

プロスタグランジンによる脂肪細胞分化制御の分子機構

藤 森 功*

はじめに

生活習慣病は日常の様々な生活習慣が原因となり発症する疾患の総称である。先進国では日常的な栄養過多や運動不足により肥満となり、さらに肥満に起因する種々の代謝異常疾患などの発症・進展が社会問題となっている。米国では4~5人に一人はメタボリックシンドローム(内臓脂肪症候群)であると言われ、日本でもその数は年々増えつつある。

肥満状態では脂肪細胞に脂肪が過剰蓄積され、細胞は風船のように膨らんでいる。一方で、脂肪組織は生体のエネルギーの恒常性を調節する上で重要であり、また、様々なホルモンなどの生理活性物質(アディポサイトカイン)を分泌する最大の内分泌器官としての働きもある。肥満の進展はホルモンや増殖因子などの制御因子により、高度に、かつ複雑に制御されている。脂質メディエーターのプロスタグランジン(prostaglandin; PG)は肥満を制御する因子の一つである。本稿では、プロスタグランジンによる脂肪細胞の分化制御に関する最新の知見を紹介する。

1. プロスタグランジンの生合成

生体内で多彩な生理機能を有するプロスタグランジンの生合成は、まず細胞質型ホスホリパーゼA₂(cytosolic phospholipase A₂; cPLA₂)の働きにより、生体膜のグリセリン脂質からアラキドン酸が遊離され、次いでシクロオキシゲナーゼ(cyclooxygenase; COX)により、プロスタグランジン類の共通の基質であるPGH₂に変換される。それぞれのプロスタグランジンはPGH₂を基質として特異的なプロスタグランジン最終合成酵素により合成される(図1)。さらに、合成されたプロスタグランジンは標的細胞の細胞膜の特異的なプロスタグランジン受容体に結合し、様々なシグナルを細胞内に伝達するこ

とにより多彩な生理作用を発揮する。

2. PGD₂による肥満進展の活性化

PGD₂は強力な内在の睡眠誘発物質として知られ、PGD₂受容体であるDP1およびDP2(CRTH2)受容体に結合することにより、様々な生理機能を発揮する。PGD₂の9位と11位の2重結合は非酵素的に脱水され、 Δ^{12} -PGJ₂や15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂(15d-PGJ₂)に代謝される。1995年に、15d-PGJ₂が核内受容体 peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) γ のリガンドとして機能し、インビトロ実験において脂肪細胞を分化誘導することが報告された^{1,2)}。しかしながら、これまでに実際に生体内でPGD₂から変換された15d-PGJ₂が脂肪細胞の分化に関与する報告はない。また、PPAR γ の活性化にはマイクロモルオーダーの非生理的な高濃度の15d-PGJ₂が必要とされるが、脂肪細胞では極めて微量の15d-PGJ₂しか検出されないという報告がなされており^{3,4)}、脂肪細胞における15d-PGJ₂の生理学的な機能については否定的な意見が多い。最近、PGD₂の代謝物である Δ^{12} -PGJ₂が脂肪細胞の培養液中に存在することが報告された⁵⁾。我々も、LC-MS/MS法により解析し、 Δ^{12} -PGJ₂が分化した脂肪細胞の培養液中に多量に、かつ安定に存在することが分かった。 Δ^{12} -PGJ₂はPPAR γ に結合できることから、PPAR γ の活性化を介して脂肪細胞の分化を促進すると考えられる。

脂肪細胞においてPGD₂は、リポカリン型PGD合成酵素(lipocalin-type PGD synthase; L-PGDS)によって合成され、L-PGDSの発現レベルはマウス脂肪細胞3T3-L1細胞の分化の進展とともに上昇した(図2A)⁶⁾。また、ヒト内臓脂肪および皮下脂肪組織由来の初代培養細胞においても、L-PGDSの発現レベルは分化の進展とともに

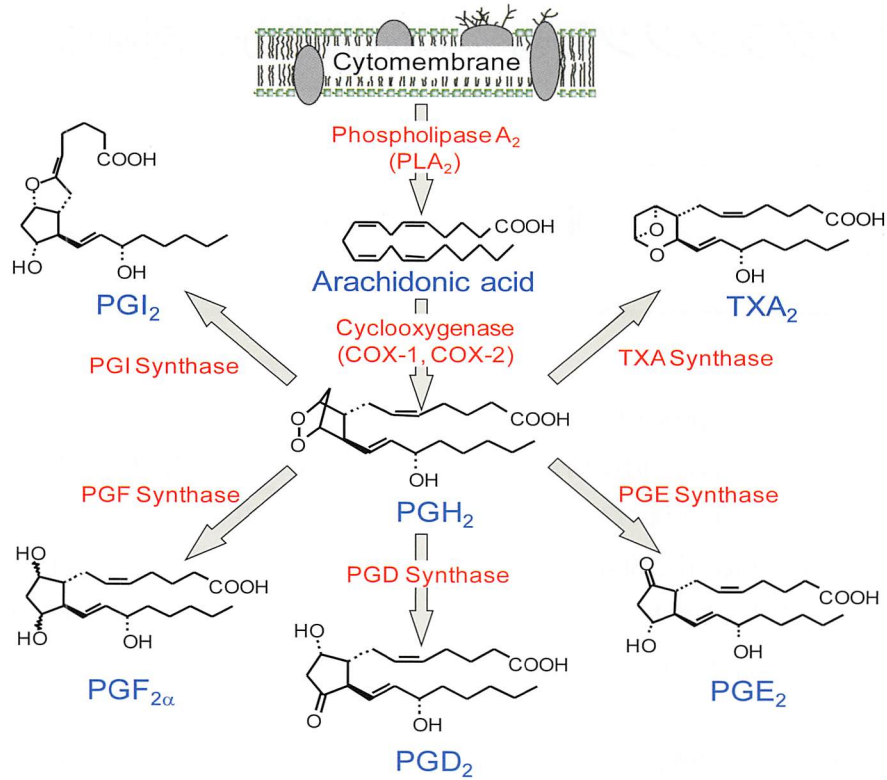
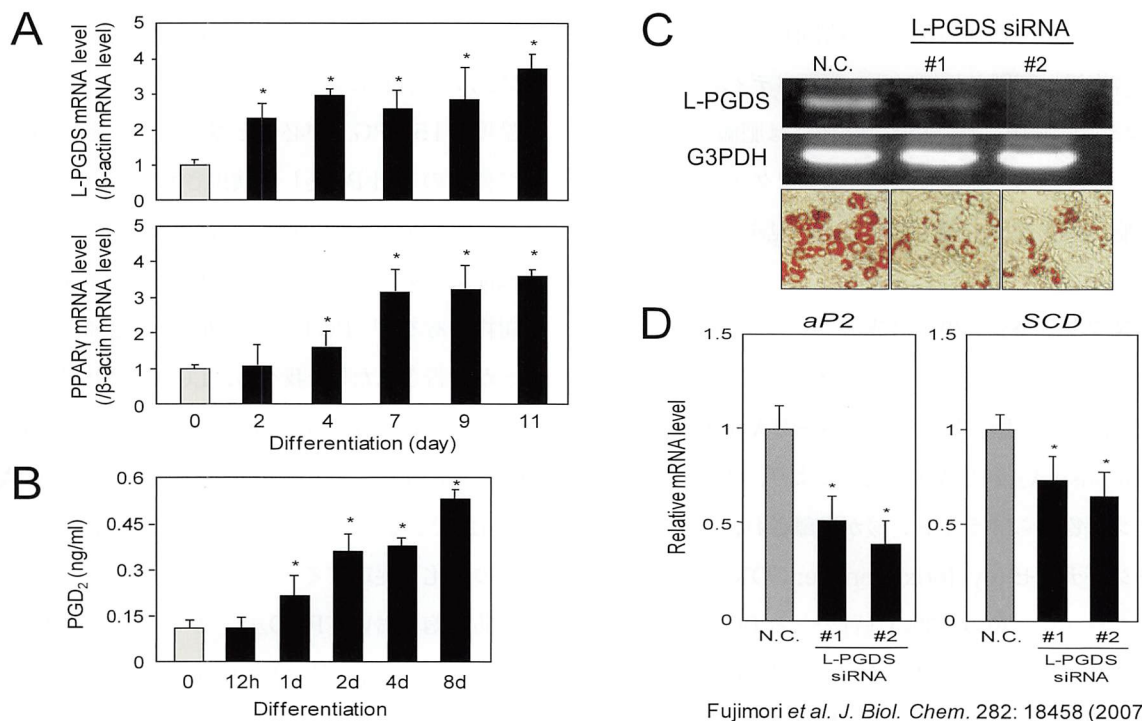


図1 プロスタグランジン合成経路

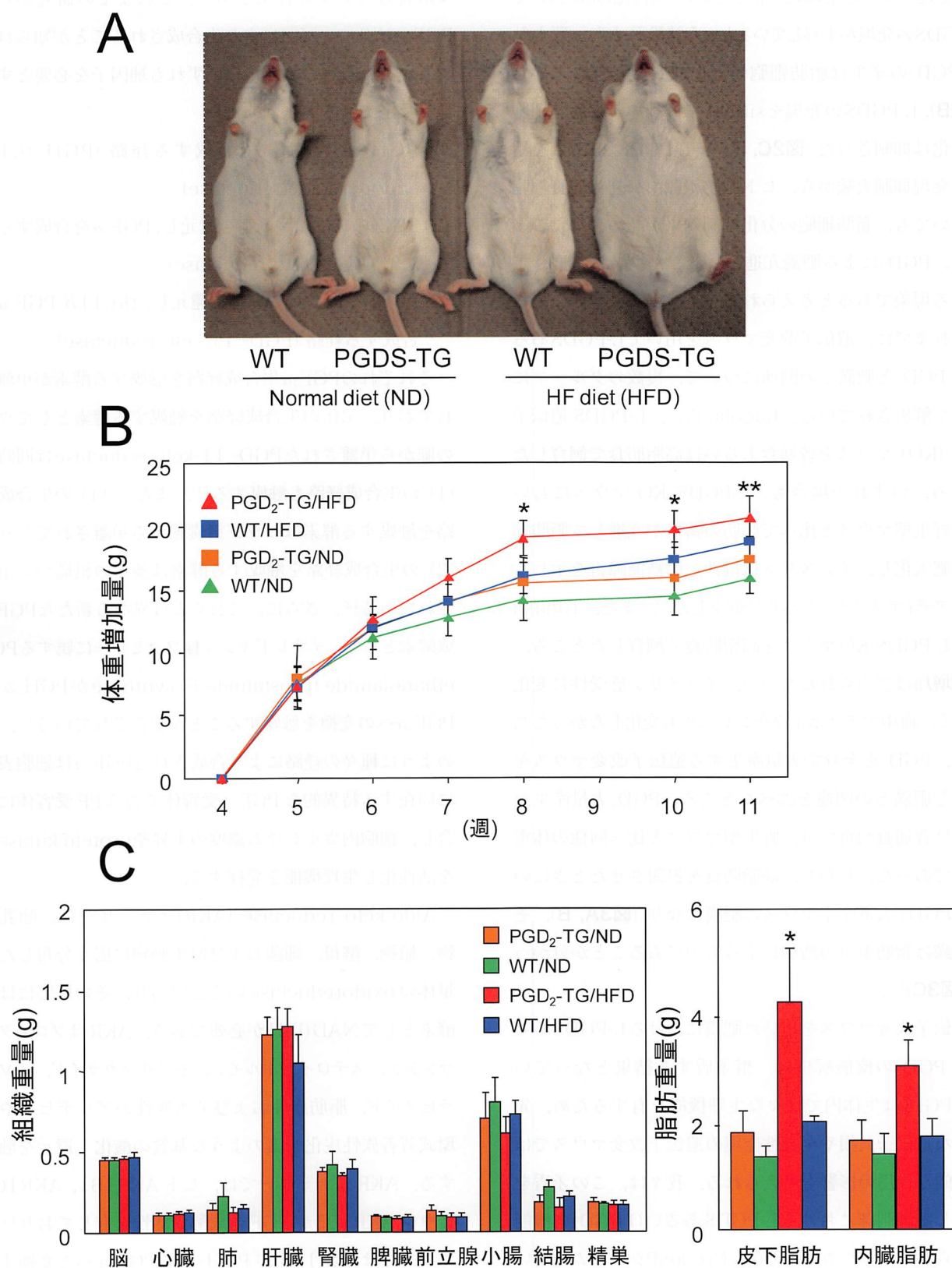
PGI₂; prostacyclin, TXA₂; thromboxane



Fujimori et al. J. Biol. Chem. 282: 18458 (2007)

図2 3T3-L1細胞の脂肪細胞への分化におけるL-PGDSの役割

A. 脂肪細胞の分化過程におけるL-PGDSとPPAR γ 遺伝子のmRNA発現レベルの変化。B. 脂肪細胞の分化過程におけるPGD₂産生量。C. L-PGDSのsiRNAによるノックダウンと細胞内の脂肪滴蓄積量の減少 (Oil Red O 染色)。D. L-PGDSの発現をノックダウンした脂肪細胞における脂肪細胞分化マーカー遺伝子の発現。



Fujitani *et al.* *FEBS J.* 277: 1410 (2010)

図3 PGD₂大量産生マウスの解析

A. 普通食 (Normal diet; ND) と高脂肪食 (High-fat diet; HFD) により離乳後、7週間飼育したPGD₂大量産生マウス (PGDS-TG) および野生型マウス (WT)。B. Aで飼育したマウスの体重増加の推移。C. Aで飼育したマウスの組織重量およびX線CT装置により定量した脂肪重量。

上昇した。この結果は肥大化したヒトの脂肪組織において L-PGDS の発現が上昇しているという結果⁷⁾とも一致する。

PGD₂ の産生は脂肪細胞の分化進展とともに上昇し (図2B), L-PGDS の発現を siRNA で抑制すると脂肪細胞の分化は抑制された (図2C, D)⁶⁾。L-PGDS siRNA を用いた発現抑制実験から、ヒト脂肪組織由来初代培養細胞においても、脂肪細胞の分化抑制効果が認められたことから、PGD₂ による肥満亢進はヒトとマウスに共通して起こる現象であると考えられる。

これまでに、遺伝子改変マウスを用いて L-PGDS あるいは PGD₂ と肥満との関連について、複数のグループによって解析されている。Ragolia らは、L-PGDS 遺伝子欠損 (KO) マウスを普通食あるいは高脂肪食で飼育したところ、いずれの場合も、L-PGDS KO マウスにおいて、野生型マウスと比べて脂肪の蓄積が亢進して脂肪細胞は肥大化し、インスリン抵抗性、耐糖能障害を示し、血中アディポネクチンレベルは低下した⁸⁾。また、Tanaka らは L-PGDS KO マウスを高脂肪食で飼育したところ、体重増加は認められたものの、インスリン感受性に変化はなく、血中アディポネクチンレベルも変化しなかった⁹⁾。一方、PGD₂ を全身で大量産生する遺伝子改変マウスを作製し肥満との関連を調べたところ、PGD₂ 大量産生マウスは普通食飼育では、野生型マウスと比べ同様の体重増加であった。しかし、高脂肪食を摂餌させたときのみ、PGD₂ 大量産生マウスは肥満になり (図3A, B), その肥満は脂肪重量の増加によるものであることが分かった (図3C)¹⁰⁾。

遺伝子改変マウスを用いた肥満における L-PGDS あるいは PGD₂ の機能解析は、相矛盾する結果となっている。PGD₂ は生体内で様々な生理機能を有するため、先天的な遺伝子欠損や全身性発現の遺伝子改変マウスでは副次的な作用の影響も考えられる。我々は、この矛盾を解決し肥満制御における L-PGDS あるいは PGD₂ の機能を明らかにするために、現在、Cre-loxP システムを用いて脂肪細胞特異的に L-PGDS 遺伝子を欠損させたマウスの解析を行っている。

3. PGF_{2α} による脂肪細胞の分化初期の進展抑制

PGF_{2α} は最も早く発見されたプロスタグランジンの 1 つであり、血管収縮、子宮筋肉の収縮、黄体退縮や気管

支収縮などの生理作用がある。これまでの研究から、PGF_{2α} は 3 つの経路により生合成されることが知られており、これら 3 つの経路はいずれも補因子を必要とする還元反応である。

- (1) PGH₂ から PGF_{2α} を合成する経路 (PGH₂ 9,11-endoperoxide reductase)
- (2) PGE₂ の 9 位のケト基を還元し、PGF_{2α} を合成する経路 (PGE₂ 9-keto-reductase)
- (3) PGD₂ の 11 位のケト基を還元し、9α,11β-PGF_{2α} を合成する経路 (PGD₂ 11-keto-reductase)

それぞれの PGF_{2α} 生合成経路を触媒する酵素が単離されており、(3) の生合成経路を触媒する酵素としてウシの肺から単離された PGD₂ 11-keto-reductase は同時に (1) の生合成経路も触媒する¹¹⁾。また、(1) の生合成経路を触媒する酵素はヒツジ精囊腺から単離されており、(2) の生合成経路を触媒する酵素は多くの組織から単離されている¹²⁾。さらに、これらとは異なる新たな PGF 合成酵素として、チオレドキシン様ファミリーに属する PGF ethanolamide (prostamide F) synthase が PGH₂ から PGF_{2α} への変換を触媒することが報告されている¹³⁾。このように種々の経路により合成された PGF_{2α} は細胞表面に局在する特異的な PGF_{2α} 受容体である FP 受容体に結合し、細胞内カルシウム濃度の上昇や protein kinase C を活性化し生理機能を発揮する。

Aldo-keto reductase (AKR) ファミリーは、哺乳動物、植物、酵母、細菌および原生動物に広く分布した単量体の oxidoreductase のことであり、その反応には補酵素として NAD(P)H が必要である。AKR はプロスタグランジン、ステロイドホルモン、モノサッカライド、イソフラビノイド、脂肪族性および芳香族性のアルデヒドや多環式芳香族性炭化水素のような基質の酸化・還元を触媒する。AKR ファミリーでは、ヒト AKR1B1, AKR1C3 とウシ AKR1B5 が PGF 合成酵素活性を有しており¹⁴⁾、マウスでは AKR1B3 が PGH₂ から PGF_{2α} へと変換する PGF 合成酵素活性を有している¹⁵⁾。

(1) 脂肪細胞における AKR1B3 の機能解析¹⁶⁾

マウス前駆脂肪細胞 3T3-L1 細胞を分化誘導し、AKR1B3 遺伝子の発現レベルの経時変化を定量 PCR により測定した。AKR1B3 遺伝子は未分化の脂肪細胞にお

いて発現しており、その発現レベルは分化開始とともに上昇し、分化開始1日後をピークとして急減し、以降低い発現レベルとなった (図4A)。また、AKR1Bファミリー内の相同性は極めて高い(アミノ酸レベルの相同性: 92.7~97.8%) が、マウス AKR1B ファミリーである AKR1B7, 1B8 および 1B10 遺伝子の脂肪細胞における発現レベルは、AKR1B3 の発現レベルと比較していずれも10分の1以下と低かった。

脂肪細胞における AKR1B3 の機能を調べるために、AKR1B3 に対する siRNA を用いてノックダウン実験を行った。AKR1B3 siRNA をトランスフェクションした細胞では細胞内の脂肪滴蓄積量は明らかに増加した (図4B)。さらに、培養液中の $\text{PGF}_{2\alpha}$ レベルを測定したところ、AKR1B3 siRNA をトランスフェクションした細胞では、Negative control (N.C.) siRNA をトランスフェクションした細胞と比べ、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ の産生レベルが有意に低

下した (図4C)。また、他の AKR1B ファミリーである AKR1B8 や 1B10 の発現を抑制しても $\text{PGF}_{2\alpha}$ の産生レベルには影響しなかった (図4C)。さらに、AKR1B3 siRNA をトランスフェクションした細胞では、脂肪細胞の分化時に発現誘導される aP2 (fatty acid binding protein 4) と stearoyl-CoA desaturase (SCD) 遺伝子の発現レベルはいずれも上昇していた (図4D)。以上の結果は、AKR1B3 が脂肪細胞における PGF 合成酵素であり、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ の産生を介して、脂肪細胞の分化を抑制していることを示している。

(2) 脂肪細胞におけるFP受容体を介したシグナル伝達経路¹⁷⁾

$\text{PGF}_{2\alpha}$ はその受容体である FP 受容体を介して、脂肪細胞の分化制御の重要因子である核内受容体 $\text{PPAR}\gamma$ の機能を抑制することにより、脂肪細胞の分化進展を抑制する¹⁸⁻²¹⁾。そこで、脂肪細胞の分化制御における AKR1B3

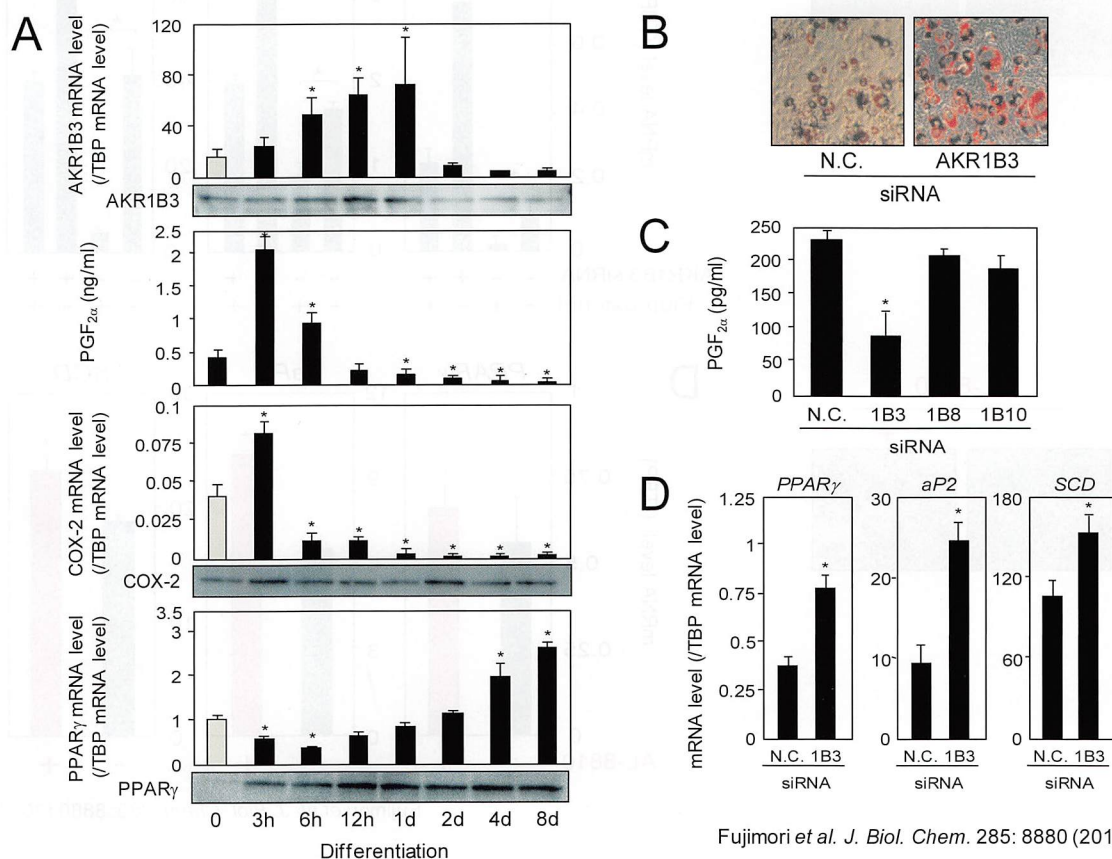


図4 脂肪細胞の分化と AKR1B3 の発現

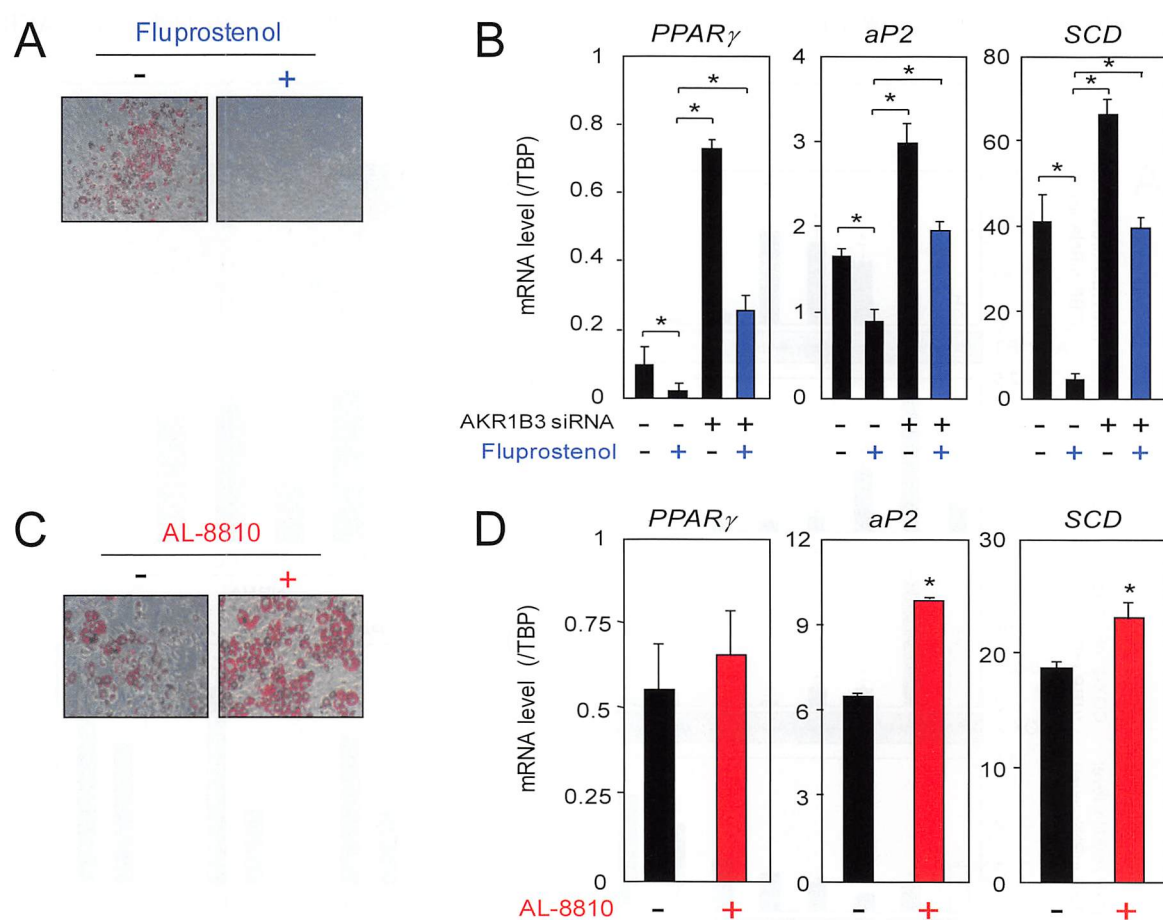
- A. 3T3-L1 細胞の脂肪細胞分化過程における AKR1B3, COX-2 および $\text{PPAR}\gamma$ 遺伝子の発現と $\text{PGF}_{2\alpha}$ の産生量の変化。
 B. 未分化及び分化させた脂肪細胞の Oil Red O 染色。 C. AKR1B3 のノックダウンによる $\text{PGF}_{2\alpha}$ の産生抑制。
 D. AKR1B3 ノックダウン細胞における脂肪細胞の分化マーカー遺伝子の発現亢進。

とFP受容体の関連を調べた。ここではPGF_{2α}アナログでFP受容体の安定な合成アゴニストであるFluprostenolを用いた。Fluprostenol存在下で3T3-L1細胞を脂肪細胞へと分化誘導すると、Fluprostenolを加えていない場合と比べて、オイルレッドOにより染色される細胞内の脂肪滴蓄積量は減少し、脂肪細胞の分化は抑制された(図5A)。この結果は、PGF_{2α}がFP受容体を介して脂肪細胞の分化を抑制するという結果と一致する¹⁸⁻²¹⁾。さらに、Fluprostenolを含む培地で培養した脂肪細胞における脂肪細胞分化マーカー遺伝子の発現を調べたところ、aP2やSCD 遺伝子の発現レベルは、Fluprostenolを加えていない時と比べ、いずれも有意に低下した。また、AKR1B3 siRNAをトランスフェクションしたときに見ら

れた脂肪細胞分化マーカー遺伝子の発現レベルの上昇はFluprostenolの添加により完全に抑制された(図5B)。

次に、PGF_{2α}がFP受容体を介した脂肪細胞の分化抑制に関与するかを調べた。FP受容体のアンタゴニストであるAL-8810を添加して、脂肪細胞へと分化誘導したところ、細胞内の脂肪滴蓄積量は増加し(図5C)、aP2やSCD 遺伝子の発現レベルは有意に上昇した(図5D)。これらの結果は、AKR1B3によって産生されたPGF_{2α}がFP受容体を介して脂肪細胞の分化を抑制することを示している。

PGF_{2α}がFP受容体に結合すると、phospholipase Cが活性化され細胞内カルシウムレベルが上昇する。脂肪細胞にFluprostenolを加えて培養すると、1時間以内に



Fujimori et al. J. Biol. Chem. 285: 8880 (2010)

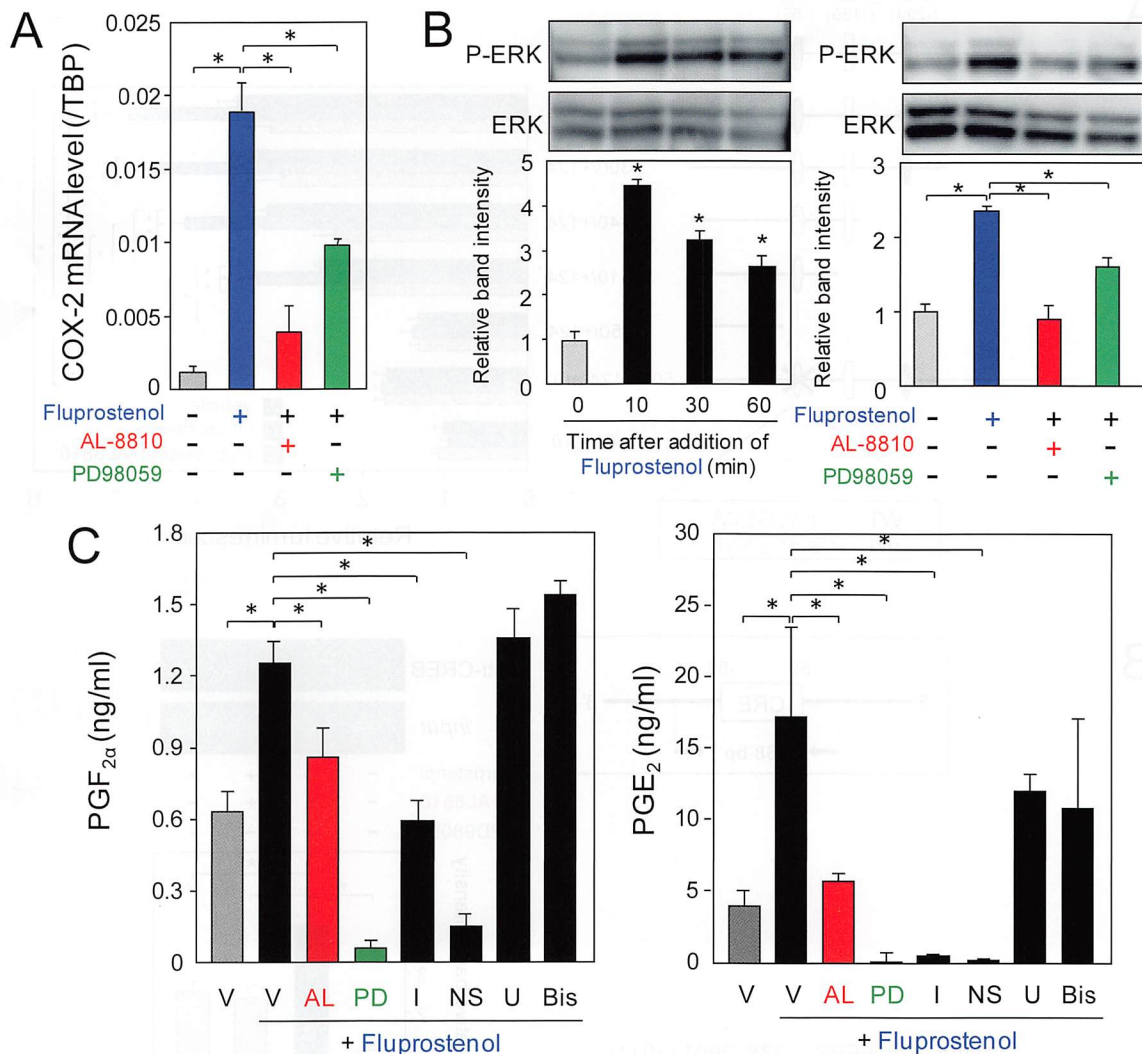
図5 AKR1B3 (PGF 合成酵素) -FP 受容体経路による脂肪細胞の分化抑制

A. FP 受容体アゴニスト, Fluprostenol による脂肪細胞の分化抑制 (Oil Red O 染色). B. Fluprostenol による脂肪細胞の分化マーカー遺伝子の発現抑制. C. FP 受容体アンタゴニスト, AL-8810 による脂肪細胞の分化亢進 (Oil Red O 染色). D. AL-8810 による脂肪細胞の分化マーカー遺伝子の発現亢進.

COX-2の発現が上昇し、この上昇はAL-8810やMEK阻害剤であるPD98059により抑制された(図6A)。FluprostenolによるERKのリン酸化は10分以内に起こり(図6B),そのリン酸化はAL-8810やPD98059により消失した。さらに、脂肪細胞をFluprostenol存在下で培養すると、PGF_{2α}やPGE₂の産生が増強され、その産生増強はAL-8810やPD98059により抑制された(図6C)。以上の結果は、PGF_{2α}によって活性化されたFP受容体はMEK/ERK経路を活性化し、COX-2の発現を上昇させ、さらに、PGF_{2α}やPGE₂の産生を増強した。

次に、Fluprostenolにより活性化されるCOX-2遺伝子の発現調節機構をプロモーター・シフエラーゼアッセ

イおよびクロマチン免疫沈降法によって調べた。その結果、COX-2のプロモーターの転写開始点から59塩基上流に位置するCREB (cAMP response element-binding protein) の結合配列が必要であることが分かった(図7A, B)。つまり、PGF_{2α}はFP受容体に結合後、PPARγの機能抑制に働くだけでなく、FP受容体結合後、MEK/ERK経路を活性化し、さらにCREBを活性化することにより、COX-2遺伝子の発現が上昇し、抗肥満効果を有するプロスタグランジンであるPGF_{2α}やPGE₂の産生を増強するpositive feedback loopにより、より強く脂肪細胞の分化初期の進展を抑制する新たな制御機構が分かった。



Ueno et al. FEBS J. 278: 2901 (2011)

図6 PGF_{2α}によるMEK-ERK経路活性化を介したCOX-2発現上昇とPGE₂とPGF_{2α}の産生増強

A. FluprostenolによるCOX-2遺伝子の発現上昇のAL-8810およびPD98059による抑制。B. ERKリン酸化の経時変化とAL-8810およびPD98059による抑制。C. FP受容体とMEK/ERK経路活性化によるPGF_{2α}とPGE₂の産生増強。

4. PGE₂による脂肪細胞の分化抑制

PGE₂はPGF_{2α}と同様に脂肪細胞の分化を抑制することが知られている。脂肪細胞の分化過程におけるPGE₂の産生プロファイルはPGF_{2α}と非常に類似しており、脂肪細胞の分化初期に主に機能している。PGE₂はその受容体と結合することにより生理機能を発揮するが、PGE₂受容体にはEP1からEP4受容体までの4種類のサブタイプがあり、それぞれの受容体に結合しているGタンパク質の種類が異なり、受容体の下流のシグナル伝達異なる。脂肪細胞には、EP1とEP4受容体が発現しており、それぞれのEP受容体に特異的なアゴニストあるいはノックアウトマウスを用いた実験から、脂肪細胞の分化初期で

は主にEP4受容体が機能していることが分かった^{22, 23)}。EP4受容体が活性化されると、PPAR γ の機能が抑制され、脂肪細胞の分化は抑制に至る^{22, 24)}。最近、PGE₂もPGF_{2α}と同様に、EP4受容体の活性化により短時間のうちにCOX-2遺伝子の発現が上昇し、オートクラインでPGE₂やPGF_{2α}の産生を増強することが報告された²³⁾。

5. 他のプロスタグランジン合成酵素と肥満制御

プロスタサイクリンはプロスタサイクリン受容体を介して脂肪細胞の分化初期の進展を促進する²⁵⁻²⁷⁾。また、プロスタグランジン類の合成は、cPLA₂によって遊離したアラキドン酸を用いており、cPLA₂ KOマウスでは脂

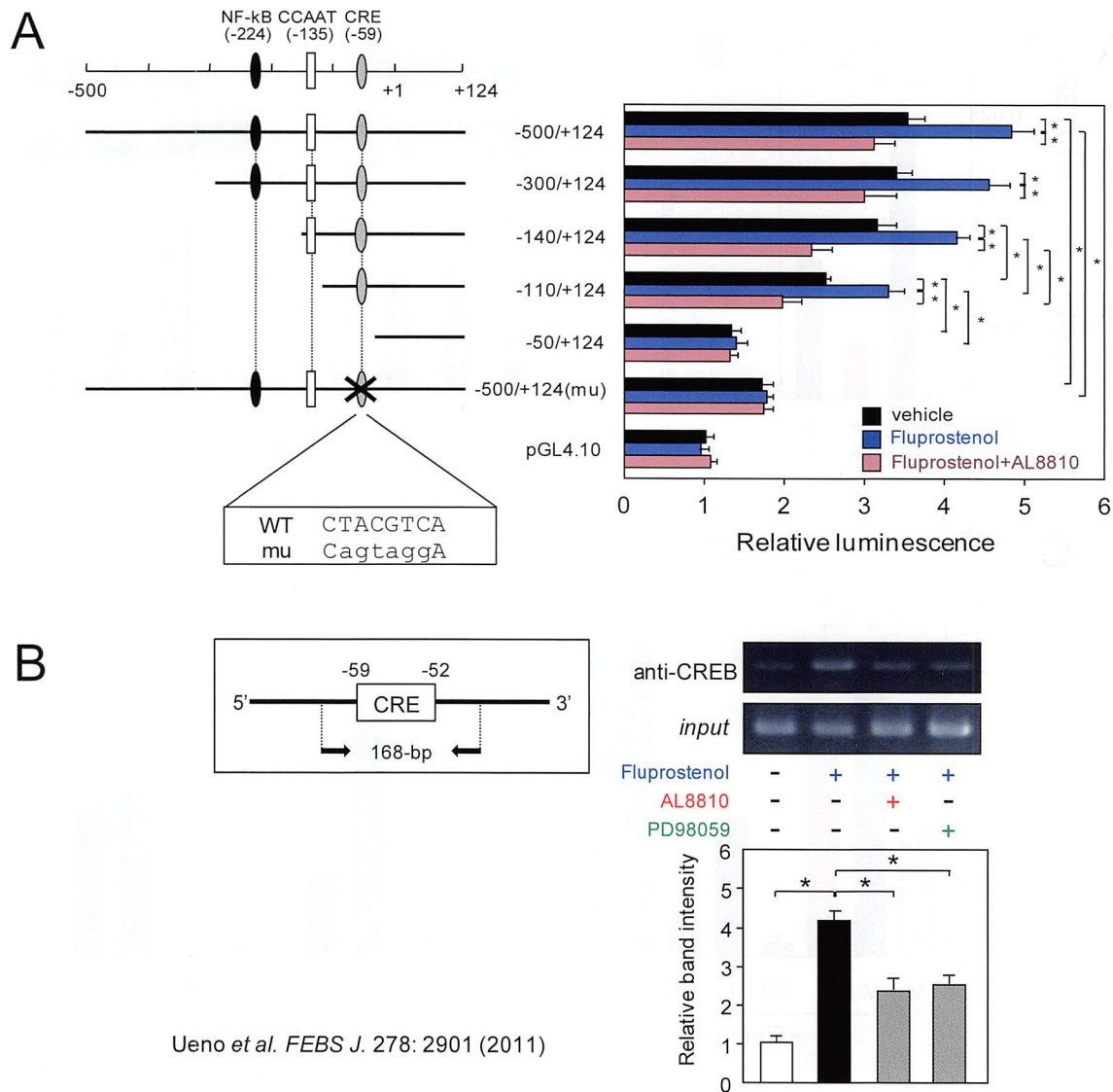


図7 脂肪細胞におけるAKR1B3遺伝子の発現調節機構

- 脂肪細胞におけるマウスAKR1B3遺伝子のプロモーター解析。
- クロマチン免疫沈降法によるマウスAKR1B3プロモーターのCREへのCREBの結合。

肪蓄積が抑制された²⁸⁾。一方、cPLA₂により遊離したアラキドン酸は、脂肪組織では主にCOX-2によりPGH₂に変換されるが、COX-2ヘテロ欠損マウスは体重増加し、欠損マウスではPGE₂産生レベルが80%減少した²⁹⁾。また、最近、COX-2を白色脂肪細胞において過剰発現させると、白色脂肪細胞が褐色脂肪細胞へと変化してエネルギー消費が亢進し、高脂肪食を与えても肥満にならないことが報告された³⁰⁾。

おわりに

生体内におけるエネルギーのバランスは、生体の恒常性の維持の点からも重要である。しかしながら、栄養過多によるエネルギー余剰状態では、ホルモンや様々な因子による刺激が未分化の脂肪細胞を成熟脂肪細胞へと分化誘導し、脂肪細胞内に脂肪滴を蓄積するようになる。この成熟化過程には多くの制御因子が関与しており、そ

の一つが脂質メディエーターのプロスタグランジンである(図8)。

プロスタグランジンは、脂肪細胞の分化制御において、正・負の働きをするものがあり、これらが共存することから、脂肪細胞の分化制御におけるプロスタグランジンの役割は複雑である。実際、cPLA₂ KOマウスは脂肪蓄積が抑制されるが、COX-2の過剰産生は肥満を抑制するように、プロスタグランジン産生を抑制した時の肥満調節は異なる結果となっている。個々のプロスタグランジンによる脂肪細胞の分化制御機構については解明されてきたが、プロスタグランジン類がトータルで脂肪細胞の分化をどのように調節しているかは分かっていない。今後、プロスタグランジン類全体による脂肪細胞の分化制御機構の解明と脂肪組織特異的な遺伝子改変マウスの解析を通して、プロスタグランジン類による肥満制御の包括的な解析が必要である。これらの成果から糖尿

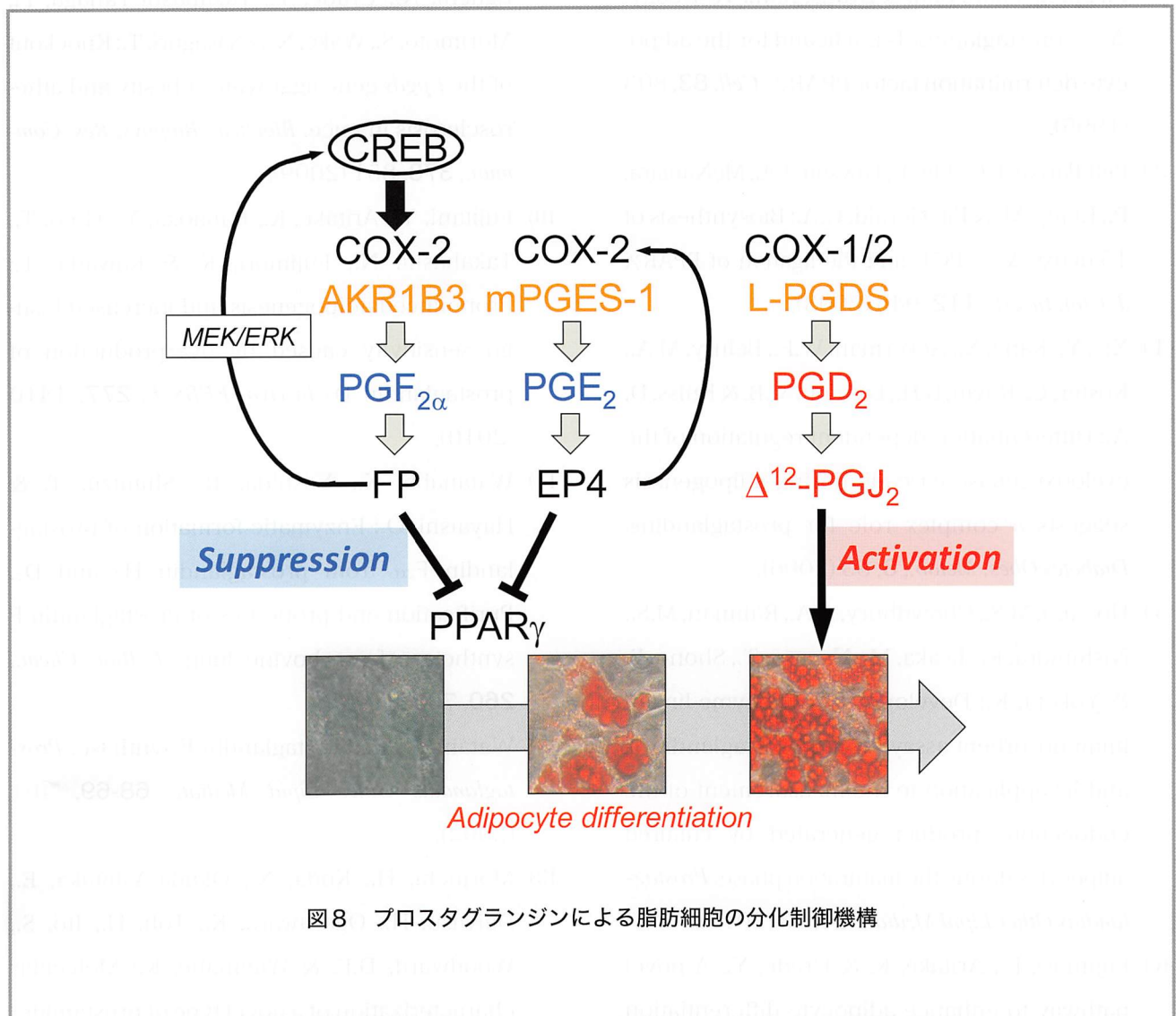


図8 プロスタグランジンによる脂肪細胞の分化制御機構

病や肥満などの生活習慣病の発症や進展メカニズムの解明や新たな治療標的分子の同定につながることを期待される。

謝 辞

本研究の一部は、公益財団法人日本応用酵素協会の助成を受けたものであり、ここに深く感謝の意を表します。

参考文献

- 1) Kliewer, S.A., Lenhard, J.M., Willson, T.M., Patel, I., Morris, D.C. & Lehmann, J.M.: A prostaglandin J₂ metabolite binds peroxisome proliferator-activated receptor γ and promotes adipocyte differentiation. *Cell*, **83**, 813 (1995).
- 2) Forman, B.M., Tontonoz, P., Chen, J., Brun, R. P., Spiegelman, B.M. & Evans, R.M.: 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂ is a ligand for the adipocyte determination factor PPAR γ . *Cell*, **83**, 803 (1995).
- 3) Bell-Parikh, L.C., Ide, T., Lawson, J.A., McNamara, P., Reilly, M. & FitzGerald, G.A.: Biosynthesis of 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂ and the ligand of PPAR γ . *J. Clin. Invest.*, **112**, 945 (2003).
- 4) Xie, Y., Kang, X., Ackerman, W.E., Belury, M.A., Koster, C., Rovin, B.H., Landon, M.B. & Kniss, D. A.: Differentiation-dependent regulation of the cyclooxygenase cascade during adipogenesis suggests a complex role for prostaglandins. *Diabetes Obes. Metab.*, **8**, 83 (2006).
- 5) Hossain, M.S., Chowdhury, A.A., Rahman, M.S., Nishimura, K., Jisaka, M., Nagaya, T., Shono, F. & Yokota, K.: Development of enzyme-linked immunosorbent assay for Δ^{12} -prostaglandin J₂ and its application to the measurement of the endogenous product generated by cultured adipocytes during the maturation phase. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*, **94**, 73 (2011).
- 6) Fujimori, K., Aritake, K. & Urade, Y.: A novel pathway to enhance adipocyte differentiation of 3T3-L1 cells by up-regulation of lipocalin-type prostaglandin D synthase mediated by liver X receptor-activated sterol regulatory element-binding protein-1c. *J. Biol. Chem.* **282**, 18458 (2007).
- 7) Quinkler, M., Bujalska, I.J., Tomlinson, J.W., Smith, D.M. & Stewart, P.M.: Depot-specific prostaglandin synthesis in human adipose tissue: a novel possible mechanism of adipogenesis. *Gene*, **380**, 137 (2006).
- 8) Ragolia, L., Palaia, T., Hall, C.E., Maesaka, J.K., Eguchi, N. & Urade, Y.: Accelerated glucose intolerance, nephropathy, and atherosclerosis in prostaglandin D₂ synthase knock-out mice. *J. Biol. Chem.*, **280**, 29946 (2005).
- 9) Tanaka, R., Miwa, Y., Mou, K., Tomikawa, M., Eguchi, N., Urade, Y., Takahashi-Yanaga, F., Morimoto, S., Wake, N. & Sasaguri, T.: Knockout of the *l-pgds* gene aggravates obesity and atherosclerosis in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **378**, 851 (2009).
- 10) Fujitani, Y., Aritake, K., Kanaoka, Y., Goto, T., Takahashi, N., Fujimori, K. & Kawada, T.: Pronounced adipogenesis and increased insulin sensitivity caused by overproduction of prostaglandin D₂ *in vivo*. *FEBS J.*, **277**, 1410 (2010).
- 11) Watanabe, K., Yoshida, R., Shimizu, T. & Hayaishi, O.: Enzymatic formation of prostaglandin F_{2 α} from prostaglandin H₂ and D₂. Purification and properties of prostaglandin F synthetase from bovine lung. *J. Biol. Chem.*, **260**, 7035 (1985).
- 12) Watanabe, K.: Prostaglandin F synthase. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*, **68-69**, 401 (2002).
- 13) Moriuchi, H., Koda, N., Okuda-Ashitaka, E., Daiyasu, H., Ogasawara, K., Toh, H., Ito, S., Woodward, D.F. & Watanabe, K.: Molecular characterization of a novel type of prostamide/

- prostaglandin F synthase, belonging to the thioredoxin-like superfamily. *J. Biol. Chem.*, **283**, 792 (2008).
- 14) Madore, E., Harvey, N., Parent, J., Chapdelaine, P., Arosh, J.A. & Fortier, M.A.: An aldose reductase with 20 alpha-hydroxysteroid dehydrogenase activity is most likely the enzyme responsible for the production of prostaglandin F_{2α} in the bovine endometrium. *J. Biol. Chem.*, **278**, 11205 (2003).
- 15) Kabututu, Z., Manin, M., Pointud, J.C., Maruyama, T., Nagata, N., Lambert, S., Lefrancois-Martinez, A.M., Martinez, A. & Urade, Y.: Prostaglandin F_{2α} synthase activities of aldo-keto reductase 1B1, 1B3 and 1B7. *J. Biochem.*, **145**, 161 (2009).
- 16) Fujimori, K., Ueno, T., Nagata, N., Kashiwagi, K., Aritake, K., Amano, F. & Urade, Y.: Suppression of adipocyte differentiation by aldo-keto reductase 1B3 acting as prostaglandin F_{2α} synthase. *J. Biol. Chem.*, **285**, 8880 (2010).
- 17) Ueno, T. & Fujimori, K.: Novel suppression mechanism operating in early phase of adipogenesis by positive feedback loop for enhancement of cyclooxygenase-2 expression through prostaglandin F_{2α} receptor mediated activation of MEK/ERK-CREB cascade. *FEBS J.*, **278**, 2901 (2011).
- 18) Casimir, D.A., Miller, C.W. & Ntambi, J.M.: Pre-adipocyte differentiation blocked by prostaglandin stimulation of prostanoid FP2 receptor in murine 3T3-L1 cells. *Differentiation*, **60**, 203 (1996).
- 19) Liu, L. & Clipstone, N.A.: Prostaglandin F₂ alpha inhibits adipocyte differentiation via a Gα_q-calcium-calcieneurin-dependent signaling pathway. *J. Cell. Biochem.*, **100**, 161 (2007).
- 20) Miller, C.W., Casimir, D.A. & Ntambi, J.M.: The mechanism of inhibition of 3T3-L1 preadipocyte differentiation by prostaglandin F_{2α}. *Endocrinology*, **137**, 5641 (1996).
- 21) Serrero, G. & Lepak, N.M.: Prostaglandin F_{2α} receptor (FP receptor) agonists are potent adipose differentiation inhibitors for primary culture of adipocyte precursors in defined medium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **233**, 200 (1997).
- 22) Tsuboi, H., Sugimoto, Y., Kainoh, T. & Ichikawa, A.: Prostanoid EP4 receptor is involved in suppression of 3T3-L1 adipocyte differentiation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **322**, 1066 (2004).
- 23) Inazumi, T., Shirata, N., Morimoto, K., Takano, H., Segi-Nishida, E. & Sugimoto, Y.: Prostaglandin E-EP4 signaling suppresses adipocyte differentiation in mouse embryonic fibroblasts via an autocrine mechanism. *J. Lipid Res.*, **52**, 1500 (2011).
- 24) Sugimoto, Y., Hasumoto, K., Namba, T., Irie, A., Katsuyama, M., Negishi, M., Kakizuka, A., Narumiya, S. & Ichikawa, A.: Cloning and expression of a cDNA for mouse prostaglandin F receptor. *J. Biol. Chem.*, **269**, 1356 (1994).
- 25) Aubert, J., Saint-Marc, P., Belmonte, N., Dani, C., Negrel, R. & Ailhaud, G.: Prostacyclin IP receptor up-regulates the early expression of C/EBPβ and C/EBPδ in preadipose cells. *Mol. Cell. Endocrinol.*, **160**, 149 (2000).
- 26) Vassaux, G., Gaillard, D., Ailhaud, G. & Negrel, R.: Prostacyclin is a specific effector of adipose cell differentiation. Its dual role as a cAMP- and Ca²⁺-elevating agent. *J. Biol. Chem.*, **267**, 11092 (1992).
- 27) Vassaux, G., Gaillard, D., Darimont, C., Ailhaud, G. & Negrel, R.: Differential response of preadipocytes and adipocytes to prostacyclin and prostaglandin E₂: physiological implications. *Endocrinology*, **131**, 2393 (1992).
- 28) Ii, H., Hatakeyama, S., Tsutsumi, K., Sato, T. & Akiba, S.: Group IVA phospholipase A₂ is asso-

ciated with the storage of lipids in adipose tissue and liver. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*, **86**, 12 (2008).

- 29) Fain, J.N., Ballou, L.R. & Bahouth, S.W.: Obesity is induced in mice heterozygous for cyclooxygenase-2. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*, **65**, 199 (2001).
- 30) Vegiopoulos, A., Muller-Decker, K., Strzoda, D., Schmitt, I., Chichelnitskiy, E., Ostertag, A., Berriel Diaz, M., Rozman, J., Hrabe de Angelis, M., Nusing, R.M., Meyer, C.W., Wahli, W., Klingenspor, M. & Herzig, S.: Cyclooxygenase-2 controls energy homeostasis in mice by de novo recruitment of brown adipocytes. *Science*, **328**, 1158 (2010).