな問題となっている。肥満とは、エネルギー摂取と消費のアンバランスにより体内に過剰な脂肪組織が蓄積した状態である。肥満の形成には成熟脂肪細胞がより多くの脂肪を蓄積し、その体積を増加させること（肥大化）だけでなく、前駆脂肪細胞が成熟脂肪細胞へと分化し、その数が増えることも重要であることが分かってきた。すなわち、肥満、そして肥満が引き起こす疾病の治療を考える際には脂肪細胞の肥大化に加え、前駆脂肪細胞から脂肪細胞への分化の

メカニズムを解明することが非常に重要であると考えられる。

脂肪組織を構成している脂肪細胞の分化とその調節機構については、初代培養細胞株や株化培養細胞系を用いて分子レベルでの研究が進んでおり、PPAR $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ ) や C/EBP (CCAAT/enhancer binding protein) ファミリーが重要な役割を担っていることが明らかになってきた。<sup>1-4)</sup> これらの遺伝子についてはノックアウトマウスによる検討も行われ、それぞれの因子が生体内においても重要な機能を果たしていることが明らかになってきている。<sup>4,5)</sup> しかしながら、脂肪細胞に分化する最も初期における分子メカニズムはほとんど明らかになっていない。脂肪細胞の分化初期には分化を決定するダイナミックな遺伝子発現やシグナル伝達機構の変化が起きていると予想され、脂肪細胞分化の分子メカニズムを解明する上で

名古屋市立大学大学院薬学研究科分子生物薬学分野 (〒467-8603 名古屋市瑞穂区田辺通 3-1)

e-mail: prmakoto@phar.nagoya-cu.ac.jp

\*本総説は、平成 14 年度日本薬学会近畿支部学術奨励賞の受賞を記念して記述したものである。

必要不可欠であると考えられる。そのため筆者らは、脂肪細胞分化初期過程の分子メカニズムを解明することを目的として研究を続けている。本稿では、これまでの筆者らの検討結果を中心に、脂肪細胞分化初期過程の分子メカニズムについて概説したい。

## 2. 脂肪細胞分化初期に発現が変動する遺伝子群の単離

筆者らはまず、脂肪細胞分化初期に発現が増加する遺伝子を単離することを試みた。分化誘導剤 (insulin, dexamethasone, 3-isobutyl-1-methylxanthine, fetal bovine serum) 添加直後は分化の引き金になるような遺伝子の発現変化があると考え、分化誘導 3 時間後という極めて初期に発現が増加する因子に着目し、PCR-サブトラクション法により検討した。分化誘導前 (0 hr) と分化誘導 3 時間後の mRNA を用いたサブトラクションの結果、310 コロニーから 228 種類の independent なクローンが得られた。得られた 228 クローンについて分化誘導前と誘導 3 時間後の発現量の変化を Northern blot 解析により検討した結果、102 クローンが分化誘導 3 時間後に発現が増加していた。<sup>6,7)</sup> 単離された遺伝子群のうち、 $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase } \alpha 2$  subunits<sup>8)</sup> と collagen  $\alpha 2$  type VI<sup>9)</sup> 以外の遺伝子は、脂肪細胞分化過程において発現が増加することが初めて明らかとなった遺伝子であった。また、単離した遺伝子群を機能別に分類した結果、転写因子、シグナル伝達に関与している遺伝子、細胞骨格に関与する遺伝子が多く存在していた (Table 1)。転写因子及びシグナル伝達に関与している遺伝子は特に発現の変化が大きいため、脂肪細胞分化初期には転写やシグナル伝達の活発な変化が起きていることが推察された。さらに、データベースに登録されていない遺伝子が約 4 割にあたる 46 クローンも存在していた。この結果は、脂肪細胞分化がこれまで知られていない新規のタンパク質により制御されている可能性を十分に示唆するものである。既に当研究室では、これら未知遺伝子の全長の同定並びに機能解析も進めており、興味深い結果も得られているが、<sup>10)</sup> 本総説では特に分化誘導 3 時間後に発現が増加する既知遺伝子について筆者らのこれまでの検討結果に言及して述べたいと思う。

Table 1. Inducible Genes at the Early Stage of Adipocyte Differentiation of 3T3-L1 Cells

<i>Signaling proteins and transcription factors</i>	
+	ARA 70 ( <i>human</i> )
‡	Bach 1*
+	Grb 2-and Fyn-binding protein*
‡	GTP-binding protein (SARa)*
‡	Kuzbanian*
‡	$\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase } \alpha 2$ subunits ( <i>rat</i> )
‡	Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )
‡	Heat-shock protein 105 (HSP 105)
‡	Oncostatin M specific receptor $\beta$ subunit ( <i>human</i> )
‡	p66 Mot 1*
+	Phosphatase 1 nuclear targeting subunit ( <i>rat</i> )
‡	Phosphoglycerate kinase*
‡	Protein phosphatase 2A ( <i>rat</i> )
‡	Regulator of G protein signaling 2 (RGS2)
+	Ran GTP-binding protein 5* ( <i>human</i> )
+	TAFII 105* ( <i>human</i> )
‡	TC10-like/TC10 $\beta$ Long (TCL/TC10 $\beta$ L)
‡	Thyroid hormone-binding protein p55, cellular
+	Transforming growth factor- $\beta$ receptor, type III ( <i>rat</i> )
‡	Vitamin D receptor (VDR)
<i>Cytoskeletal and extracellular structures</i>	
‡	Actin-binding protein ( <i>human</i> )
+	Annexin IV
+	Collagen $\alpha 1$ , type IV*
+	Collagen $\alpha 2$ , type VI
+	Collagen $\alpha 3$ , type VI ( <i>human</i> )
‡	Golgi 4-transmembrane spanning transporter
‡	Osteonectin
‡	Proteoglycan PG-M
+	Transmembrane protein
<i>Other genes</i>	
‡	N-Acetylglucosamine galactosyltransferase
‡	Agx-1 antigen ( <i>human</i> )
‡	63 kDa antigen ( <i>Brugia</i> )
‡	Antioxidant protein 2
+	Calregulin
+	Chaperonin containing $\beta$ TCP-1 (CCtb)*
‡	Chaperonin containing $\eta$ TCP-1 (CCth)*
+	Connexin 43
‡	Dihydroliipoamide dehydrogenase*
‡	Early T-lymphocyte activation 1 protein
‡	ECA 39
+	Fat facets homologue
‡	Fibroblast growth factor-inducible gene (FIN 14)*
‡	Gal $\beta$ 1 (3 GalNac $\alpha$ 2)
‡	Glutathione peroxidase*
‡	Monocarboxylate transporter*
‡	Nucleor phosphoprotein of 140 kDa ( <i>rat</i> )
‡	Spi 2 protease inhibitor
+	Suilisol
‡	T 1 protein

Table 1. continued

‡	Thrombospondin 1
‡	Tropomyosin 4* ( <i>rat</i> )
‡	UDP-glucose dehydrogenase ( <i>Drosophila</i> )
‡	Xanthine dehydrogenase
<i>Unknown genes</i>	
‡	14 clones (7 clones*)
‡	17 clones (9 clones*)
+	15 clones (11 clones*)

Expression level is defined as: ‡ : highly induced, † : moderately induced, + : slightly induced. The sequence of isolated clones were run through DNA databases, and the names are shown when identical with mouse clones. For the clones that show high sequence similarity to proteins from other species, the name of the source species is shown in parentheses. Clones isolated in the present study are indicated by \*.

### 3. 単離した遺伝子群の脂肪細胞分化初期における発現変化

転写因子やシグナル伝達に関与している遺伝子は、分化の制御に重要な役割を果たしている可能性が考えられる。そこで、転写因子及びシグナル伝達に関与する遺伝子に注目し、それらの脂肪細胞分化過程における発現について詳細な検討を行った。ここでは特に、低分子量 GTP 結合タンパク質 Rho family に属する TCL/TC10 $\beta$ L (TC10-like/TC10 $\beta$  Long), Regulator of G-protein signaling family に属

する RGS2, 造血系に関与することが知られている転写因子 Bach1, さらに PPAR $\gamma$  のコアクチベーターとしての機能が最近明らかとなった ARA70 の4つの遺伝子についての検討結果を示した。まず、分化初期過程における経時変化を調べるためノザンブロット解析を行った。その結果、4つの因子とも脂肪細胞分化初期過程に一過性に発現が増加し、その後すみやかに減少することが明らかになった (Fig. 1(A)).

続いて、これらの遺伝子の発現の増加が脂肪細胞分化特異的であるか否かについて検討を行った。3T3-L1 細胞は休止期の状態で分化誘導剤を添加すると脂肪細胞へ分化できるが、増殖期に分化誘導剤を添加しても分化しない。また、同じ繊維芽細胞である NIH-3T3 細胞は休止期、増殖期いずれに分化誘導剤を添加しても脂肪細胞へは分化しない。そこで 3T3-L1 細胞の休止期と増殖期、NIH-3T3 細胞の休止期と増殖期に分化誘導剤を添加し、分化誘導剤を添加する前と添加3時間後の発現量の変化をノザンブロット解析により検討した。その結果、4つの遺伝子の発現増加は 3T3-L1 細胞の休止期において最も大きいことが明らかとなった (Fig. 1(B)). 特に TCL/TC10 $\beta$ L は脂肪細胞に分化する条件のみ

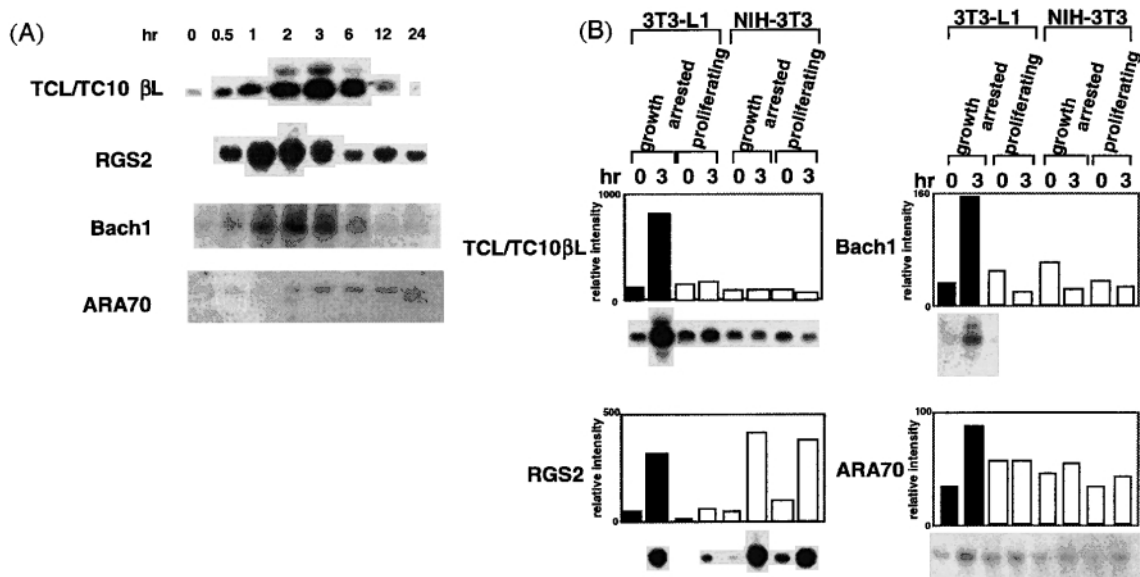


Fig. 1. Northern Blot Analyses of Subtracted cDNA Clones

(A) Northern blot analyses were performed by using 20  $\mu$ g of total RNA which were prepared from 3T3-L1 cells at the various times after the addition of inducers. The filter was hybridized with each probe as indicated.

(B) Total RNAs were prepared from 3T3-L1 and NIH-3T3 cells at different stages at various times after treatment with inducers, and 25  $\mu$ g of total RNA was loaded. The filter was hybridized with each probe. Growth arrested, cells were treated with the inducers after the growth arrest (the typical condition for adipocyte differentiation). Proliferated, cells were treated with the inducers at the mid-log phase of growth (not the condition for adipocyte differentiation). The radioactivities of corresponding bands were measured by an image analyzer and are indicated as an imaging unit in each panel.

で大きな発現増加が見られた。また、その他の転写因子、シグナル伝達に関与する因子も 3T3-L1 細胞の休止期において発現の増加が顕著であった。<sup>6,7)</sup> これらの結果より、サブトラクションにより単離された転写因子やシグナル伝達に関与している遺伝子が単に誘導剤により発現が増加しているのではなく、脂肪細胞分化の初期においてなんらかの役割を担っていることが示唆された。

#### 4. TCL/TC10 $\beta$ L の脂肪細胞分化に対する影響の解析

特に発現の増加が顕著であった TCL/TC10 $\beta$ L と RGS2 に注目し、両遺伝子の脂肪細胞分化における役割についてさらに検討を行った。TCL/TC10 $\beta$ L は、RhoA, Rac1 などから構成される低分子量 GTP 結合タンパク質 Rho ファミリーに属する因子である。<sup>11,12)</sup> Rho ファミリーは、細胞増殖因子などによって活性型である GTP 結合型となり、様々な生理機能を制御していることが知られているが、TCL/TC10 $\beta$ L の機能については不明な点が多い。また、TCL/TC10 $\beta$ L を含めた Rho ファミリーと脂肪細胞分化との関連についてはほとんど分かっていない。そこで Rho ファミリーの脂肪細胞分化過程における発現量の変化を検討した結果、TCL/TC10 $\beta$ L のみが脂肪細胞分化初期に発現が増加していることが明らかとなった。<sup>13)</sup>

そこで、ラクトースオペロンの発現制御系を利用した IPTG 制御によるアンチセンス mRNA 発現系とレトロウイルスシステムを利用したセンス mRNA 発現系を樹立し、脂肪細胞分化における役割を検討した。TCL/TC10 $\beta$ L アンチセンス mRNA を発現するプラスミドと Lac repressor を発現するプラスミドを 3T3-L1 細胞に導入し、単一の stable transformant をピックアップした後、RT-PCR 法を用いて TCL/TC10 $\beta$ L mRNA の量を検討した。その結果、TCL/TC10 $\beta$ L アンチセンス mRNA 発現細胞では IPTG 添加により約 30% まで発現が減少することが示された (Fig. 2(A))。このようにして樹立した TCL/TC10 $\beta$ L のアンチセンス mRNA を発現する stable transformant に分化誘導剤を添加した結果、脂肪滴の蓄積が阻害され (Fig. 2(B))、脂肪細胞分化のマーカー遺伝子である aP2 及び LPL (lipoprotein lipase) の発現も減少した。また、この分化過程において PPAR $\gamma$ , SREBP-1 (sterol

regulatory element-binding protein-1), C/EBP $\alpha$  の発現も減少することを明らかとした (Fig. 2(C))。

さらに、脂肪細胞への分化能を持っていない NIH-3T3 細胞に TCL/TC10 $\beta$ L センス mRNA を発現させた stable transformant を樹立し (Fig. 3(A))、その分化能を検討した。樹立した細胞に 3T3-L1 細胞と同様の分化誘導剤を添加しても形態的な変化は観察されず、脂肪滴の蓄積も見られなかった。しかし、この分化誘導剤に加え PPAR $\gamma$  のリガンドである BRL49653 を添加した結果、繊維芽細胞から脂肪細胞への形態的な変化が観察され、脂肪滴の蓄積も観察された (Fig. 3(B))。また、aP2, LPL の発現量も分化に伴い増加していた。<sup>13)</sup> 以上の結果より、PPAR $\gamma$  のリガンド存在下、TCL/TC10 $\beta$ L センス mRNA 発現細胞は脂肪細胞へと分化することが明らかとなった。さらにこの分化過程において、PPAR $\gamma$ , SREBP-1 の発現量は分化に伴い増加したが、C/EBP ファミリーの発現量に変化は見られなかった。<sup>13)</sup>

#### 5. RGS2 の脂肪細胞分化に対する影響の解析

注目したもう 1 つの因子である RGS2 は約 20 種類からなる RGS ファミリーに属し、その主な機能として、G タンパク質共役型レセプター (GPCR) のシグナルを抑制することが知られている。<sup>14)</sup> さらに、他の RGS ファミリーの多くが細胞膜近辺に存在しているのに対し、RGS2 は核内への局在も見られることなどの報告が最近なされ、<sup>15)</sup> 他の RGS ファミリーとは異なった機能を有している可能性もある。しかしながら、脂肪細胞分化への関与はこれまで知られていない。

そこで、RGS2 について TCL/TC10 $\beta$ L 同様、レトロウイルスシステムを用いた RGS2 センス mRNA 発現細胞の構築並びに解析を行った。その結果、RGS2 センス mRNA 発現細胞についても TCL/TC10 $\beta$ L センス mRNA 発現細胞同様の結果が得られた。すなわち、RGS2 センス mRNA 発現細胞においてもチアゾリジン誘導体の存在下、脂肪細胞へ分化すること、さらに PPAR $\gamma$ , SREBP-1 の発現量が増加することを明らかにした。<sup>16)</sup>

以上の検討より、TCL/TC10 $\beta$ L 並びに RGS2 が脂肪分化初期過程において、脂肪細胞分化を正に制御していることが強く示唆された。また、その機能は PPAR $\gamma$  のリガンドに依存し、PPAR $\gamma$ , SREBP-

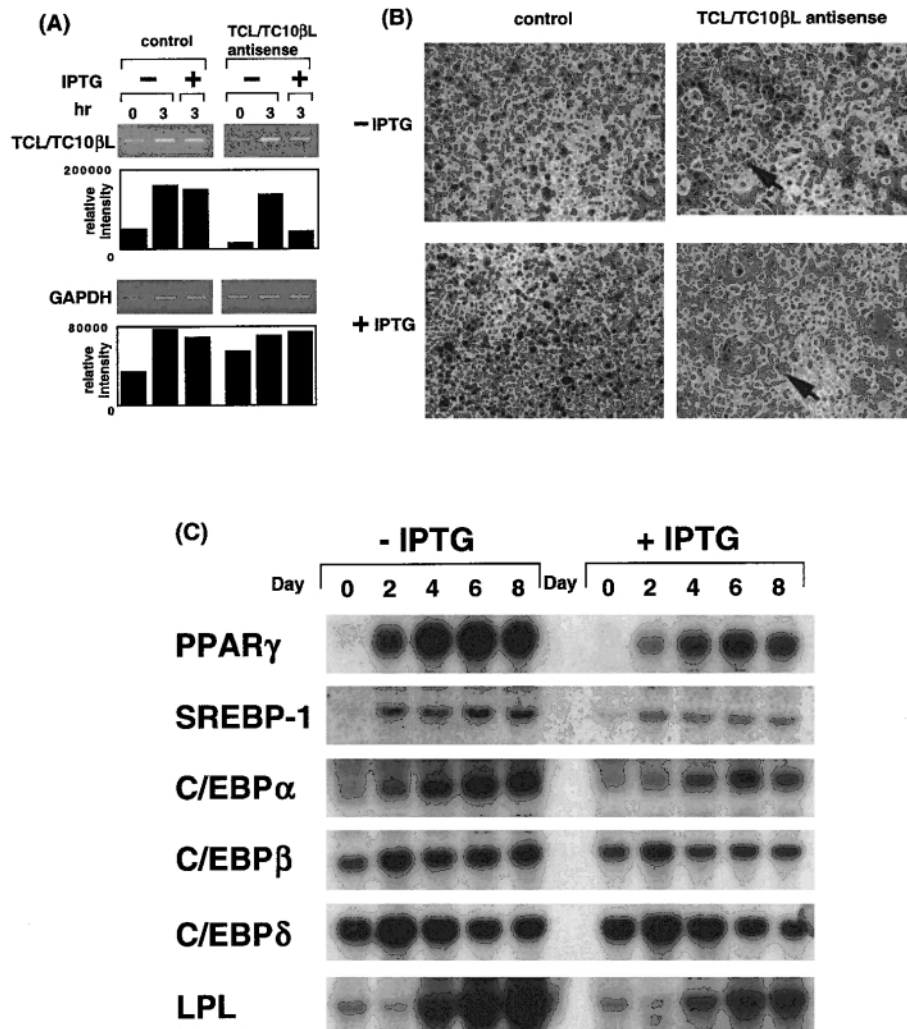


Fig. 2. Antisense TCL/TC10 $\beta$ L Inhibits Adipocyte Differentiation

(A) The expression of TCL/TC10 $\beta$ L mRNA was inhibited by the addition of IPTG in stable transformants expressing antisense TCL/TC10 $\beta$ L. The mouse 3T3-L1 cells, stably expressing antisense TCL/TC10 $\beta$ L (TCL/TC10 $\beta$ L antisense) under the regulation of IPTG, and integrated empty vector (control) were treated with inducers. IPTG was added to the medium 12 hrs before the inducers at a final concentration of 5 mM. The expression levels of TCL/TC10 $\beta$ L and GAPDH are determined by RT-PCR, and the relative intensities of the products were also shown.

(B) Adipocyte conversion was inhibited by expressing antisense TCL/TC10 $\beta$ L. The stable transformants expressing antisense TCL/TC10 $\beta$ L and control cells were treated with inducers. IPTG was added to the medium 12 hrs before the inducers at a final concentration of 5 mM. The cells after 8 days treatment were stained with Oil Red O, and the oil droplets were stained red. The arrow indicates the differentiated adipocytes.

(C) Northern blot analyses of various adipogenic marker genes. The stable transformants expressing antisense TCL/TC10 $\beta$ L were treated with inducers with or without IPTG. Total RNA was isolated from cells at various time points of incubation and used for Northern blot analyses.

1 をより強く誘導することにより、脂肪細胞分化に関与していることが示唆された。

## 6. 脂肪細胞分化過程における TCL/TC10 $\beta$ L の機能解析

アンチセンス mRNA 発現系及びセンス mRNA 発現系を用いた検討により、TCL/TC10 $\beta$ L が脂肪細胞分化を強く誘導することが示唆された。しかしながら、分化過程における具体的な機能については不明である。そこで、TCL/TC10 $\beta$ L の発現により制御される因子群を PCR-サブトラクション法によ

り単離し、その機能について検討した。

TCL/TC10 $\beta$ L により発現が制御される因子を単離するために TCL/TC10 $\beta$ L センス mRNA 発現細胞とベクターのみを導入したコントロール細胞のサブトラクションを行った。サブトラクションは2つの条件で行った。条件1として、単に TCL/TC10 $\beta$ L が発現することで発現の増加する遺伝子を単離するために、TCL/TC10 $\beta$ L センス mRNA 発現細胞とコントロール細胞を比較した。2つ目の条件として TCL/TC10 $\beta$ L センス mRNA 発現細胞の

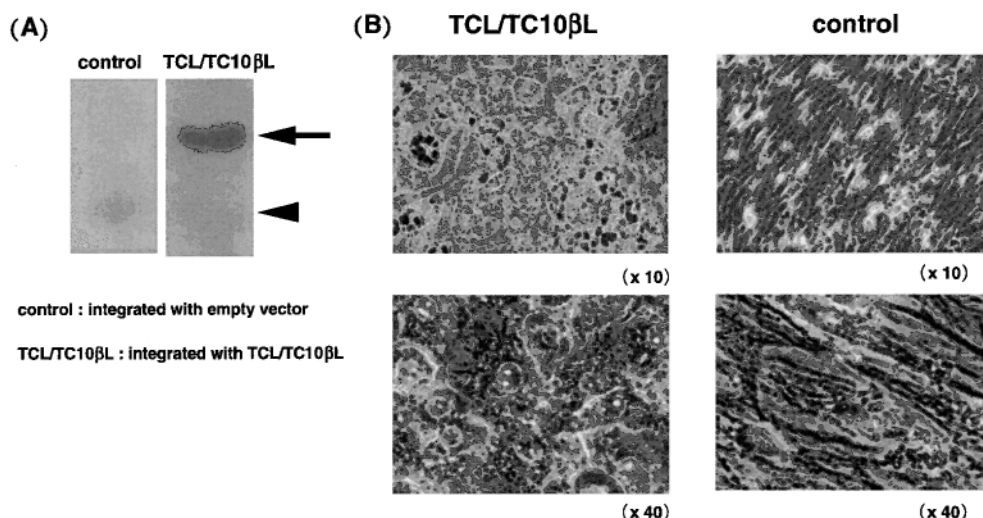


Fig. 3. TCL/TC10 $\beta$ L Promotes Adipocyte Differentiation in the Presence of PPAR $\gamma$  Ligand

(A) The ectopic expression of TCL/TC10 $\beta$ L in NIH-3T3 stable transformants. Northern blot analyses were performed for RNAs prepared from two stable transformants; control, integrating the empty vector only and TCL/TC10 $\beta$ L, integrating the sense TCL/TC10 $\beta$ L in NIH-3T3 cells. The blots were hybridized with TCL/TC10 $\beta$ L. The arrowhead and arrow indicate the endogenous expression and exogenous expression of TCL/TC10 $\beta$ L derived from integrated retrovirus, respectively.

(B) Differentiation of TCL/TC10 $\beta$ L-expressing stable transformants into adipocytes in the presence of PPAR $\gamma$  ligand, BRL49653. The TCL/TC10 $\beta$ L-expressing stable transformant and control (empty vector-integrated) stable transformant were treated with the differentiation medium containing IBMX, Dex, Ins and FBS in the presence of BRL49653. The cells after 10 days treatment were stained with Oil Red O.

分化過程において発現の増加する遺伝子を単離するために、誘導剤を添加して2日後の TCL/TC10 $\beta$ L センス mRNA 発現細胞及びコントロール細胞を比較検討した。それぞれの条件で300コロニーをピックアップし塩基配列の決定及び Northern blot 解析の結果、条件1で21クローン、条件2で13クローンを TCL/TC10 $\beta$ L により発現が増加する遺伝子群として単離した。<sup>13)</sup>

単離された遺伝子群には、転写因子やシグナル伝達及び細胞骨格に関与する遺伝子が多数見られた。さらに、得られた遺伝子群について、3T3-L1細胞の分化初期過程における発現量の変化を Northern blot 解析により検討した。その結果、単離された遺伝子群はすべてが3T3-L1細胞の分化初期過程において発現していた。その一例を Fig. 4 に示した。Ras p21 protein activator 3 や caveolin-1 $\beta$  のように TCL/TC10 $\beta$ L と同様に誘導3時間後に一過性に発現が増加するものや cellular thyroid hormone binding protein p55 (CTHBP), integrin  $\beta$  subunit などのように TCL/TC10 $\beta$ L の発現より少し遅れて6時間以降に発現が最大となる因子が存在していることが明らかとなった。<sup>13)</sup>

これらの結果から、TCL/TC10 $\beta$ L が脂肪細胞分化過程において今回単離した遺伝子群の発現を調節

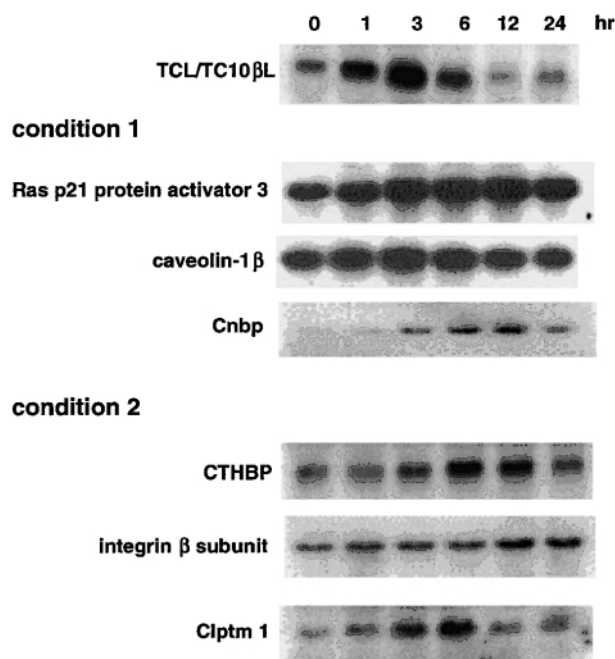


Fig. 4. Expression Patterns of Genes Isolated from the TCL/TC10 $\beta$ L-Expressing Cell Line

Total RNA was prepared from mouse 3T3-L1 cells at various times after treatment with inducers. The total RNA (20  $\mu$ g) was loaded, and the filter was hybridized with each probe.

していることが示唆された。また、得られた遺伝子群の脂肪細胞分化初期過程における発現の変化は様々なパターンを示したことから、これらの遺伝子は

異なった経路で TCL/TC10 $\beta$ L により誘導され、脂肪細胞分化過程において機能を果たしていることが考えられた。

本検討により得られた遺伝子群の発現が、TCL/TC10 $\beta$ L を含む Rho ファミリーによって制御されていると言う報告はこれまでない。今後、単離された遺伝子群のプロモーターについて検討していく必要がある。また、これらの因子が脂肪細胞分化にどのように関わっているのかについてさらなる検討が必要と思われる。

## 7. おわりに

本研究の検討結果を踏まえ、TCL/TC10 $\beta$ L 及び RGS2 の脂肪細胞分化過程における役割についてまとめた (Fig. 5)。前駆脂肪細胞から脂肪細胞への分化に際し、まず TCL/TC10 $\beta$ L 並びに RGS2 が極めて初期に一過性に発現し、PPAR $\gamma$  のリガンドに依存して、PPAR $\gamma$  の発現量を増加させることにより、脂肪細胞への分化を強く誘導すると考えられる。その一方でセンス mRNA 発現細胞を用いた検討から、C/EBP $\alpha$  ファミリーへの関与は弱いと考えられた。また、TCL/TC10 $\beta$ L は脂肪細胞分化過程において多くの遺伝子の発現を制御している可能性も示唆された。これまで、脂肪細胞の分化には PPAR $\gamma$  と C/EBP $\alpha$  はともに必要であると考えられていたが、最近になり PPAR $\gamma$  は分化に必須であるが、C/EBP $\alpha$  は直接関与しないという報告が出された。<sup>17)</sup> 本研究はその報告を支持するものであると考えられる。

近年、脂肪細胞分化メカニズムの解明は急速に進

められている。CREB (cAMP-response element-binding protein) のリン酸化が脂肪細胞分化過程の極めて初期に起こり、脂肪細胞分化を正に制御していること、<sup>18)</sup> さらに、Wnt が脂肪細胞分化を抑制していることも報告された。<sup>19)</sup> しかしながら、分化初期における情報伝達のカスケードは依然として未解明の部分が多く残されている。脂肪細胞分化は、非常に複雑なメカニズムによって巧みな制御のもとに進行していると考えられるが、今後、TCL/TC10 $\beta$ L, RGS2 を含め、分化初期に発現が増加する遺伝子群について、脂肪細胞分化初期過程における機能を解析することにより、脂肪細胞分化初期のシグナル伝達ネットワークが明らかにされることが期待される。

**謝辞** 本総説で紹介した研究の成果は、大阪大学大学院薬学研究科微生物動態学分野及び名古屋市立大学大学院薬学研究科分子生物薬学分野で行われたものであり、終始あたたかい御指導、御鞭撻を賜りました西原 力教授、今川正良教授に深甚なる謝意を表します。また、本研究において終始御指導、御協力いただきました両研究室の皆様にご心より御礼申し上げます。

## REFERENCES

- 1) Rosen E. D., Walkey C. J., Puigserver P., Spiegelman B. M., *Genes Develop.*, **14**, 1293–1307 (2000).
- 2) Tontonoz P., Hu E., Spiegelman B. M., *Cell*,

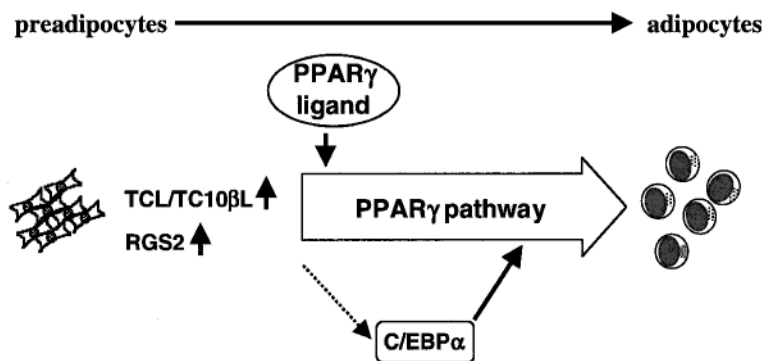


Fig. 5. The Possible Roles of TCL/TC10 $\beta$ L and RGS2 in Adipogenesis

TCL/TC10 $\beta$ L and RGS2 were induced at the early stage of adipocyte differentiation. These genes seem to promote PPAR $\gamma$  pathway, in which the expression of many adipogenic genes are regulated, in the presence of endogenous or exogenous PPAR $\gamma$  ligand. As a result, the preadipocytes differentiate into adipocytes. The effects of TCL/TC10 $\beta$ L and RGS2 on C/EBP $\alpha$  signaling were very weak.

- 79, 1147–1156 (1994).
- 3) Lin F.-T., Lane M. D., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **91**, 8757–8761 (1994).
  - 4) Tanaka T., Yoshida N., Kishimoto T., Akira S., *EMBO J.*, **16**, 7432–7443 (1997).
  - 5) Kubota N., Terauchi Y., Miki H., Tamemoto H., Yamauchi T., Komeda K., Satoh S., Nakano R., Ishii C., Sugiyama T., Eto K., Tsubamoto Y., Okuno A., Murakami K., Sekihara H., Hasegawa G., Naito M., Toyoshima Y., Tanaka S., Shiota K., Kitamura T., Fujita T., Ezaki O., Aizawa S., Nagai R., Tobe K., Kimura S., Kadowaki T., *Mol. Cell*, **4**, 597–609 (1999).
  - 6) Imagawa M., Tsuchiya T., Nishihara T., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **254**, 299–305 (1999).
  - 7) Nishizuka M., Tsuchiya T., Nishihara T., Imagawa M., *Biochem. J.*, **361**, 629–633 (2002).
  - 8) Russo J. J., Manuli M. A., Ismail-Beigi F., Sweadner K. J., Edelman I. S., *Am. J. Physiol.*, **259**, 968–977 (1990).
  - 9) Dani C., Doglio A., Amri E.-Z., Bardon S., Fort P., Bertrand B., Grimaldi P., Alilhaud G., *J. Biol. Chem.*, **264**, 10119–10125 (1989).
  - 10) Kitamura A., Nishizuka M., Tominaga K., Tsuchiya T., Nishihara T., Imagawa M., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **287**, 435–439 (2001).
  - 11) Vignal E., De Toledo M., Comunale F., Ladopoulou A., Gauthier-Rouviere C., Blangy A., Fort P., *J. Biol. Chem.*, **275**, 36457–36464 (2000).
  - 12) Chiang S. H., Hou J. C., Hwang J., Pessin J. E., Saltiel A. R., *J. Biol. Chem.*, **277**, 13067–13073 (2002).
  - 13) Nishizuka M., Arimoto E., Tsuchiya T., Nishihara T., Imagawa M., *J. Biol. Chem.*, **278**, 15279–15284 (2003).
  - 14) Seok C., Hyun-Ju K., Yoo-Seung K., Seong-Woo J., Yang I. K., William F. S., Jae-Wook O., Seung-Yeal N., *J. Biol. Chem.*, **276**, 48797–48802 (2001).
  - 15) Scott P. H., Han L., Jennifer L. B., Kendall J. B., *J. Biol. Chem.*, **276**, 14195–14203 (2001).
  - 16) Nishizuka M., Honda K., Tsuchiya T., Nishihara T., Imagawa M., *J. Biol. Chem.*, **276**, 29625–29627 (2001).
  - 17) Rosen E. D., Hsu C. H., Wang X., Sakai S., Freeman M. W., Gonzalez F. J., Spiegelman B. M., *Genes Develop.*, **16**, 22–26 (2002).
  - 18) Reusch J. E., Colton L. A., Klemm D. J., *Mol. Cell Biol.*, **20**, 1008–1020 (2000).
  - 19) Ross S. E., Hemati N., Longo K. A., Bennett C. N., Lucas P. C., Erickson R. L., MacDougald O. A., *Science*, **289**, 950–953 (2000).