

課題番号 : 27指1202 (3年研究1年目)

研究課題名 : ヒトES/iPS細胞由来褐色脂肪細胞を活用した糖尿病を標的とした新規予防/治療法の開発

主任研究者名 : 佐伯久美子

分担研究者名 :

キーワード : エネルギー・糖質代謝異常、脂質代謝異常、医薬品探索、再生医学、細胞分化

研究成果 :

世界の肥満人口は1975年に1億500万人であったが、2014年には6億4100万人に達しており、この傾向が続くと10年後には世界の成人の約20%が肥満になると推定されている。肥満はインスリン抵抗性や2型糖尿病などの糖代謝異常の発症を助長する。糖尿病は単独でも日本人死因の10位であるが、日本人死因の上位を占める疾患群(悪性新生物、脳血管障害、虚血性心疾患、肺炎)の発症リスクを上昇させるため健康に与える影響は深刻である。このように糖尿病の制圧は日本人の健康寿命の延長に向けた緊急性の高い課題であり、また当センターの重要なミッションの1つでもある。

近年、「燃える脂肪」または「痩せる脂肪」などとして知られる『褐色脂肪組織(Brown Adipose Tissue; BAT)』が世界的に注目されている。小型冬眠動物での研究が先行し(注: BATは冬眠覚醒時の急速な体熱産生を担う)、ヒトにおけるBATの存在は長い間疑問視されてきた。しかし、核医学検査(PET/CT)および組織生検からヒト成人にもBATが存在することが実証された。その後の疫学研究および臨床研究からはBAT量が肥満度と逆相関すること、かつ耐糖能と正相関することが示された。これらの知見に立脚して、BATは糖尿病治療開発に向けた新しい標的組織として注目されることとなった。しかし、ヒトからBAT検体を入手することは、経済的問題(注: 存在部位の同定には高額医療機器を要する)、技術的問題(プロテアーゼを高発現するため採取後の品質劣化が避けられない、品質を保持したまま凍結保存できない)、倫理的問題(BAT検出頻度の高い若年層への被曝、採取による糖尿病発症リスク上昇への懸念)によりほぼ不可能である。これに対して我々は、ヒト多能性幹細胞から高純度な褐色脂肪細胞を作製する技術(Nishio et al, Cell Metabolism 16, 394-406, 2012)を開発して問題を克服した。即ち、我々が開発した技術は「高い熱産生能を持つヒト褐色脂肪細胞(Brown Adipocyte; BA)」の安定的な供給を可能とした。さらにマウスへの移植実験からは、ヒト多能性幹細胞由来BA(以下、ヒトBA)の移植により肥満(白色脂肪細胞の増加)に伴う糖代謝異常が改善すること、その効果は移植翌日には早々に認められることを報告した(同上)。これらの知見は、BATが熱産生(カロリー消費)による体重減少を介して糖代謝を向上するという従来の考え方は必ずしも正しくないことを示した点において画期的である。さらに、汎用の方法でヒト白色脂肪細胞にUncoupling protein 1 (UCP1)遺伝子(熱産生に必要な遺伝子)を誘導したものを移植しても、ヒトBAで見られたような「速やかな糖代謝改善作用」は認められなかったことから「BATの熱産生能と糖代謝改善能は独立の機能である」ことが強く示唆された。

本研究では、我々が開発した独自の技術を適用して、ヒトBAの「熱産生を介さない糖代謝改善作用の分子基盤」を明らかにする。さらにこの作用を媒介する鍵分子の同定を通じて、糖代謝異常に対する新規治療法の開発を目指す。また本研究では、未踏襲領域として残されている「ヒトBAの初期発生過程の分子制御機構」を明らかにすることで、糖代謝異常の治療開発に向けた新規創薬標的分子を同定する。マウスを用いた研究からは、BAが骨格筋との共通祖先(筋芽細胞)に由来することが示されている。しかし、それ以前の分化過程については未解明である。一方、ヒト生体には多能性を持つ未熟な細胞が存在することが知られており、それらからBAへの分化誘導の促進することができれば糖代謝能を向上させることができると期待される。本研究では「網羅的転写速度解析」という新しい解析技術を駆使して、ヒト多能性幹細胞の「筋芽細胞以前のBA初期分化過程」における遺伝子発現制御の分子基盤を明らかにする。平成27年度の研究では、BA分化の最初期過程(＜72時間)における網羅的転写速度解析を終了し、BA初期分化制御を司る分子の候補を抽出した。今後はこれらの候補分子からBA分化初期過程の制御に関わる鍵分子を同定し、その活性を修飾する薬剤のスクリーニングを通じて糖代謝異常に対する新規治療法の開発を目指す。

Subject No. : 27-Shitei-1202 (the first year of a three-year project)  
Title : Development of preventives/therapeutics for glucose metabolic disorder unitizing human ES/iPS cell-derived brown adipocytes.  
Researchers : Kumiko SAEKI, M.D., Ph.D.  
Key word : energy/glucose metabolic disorder, lipid metabolic disorder, search of new pharmaceuticals, regenerative medicine, cell differentiation,  
Abstract : Although the population of obese subjects in the world was 105 millions in 1975, it reached 641 millions in 2014. If this tendency continues, about 20 % of adult humans in the world will suffer from obesity in 10 years. It is known that obesity promotes the development of glucose metabolic disorders (insulin resistance, type 2 diabetes). Diabetes has a serious impact on human health: it is not only the 10th cause of death in Japan but also it up-regulates risks of cancers, cerebrovascular diseases, ischemic heart diseases and pneumonia, which are the major causes of death in Japan. Therefore, control of diabetes is an urgent task towards the extension of the public health longevity in Japan. In addition, development of new therapies for the management of type 2 diabetes is one of the most important missions of National Center for Global Health and Medicine (NCGM).

Recent years, brown adipose tissue (BAT), which is widely known by its “burning” or “slimming” capacities, has been attracting a great attention in the world. The study of BAT started in small hibernating animals since it plays crucial roles in a rapid body heat production at the recovery from hibernation. Although whether humans had BAT or not had long been a matter of debate, the presence of BAT in adult humans was proven by PET/CT studies along with biopsy examinations in 2009. Thereafter, clinical studies have shown that the amounts of BAT inversely and positively correlated with body mass index (BMI) and glucose tolerance, respectively. Currently, BAT is recognized as a new therapeutic target for the treatment of type 2 diabetes. Nevertheless, provision of sufficient amounts of high-quality human BAT samples is almost impossible due to ethical, technical and economical hurdles.

We have overcome those hurdles by establishing a method for a directed differentiation of human pluripotent stem cells into functional brown adipocytes (BA) without gene transfer (Nishio et al, Cell Metabolism 16: 394-406, 2012). This method has enabled stable provision of high-quality human BA. Applying this method, we performed transplantation experiments using obesity model mice and found that transplantation of human pluripotent stem cell-derived BA improved glucose metabolism on the next day. The expression of this effect was unexpectedly prompt since it had been thought that BA improved glucose metabolism as a secondly consequence of gradual body weight loss due to accumulated caloric consumption *via* up-regulated heat production. Our results indicate that BA improves glucose metabolism independently from heat production.

Currently, we are trying to elucidate the molecular basis for the prompt curative effects of human pluripotent stem cell-derived BA on glucose metabolic disorder. We are also trying to elucidate the molecular mechanism that regulates the earliest phase of BA differentiation, which still remains mystery, to identify new molecular targets for drug discovery for the treatment of type 2 diabetes.

Researchers には、分担研究者を記載する。

【27指1202】

## 「ヒトES/iPS細胞由来褐色脂肪細胞を活用した糖尿病を標的とした新規予防/治療法の開発」

主任研究者:

独立行政法人 国立国際医療研究センター研究所・疾患制御研究部室長 佐伯 久美子

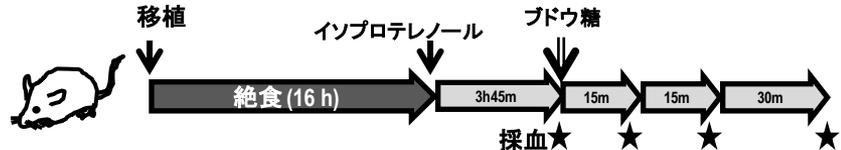
### 【要約】

糖尿病は単独でも日本人死因10位であるが、死因の上位を占める疾患群(悪性新生物・脳血管障害・虚血性心疾患・肺炎)のリスクを増大させるため健康に与える影響は深刻である。近年「燃える脂肪」として褐色脂肪細胞(BA)が注目されているが、我々は「ヒト多能性幹細胞のBA分化誘導技術」(Nishio et al, Cell Metabolism 16, 394-406, 2012)を開発し、この技術を駆使してBAが熱産生作用とは独立に糖代謝改善作用を発揮することを見出した。本研究では「BAによる糖代謝改善の分子基盤」を明らかにするとともに、未踏襲領域として残されている「BA初期分化過程を制御する分子機序」を解明することで糖尿病の新規予防/治療法の開発に取り組む。

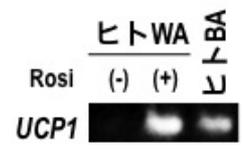
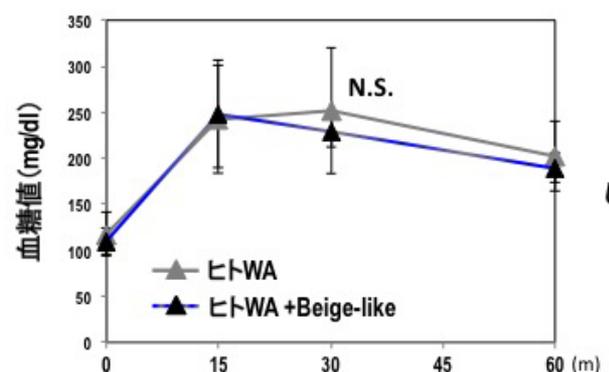
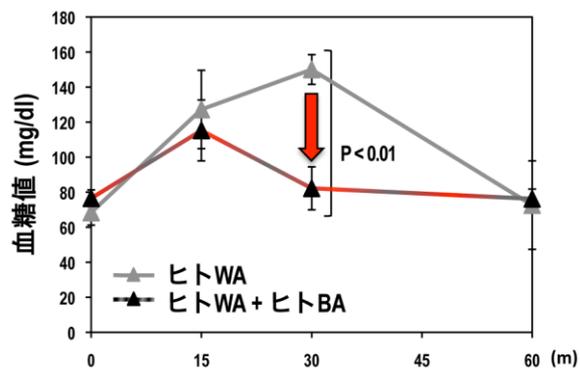
H27年度の  
外部発表

- 英文総説 (Nishio et al. World J Stem Cells 8:56-61, 2016)
- 国際学会 (Poster 2063, Keystone Symposia T2: Diabetes: New Insights into Molecular Mechanisms and Therapeutic Strategies, Oct 27, 2015, Kyoto, Japan)

# 課題1 ヒトBA移植による耐糖能向上



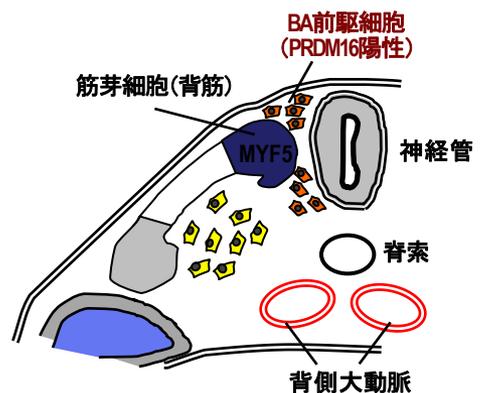
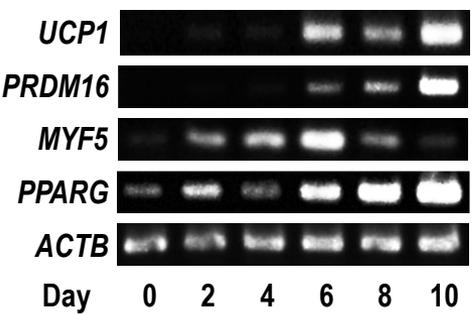
経口ブドウ糖負荷試験



WA: ヒト間葉系幹細胞から作製した白色脂肪細胞  
 Beige-like: ヒトWAをRosiglitazoneで1週間処理したもの

ヒト多能性幹細胞由来BA(ヒトBA)の移植は、ヒト白色脂肪細胞(WA)の移植による耐糖能悪化を阻止した(左)。一方、ヒトWAをPPAR $\gamma$ アゴニスト処理により熱産生に関わるUCP1遺伝子を誘導した細胞(ベージュ様細胞)はその効果を認めなかったことから(右)、BAの「糖代謝改善能」と「熱産生能」は独立の機能であることが強く示唆される。本研究では「BAの糖代謝改善作用の分子基盤」を解明し、新規な糖尿病予防/治療薬の開発に繋げる。

# 課題2 ヒトBA初期分化過程の解析



マウスの研究から、BAはMyf5陽性筋芽細胞(背筋系)に由来することが解っているが、それ以前の発生過程の分子メカニズムは不明である。本研究では『網羅的転写速度解析』という新しい解析技術を適用して、ヒトBAの初期発生過程を制御する分子基盤を解明することで、糖尿病治療を目指した新規創薬標的分子を同定する。

研究発表及び特許取得報告について

課題番号： 27指1202

研究課題名： ヒトES/iPS細胞由来褐色脂肪細胞を活用した糖尿病を標的とした新規予防/治療法の開発

主任研究者名：佐伯久美子

論文発表

論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
Human pluripotent stem cells: Towards therapeutic development for the treatment of lifestyle diseases.	Miwako Nishio, Masako Nakahara, Akira Yuo, <u>Kumiko Saeki</u>	World J Stem Cells	Vol. 8	2016
ヒトES/iPS細胞からの高機能褐色脂肪細胞の作製	西尾美和子、 <u>佐伯久美子</u>	生化学	第87巻	2015
褐色脂肪細胞の再生	佐伯久美子	BIO Clinica	第31巻	2016

学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
Transcriptional Networks at the Early Stage of Classical Brown Adipocyte Differentiation are unraveled by an Integrated Transcriptional Velocity Analysis	Miwako Nishio, Masako Nakahara, <u>Kumiko Saeki</u> , Akira Yuo	KEYSTONE SYMPOSIUM Diabetes: New Insights into Molecular Mechanisms and Therapeutic Strategies (T2)	京都	2015年10月

その他発表(雑誌、テレビ、ラジオ等)

タイトル	発表者	発表先	場所	年月日
該当なし				

特許取得状況について ※出願申請中のものは( )記載のこと。

発明名称	登録番号	特許権者(申請者) (共願は全記載)	登録日(申請日)	出願国
(多能性幹細胞由来褐色脂肪細胞、多能性幹細胞由来細胞凝集物と、その製造方法及び細胞療法、内科療法)		(佐伯久美子、湯尾明、西尾美和子、川崎正子、佐伯晃一、長谷川護)	(2012/4/26)	(PCT出願後、日本・オーストラリア・中国・欧州・米国への移行手続き中)

※該当がない項目の欄には「該当なし」と記載のこと。  
 ※主任研究者が班全員分の内容を記載のこと。