



皮膚線維芽細胞から低分子化合物・無血清培地で

ヒト褐色脂肪細胞を誘導

～簡便かつ短期間で作製、創薬研究などに利用可能が期待～

本研究成果のポイント

- 数種類の低分子化合物を添加した無血清誘導培地を使用し、ヒト皮膚線維芽細胞から、褐色脂肪細胞 ciBAs (chemical compound-induced brown adipocytes) を誘導する方法を開発した。
- ciBAs は、褐色脂肪細胞に特徴的な遺伝子発現を示し、ミトコンドリアによる酸素消費量が増加していることから、新規なヒト褐色脂肪細胞モデルとして利用可能である。
- ciBAs は、無血清培地を用いて簡便かつ短期間に誘導されることから、褐色化を促進する機能性食品の成分や既存薬の探索を目的とした創薬研究に最適であると考えられる。
- ciBAs は、個別化医療の他、将来的な細胞移植治療への臨床応用が期待される。

京都府立医科大学大学院医学研究科 細胞再生医学 戴平 研究教授らの研究グループは、ヒト皮膚由来線維芽細胞を最適化された数種類の低分子化合物を添加した無血清誘導培地を用いて培養することにより、褐色脂肪細胞を誘導する方法を開発しました。本研究成果は、英国科学雑誌『Scientific Reports』に掲載されます。

(2020年2月28日(金) 10時掲載(英国時間))

褐色脂肪細胞は、脂肪を蓄えるための細胞ではなく、脂肪を燃焼し熱を産生する細胞として知られており、体温の維持や代謝の向上によって、肥満や糖尿病の予防に重要な役割を果たしていると考えられています。研究グループは、ヒト皮膚由来線維芽細胞から数種類の低分子化合物を添加した無血清培地を使用し、褐色脂肪細胞を簡便かつ短期間で誘導する方法を開発しました。この誘導方法は、遺伝子の導入を行う必要がなく、動物由来成分や未知の成分を含む血清を使用しないため、基礎研究だけでなく、創薬研究にとって極めて重要です。また、この褐色脂肪細胞は上記の理由から安全性が高いことが想定され、将来的な臨床応用や細胞移植治療を行う上で大きなメリットとなります。今後、ciBAs を用いて褐色脂肪細胞がヒトの体内で発生する仕組みの解明や、体内の褐色脂肪細胞を増加させる機能性食品や薬の評価、個別化医療などに利用されることなどが期待されます。

【研究グループ】

京都府立医科大学大学院医学研究科 細胞再生医学 研究教授 戴 平
助教 武田 行正

【論文名】

A developed serum-free medium and an optimized chemical cocktail for direct conversion of human dermal fibroblasts into brown adipocytes

[日本語：ヒト皮膚線維芽細胞から褐色脂肪細胞への直接転換に向けた低分子化合物の最適化と無血清培地の開発]

【掲出雑誌】

英国科学雑誌 *Scientific Reports*

[2020年2月28日（金）午前10時（英国時間）オンライン掲載]

【研究概要】

1. 研究の背景

食事や運動などの生活習慣において、エネルギーの摂取が消費を超えると肥満の原因となり、糖尿病、動脈硬化、心筋梗塞などの重篤な疾患を発症する大きな要因となります。病的な肥満だけでなく、加齢に伴う基礎代謝の減少による軽度の肥満であっても、長期的にはこれらの代謝疾患のリスクと関連することが指摘されています。脂肪細胞には大きく分けて2種類あり、通常の脂肪を蓄える白色脂肪細胞と、脂肪を消費して熱に変換する褐色脂肪細胞があります。我々ヒトでは個人差が大きいですが、褐色脂肪細胞は首回りや胸回りの脂肪内に散在しており、活発な糖や脂肪の代謝を行っています。興味深いことにこれらの褐色脂肪細胞は、褐色化（Browning）という現象により白色脂肪細胞から性質が変化したベージュ細胞に近いと考えられています。褐色化によるベージュ細胞の増加は、長期的な寒冷刺激や運動などによって起こると報告されていますが、その発生メカニズムの詳細はまだ明らかになっていません。

分化した細胞に特定の遺伝子を人為的に発現させることによって、目的の細胞を直接誘導する手法をダイレクトリプログラミングと言います（参考文献1、2）。しかし、遺伝子の導入に基づいた方法では、細胞の機能や遺伝情報を損なう危険性があります。また、多能性幹細胞などから特定の細胞を分化させても、未分化の幹細胞が残留することによる腫瘍化のリスクが存在します。そこで我々はこれまで、細胞のシグナル伝達経路や転写因子を制御する低分子化合物を複数用いて、ヒト線維芽細胞から神経細胞や褐色脂肪細胞を誘導することに成功しました（参考文献3、4）。このように、遺伝子の導入を行わず低分子化合物のみで直接誘導することによって、安全性が高い細胞を短期間で誘導することができます。以前の研究から、5種類の低分子化合物を用いて低分子化合物誘導性褐色脂肪細胞 ciBAs の誘導に成功したものの、創薬研究や臨床への応用には、誘導培地中の血清の使用が障害となっていました。そこで本研究では、血清を使用しない無血清培地と、これに最適化された化合物カクテルを新たに同定し、簡便かつ短期間に ciBAs を誘導する方法を開発しました（図1）。

2. 研究の内容

本研究では、まず褐色脂肪細胞の分化に重要な BMP7（骨形成タンパク質）というサイトカインを新たに使用すると同時に、前回 ciBAs の誘導に使用した5種類の低分子化合物の組み

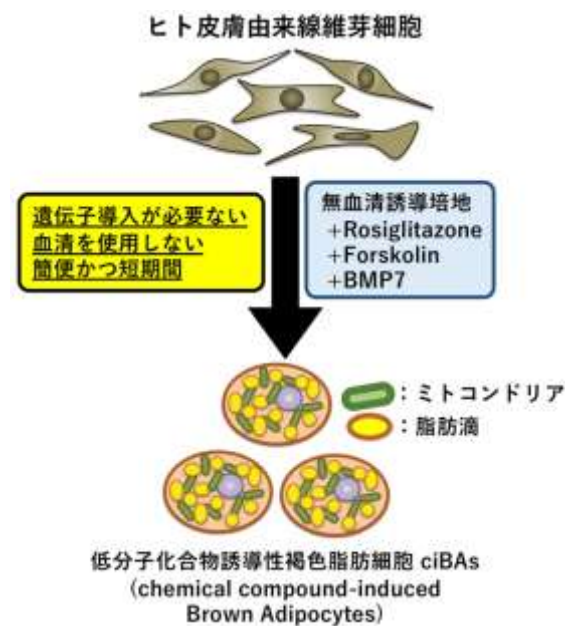


図1. 無血清誘導培地と低分子化合物による褐色脂肪細胞へのダイレクトコンバージョン

合わせについて検討しました。その結果、この5種類の中で骨形成タンパク質の機能を阻害する2種類の化合物を除くと、BMP7はciBAsの誘導効率には影響を与えないものの、褐色脂肪細胞のマーカ遺伝子である *Ucp1* (Uncoupling protein 1) の発現を活性化させることがわかりました。次に、無血清培地において、血清の代わりに特定の脂肪酸のみが結合したアルブミンを使用することで、脂肪酸の供給と細胞の安定性の向上を図りました。この時、上記のBMP7を使用した新しい化合物の組み合わせが、無血清培地下での誘導においても有効であることがわかりました。また、血清の存在下ではciBAsの誘導に、TGF β シグナル伝達経路の阻害剤が必要でしたが、無血清培地ではこの経路が活性化しておらず、この阻害剤を使用しない方がより効率よく誘導されることが判明しました。このように最適化された化合物カクテル (Rosiglitazone、Forskolin、BMP7) を添加した無血清培地を用いて線維芽細胞を培養することで、2~4週間以内にciBAsが誘導されます(図2)。また、このciBAsは、ヒトの褐色脂肪細胞(ベージュ細胞)に特徴的な遺伝子発現を示し、 β アドレナリン受容体作動薬による*Ucp1*遺伝子の発現上昇が検出されました。また、ミトコンドリアによる酸素消費量が増加していることから、細胞内の脂肪酸代謝が活性化していることを証明しました(図3)。

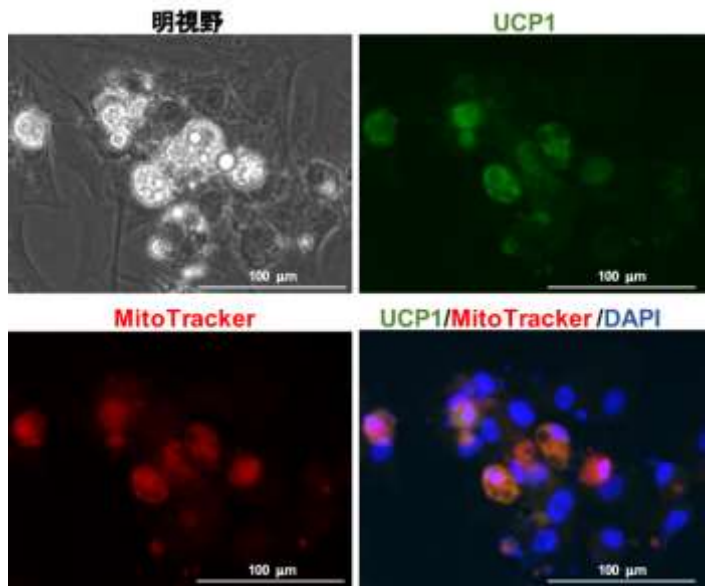


図2. 無血清培地によって誘導された ciBAs における褐色脂肪細胞マーカーUCP1 の発現と MitoTracker によるミトコンドリアの免疫染色

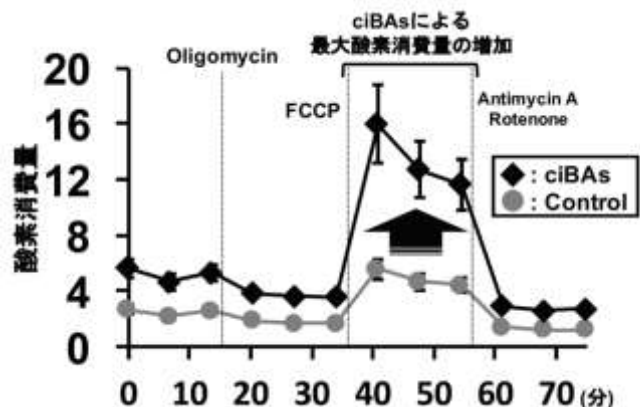
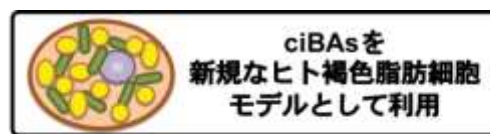


図3. ミトコンドリアによる酸素消費量の測定 (ミトコンドリア電子伝達系阻害剤: Oligomycin, FCCP, Antimycin A/Rotenone)

3. 今後の展開

近年、世界中で肥満者の増加が社会問題となっており、日本においても肥満が引き起こす糖尿病や循環器疾患が医療費高騰の大きな要因の一つとなっています。本研究では、ヒト皮膚線維芽細胞から数種類の低分子化合物と無血清培地を用いて、簡便かつ短期間に褐色脂肪細胞 ciBAs を誘導する方法を開発しました。この誘導方法は、遺伝子の導入を行う必要がなく、また動物由来成分や未知の成分を含む血清を使用しないため、基礎研究だけでなく創薬研究にとって必須の誘導方法となります。採取が難しいヒト褐色脂肪細胞(ベージュ細胞)の代わりに、ciBAs を新規な褐色脂肪細胞モデルとして用いることで、褐色化を促進する機能性食品の成分や既存薬の探索といった創薬研究に最適であると期待されます。そして、こ

れまで具体的な方法がなかった、日々の生活から機能性食品などの摂取により、体内でベージュ細胞を増加させることができれば、安全で画期的な肥満や糖尿病の予防になると期待されます。また、ciBAsを用いて褐色脂肪細胞がヒトの体内で発生する仕組みの解明に資することが期待されます。他にも我々の開発した誘導法により、複数の人から採取した線維芽細胞を ciBAs に誘導し食品成分や薬の効果を解析することで、個々の人に合わせたより効果的な食品成分や薬の選択、また副作用の有無を解析するといった個別化医療への応用にも道が開けると期待されます。無血清培地と低分子化合物で誘導される ciBAs は安全性が高いことが想定され、将来の臨床応用や細胞移植治療を行う上でも重要であると考えられます。



基礎研究：褐色脂肪細胞の発生メカニズムを解明
 創薬研究：褐色化を促進する機能性食品や既存薬の評価
 臨床応用：将来的な細胞移植治療

褐色脂肪細胞を体内で長期的かつ安全に増加・維持することによる基礎代謝の向上

・肥満、糖尿病、循環器疾患の予防
 ・医療費の抑制
 ・未病を治す予防医学

図4. 新規なヒト褐色脂肪細胞モデルとしての ciBAs の利用と期待される展開について

【参考文献】

1. Takeda Y., Harada Y., Yoshikawa T., and Dai P. Chemical compound-based direct reprogramming for future clinical applications. *Biosci. Rep.*, 38, BSR20171650 (2018)
2. 戴平、武田行正 低分子化合物を用いた再生医療用細胞のダイレクトリプログラミング 京都府立医科大学雑誌, 127 巻, 1-12 頁 (2018)
3. Dai P., Harada Y., Takamatsu T. Highly efficient direct conversion of human fibroblasts to neural cells by chemical compounds. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 56, 166-170 (2015)
4. Takeda Y., Harada Y., Yoshikawa T., and Dai P. Direct conversion of human fibroblasts to brown adipocytes by small chemical compounds. *Sci. Rep.*, 7, 4304 (2017)

<研究プロジェクトについて>

株式会社片岡製作所には、本学細胞再生医学のダイレクトコンバージョン研究に対し、共同研究者として多大なるご理解・ご支援を頂いており、これにより精力的に研究を推進しています。

本研究は、以下の支援によるものです。

株式会社片岡製作所との共同研究費 29 共 021 (研究代表者：戴平)

文部科学省科学研究費補助金 挑戦的萌芽研究 16K15222 (研究代表者：戴平)

文部科学省科学研究費補助金 基盤研究 (C) 18K12038 (研究代表者：武田行正)

公益財団法人武田科学振興財団 医学系研究助成 (研究代表者：武田行正)

<研究に関すること>

京都府立医科大学 大学院医学研究科
 細胞再生医学 戴平 研究教授
 電話：075-251-5135
 E-mail：dping@koto.kpu-m.ac.jp

<広報に関すること>

広報センター
 [事務局：企画・研究支援課] 土屋
 電話：075-251-5804
 E-mail：kouhou@koto.kpu-m.ac.jp