

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25293211

研究課題名(和文) ヒトiPS細胞由来脂肪細胞を用いた脂肪萎縮症の成因解明と治療法開発の研究

研究課題名(英文) Elucidation of pathogenesis and development of therapy of lipodystrophy using human iPS cell-derived adipocytes

研究代表者

細田 公則 (Hosoda, Kiminori)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・部長

研究者番号：40271598

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,200,000円

研究成果の概要(和文)：SEIPINコードのBSCL2遺伝子は先天性全身性脂肪萎縮症の原因遺伝子である。BSCL2遺伝子変異日本人患者2名(E189XとR275X)からiPS細胞樹立。BSCL2-iPS細胞の胚様体形成法分化で脂肪蓄積著明低下とPPAR $\alpha$ 2遺伝子発現低下を認めた。免疫染色で健常者iPS細胞でADRPは細胞質内に小粒状に存在したが、BSCL2-iPS細胞でADRPは細胞質全体に一様に散在した。BSCL2-iPS細胞の野生型BSCL2遺伝子強制発現で脂肪蓄積能やADRP局在が回復した。共免疫沈降で野生型SEIPINはADRPと直接相互作用するが変異SEIPINはADRPと相互作用しなかった。

研究成果の概要(英文)：Congenital generalized lipodystrophy (CGL) is an autosomal recessive disorder characterized by marked scarcity of adipose tissue, extreme insulin resistance, hypertriglyceridemia, hepatic steatosis and early-onset diabetes. Mutation of the BSCL2/SEIPIN gene causes congenital generalized lipodystrophy. iPS cells were generated from two patients with CGL. Upon adipogenic differentiation, BSCL2-iPS cells exhibited marked reduction of lipid droplet formation concomitant with diffuse cytoplasmic distribution of ADRP, compared with iPS cells from healthy individuals. Forced expression of BSCL2 not only rescued the lipid accumulation defects, but also restored cytoplasmic punctate localization of ADRP in BSCL2-iPS cells. Coimmunoprecipitation indicated SEIPIN interacted with ADRP.

研究分野：内分泌代謝内科学

キーワード：seipin iPS細胞 脂肪細胞 脂肪萎縮症 インスリン抵抗性

1. 研究開始当初の背景

先天性全身性脂肪萎縮症は、全身脂肪組織の欠如に伴い、著明なインスリン抵抗性糖尿病、高中性脂肪血症、脂肪肝等を呈する常染色体劣性遺伝疾患である。BSCL2 遺伝子は先天性脂肪萎縮症の原因遺伝子の一つであり、SEIPIN をコードしている。マウス細胞やノックアウトマウスを用いて SEIPIN の機能解析が行われてきたが、Bslc2 ノックアウトマウスは脂肪萎縮の程度や糖尿病が軽度であるなど表現型に種差があり、ヒト試料を用いた解析モデルが欠知していることが問題であり、SEIPIN の機能は不明であった。

2. 研究の目的

今回、我々は BSCL2 遺伝子に変異を有する日本人患者 2 名(EI89X 変異および R275X 変異)から iPS 細胞 (BSCL2-iPS 細胞) を樹立し機能解析した。

3. 研究の方法

SCL2 遺伝子に変異を有する日本人患者 2 名 (EI89X 変異および R275X 変異) から iPS 細胞 (BSCL2-iPS 細胞) を樹立し、BSCL2-iPS 細胞を胚様体形成法で分化させ、解析した。

4. 研究成果

BSCL2-iPS 細胞を胚様体形成法で分化させたところ、健常者由来 iPS 細胞に比べ、BSCL2-iPS 細胞では脂肪蓄積の著明な低下と PPAR 2 遺伝子発現低下を認めた。免疫染色による検討では、健常者由来の iPS 細胞において ADRP(adipose differentiation-related protein) は細胞質内に小粒状に存在していたが、BSCL2-iPS 細胞では ADRP は細胞質全体に一樣に散在していた。BSCL2-iPS 細胞へ野生型 BSCL2 遺伝子を強制発現させたところ、脂肪蓄積能や ADRP の細胞質内の小粒状の局在が回復した。また、共免疫沈降により野生型 SEIPIN は ADRP と直接相互作用を有するが、変異 SEIPIN は ADRP と相互作用をしないことが明らかとなった。以上の結果から SEIPIN は ADRP と結合し、ADRP の細胞内局在を変化させることにより脂肪滴合成に関与している可能性が示唆された。BSCL2-iPS 細胞はヒトにおける脂肪萎縮症の病態を再現し、疾患メカニズムを解析できるモデルとして重要なツールとなりうることを示唆された。

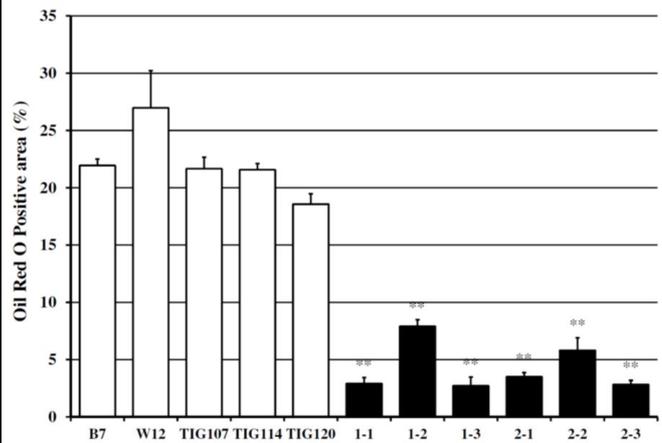


図 Oil Red O 染色を用いた健常者由来ヒト iPS 細胞からの分化誘導された脂肪細胞 (左側 open bar) と BSCL2 遺伝子異常脂肪萎縮症患者由来 iPS 細胞からの分化誘導された脂肪細胞 (右側 closed bar) における脂肪蓄積の検討

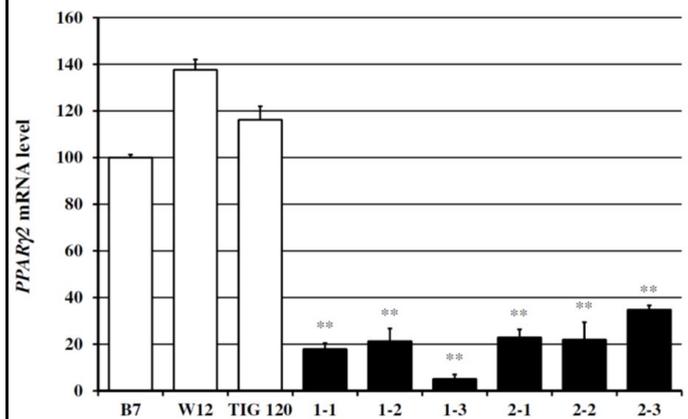


図 健常者由来ヒト iPS 細胞からの分化誘導された脂肪細胞 (左側 open bar) と BSCL2 遺伝子異常脂肪萎縮症患者由来 iPS 細胞からの分化誘導された脂肪細胞 (右側 closed bar) における PPARγ2 遺伝子発現の検

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 6 件)

M. Aizawa-Abe, K. Ebihara, C. Ebihara, T. Mashimo, A. Takizawa, T. Tomita, T. Kusakabe, Y. Yamamoto, D. Aotani, S. Yamamoto-Kataoka, T. Sakai, K. Hosoda, T. Serikawa, K. Nakao, Generation of leptin-deficient Lepmkyo/Lepmkyo rats and identification of leptin-responsive genes in the liver. *Physiol Genomics*. 45(17) 786-793, 2013, 査読有

DOI:10.1152/physiolgenomics.00040.2013

S. H. Chew, Y. Okazaki, H. Nagai, N. Misawa, S. Akatsuka, K. Yamashita, L. Jiang, Y. Yamashita, M. Noguchi, K. Hosoda, Y. Sekido, T. Takahashi, S. Toyokuni,  
Cancer-promoting role of adipocytes in asbestos-induced mesothelial carcinogenesis through dysregulated adipocytokine production. *Carcinogenesis*. 35(1)164-172, 2013, 査読有  
DOI: 10.1093/carcin/bgt267

M. Noguchi, K. Hosoda, E. Mori, M. Nakane, K. Nakao, D. Taura, Y. Yamamoto, T. Kusakabe, M. Sone, H. Sakurai, J. Fujikura, K. Ebihara, K. Nakao,  
In vitro characterization and engraftment of adipocytes derived from human induced pluripotent stem cells and embryonic stem cells. *Stem Cells and Development*. 22(21)2895-2905, 2013, 査読有  
DOI: 10.1089/scd.2013.0113

M. Ida, M. Hirata, S. Odori, E. Mori, E. Kondo, J. Fujikura, T. Kusakabe, K. Ebihara, K. Hosoda, K. Nakao, Early Changes of Abdominal Adiposity Detected with Weekly Dual Bioelectrical Impedance Analysis During Calorie Restriction. *Obesity*. 21(9)E350-E353, 2013, 査読有  
DOI: 10.1002/oby.20300

N. Yamada-Goto, G. Katsuura, K. Ebihara, M. Inuzuka, Y. Ochi, Y. Yamashita, T. Kusakabe, A. Yasoda, N. Asahara-Satoh, H. Ariyasu, K. Hosoda, K. Nakao, Intracerebroventricular administration of C-type natriuretic peptide suppresses food intake via activation of the melanocortin system in mice. *Diabetes*. 62(5)1500-1504, 2013, 査読有  
DOI: 10.2337/db12-0718

E. Mori, J. Fujikura, M. Noguchi, K. Nakao, M. Matsubara, M. Sone, D. Taura, T. Kusakabe, K. Ebihara, T. Tanaka, K. Hosoda, K. Takahashi, I. Asaka, N. Inagaki, K. Nakao. Impaired adipogenic capacity in induced pluripotent stem cells from lipodystrophic patients with BSCL2 mutations. *Metabolism*, 65(4):543-56, 2016, 査読

有  
DOI: 10.1016/j.metabol.2015.12.015

〔学会発表〕(計3件)  
M. Noguchi, K. Hosoda, K. Nakao, In Vitro Characterization and Engraftment of Adipocytes Derived from Human Pluripotent Stem Cells. OBESITY 2013 31th Annual Scientific Meeting of The Obesity Society, 2013年11月15日, Atlanta, Georgia, USA

森栄作、他 先天性全身性脂肪萎縮症患者からの疾患特異的 iPS 細胞樹立と解析, 第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2014年5月24日, 大阪国際会議場(大阪市)

森栄作、他 先天性全身性脂肪萎縮症患者からの疾患特異的 iPS 細胞樹立と解析, 第 36 回日本肥満学会, 2015年10月2日, 名古屋国際会議場(名古屋市)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

細田 公則 (HOSODA, Kiminori)  
国立循環器病研究センター・病院・部長  
研究者番号: 40271598

### (2) 研究分担者

(3)連携研究者

高橋 和利 (TAKAHASHI, Kazutoshi)  
京都大学・iPS細胞研究所・講師  
研究者番号：80432326

山下 潤 (YAMASHITA, Jun)  
京都大学・iPS細胞研究所・教授  
研究者番号：50335288

中尾 和貴 (NAKAO, Kazuki)  
東京大学・医学研究科・准教授  
研究者番号：20217657

海老原 健 (Ebihara, Ken)  
自治医科大学・医学研究科・准教授  
研究者番号：70362514

曽根 正勝 (SONE, Masakatssu)  
京都大学・医学研究科・特定准教授  
研究者番号：40437207

櫻井 英俊 (SAKURAI, Hidetoshi)  
京都大学・iPS細胞研究所・講師  
研究者番号：80528745

藤倉 純二 (FUJIKURA, Junji)  
京都大学・医学研究科・助教  
研究者番号：70378743

野口 倫生 (NOGUCHI, Michio)  
京都大学・医学研究科・特定講師  
研究者番号：00432394

(4)研究協力者

( )