

# Lipidtropfen-assoziierte Proteine bei Steatose

## Effekte einer Induktion und siRNA-vermittelten Herunterregulation von PAT-Proteinen in hepatozytären Zellkulturmodellen

Die Steatose oder Leberparenchymverfettung ist mit einer Prävalenz von 15–20% die häufigste Lebererkrankung in den westlichen Industrieländern und wird als die häufigste Ursache für erhöhte Leberserumwerte angesehen. Eine Steatose kann in 5–10% aller Fälle über eine Steatohepatitis zu einer Leberzirrhose führen und geht dann mit einer erhöhten Inzidenz für hepatozelluläre Karzinome einher. Definitionsgemäß übersteigt bei Leberparenchymverfettung der Triazylglyzeridgehalt in Form von hepatozytären Lipidtropfen 5% des Lebergewichts. Im deutschsprachigen Raum spricht man ab einem Triazylglyzeridgehalt von 50% von einer Fettleber.

Ätiologisch wird zwischen ethyltoxischer („alcoholic steatohepatitis“/ASH) und nichtethyltoxischer Genese („non-alcoholic fatty liver disease“, NAFLD, bzw. „nonalcoholic steatohepatitis“, NASH) unterschieden. Noch vor 30 Jahren war die NASH nahezu unbekannt, die Inzidenz steigt jedoch aufgrund der Zunah-

me an Patienten mit metabolischem Syndrom insbesondere in den Industrieländern stetig an. Neben den erwähnten Faktoren können auch das Hepatitis-C-Virus (HCV), genetische Faktoren wie Lipodystrophien und Speichererkrankungen, endokrine Störungen wie Hypothyreoidismus sowie zahlreiche Medikamente (z. B. Kortikosteroide) und Toxine (z. B. organische Lösungsmittel) zu einer Verfettung der Hepatozyten führen. Gemäß der „Two-hit-Theorie“ der Steatohepatitis von Day u. James [4] führt die intrazelluläre Anreicherung von Fettsäuren zu metabolischen und molekularen Veränderungen („first hit“), die die Leber für den so genannten „second hit“ durch oxidativen Stress und Zytokine sensibilisieren.

In den vergangenen Jahren erfuhr die Biologie der Lipidtropfen aufgrund der steigenden klinischen Relevanz Steatose-assoziiierter Erkrankungen zunehmendes wissenschaftliches Interesse [5]. Lipidtropfen werden nicht mehr als statische Lagerungsvesikel für Neutralfette, sondern zunehmend als dynamische Zellorganellen mit präzise kontrolliertem Auf- und Abbau angesehen [10]. Lipidtropfen existieren in nahezu jedem Zelltyp, unterliegen jedoch einer zelltypspezifischen Regulation. Sie bestehen aus einem „Kern“ von Triazylglyzeriden, der an der Oberfläche von einem Phospholipid-Monolayer umgeben wird, auf den amphiphile Proteine aufgelagert sind [2]. Diese amphiphilen

Lipidtropfen-assoziierten Proteine werden aufgrund von Aminosäuresequenzhomologien als PAT-Proteinfamilie mit den Hauptvertretern *Perilipin* [6], *Adipophilin* [7] und *TIP47* [14] sowie den weiteren Mitgliedern *S3-12* und *MLDP* zusammengefasst (neue Nomenklatur: *Perilipin-1-5*; [9]).

Bedingt durch ihre Lokalisation an der Interphase zwischen hydrophobem Lipidtropfenkern und hydrophilem Zytoplasma spielen PAT-Proteine eine maßgebliche Rolle in Bildung, Auf- und Abbau, Strukturhaltung und Regulation von Lipidtropfen. Für das meistuntersuchte PAT-Protein *Perilipin* ist bekannt, dass im Fettgewebe unphosphoryliertes *Perilipin* den Triazylglyzeridkern vor dem Abbau schützt. Nach  $\beta$ -adrenerger Stimulation kann hormonsensitive Lipase durch Proteinkinase-A-vermittelte Phosphorylierung an *Perilipin* binden und dadurch die Lipolyse aktiviert werden [1].

In verschiedenen Zelltypen zeigen Lipidtropfen eine unterschiedliche Umhüllung mit PAT-Proteinen. So wird *Perilipin* als spezifisch für Adipozyten (*Perilipin A* und *B*) und steroidogene Zellen (*Perilipin C*) angesehen, *Adipophilin* und *TIP47* hingegen sind nahezu ubiquitär exprimiert. Es wird angenommen, dass PAT-Proteine eine unterschiedliche Rolle bei der Reifung von Lipidtropfen einnehmen. *S3-12*, *TIP47*, und *MLDP* werden zu den so genannten „exchangeable“ PAT-

### Abkürzungen

ASH	Alkoholische Steatohepatitis
HSC	„Hepatic stellate cells“
NASH	Nichtalkoholische Steatohepatitis
NAFLD	Nichtalkoholische Fettlebererkrankung
PAT-Proteinfamilie	Perilipin-Adipophilin-TIP47-Proteinfamilie

Proteinen (E-PATs) gezählt, die bei der Lipidtropfenbiogenese eine Rolle spielen, Adipophilin und Perilipin zu den „constitutive“ PAT-Proteinen (C-PATs).

Das Fehlen von Perilipin im Mausmodell führt durch eine Reduktion des univakuolären Fettgewebes selbst bei hochkalorischer Ernährung zu einer besonders „schlanken“ Maus [11]. Das Fehlen von Adipophilin im Mausmodell durch Gendeletion [3] bzw. durch Gabe eines Adipophilin-Antisense-Oligonukleotids [8] verhindert die Entwicklung einer Fettleber und könnte gemäß der „Two-hit-Theorie“ [4] auch die Progression zu einer Steatohepatitis verhindern.

Das bisherige Wissen über Lipidtropfen-assoziierte Proteine stammt hauptsächlich aus Zellkultur- und Mausmodellen; klinische und diagnostische Aspekte fanden jedoch erst in jüngerer Zeit zunehmend Beachtung. Beispielsweise konnte unsere Arbeitsgruppe zeigen, dass bei humaner Leberparenchymverfettung *in situ* neben Adipophilin auch TIP47 und *de novo* auch Perilipin in Hepatozyten vorkommen und differenziell exprimiert werden [13] und selbst im hepatozellulären Karzinom nachweisbar sind [12]. Aufgrund der Häufigkeit und Relevanz von Steatose und Steatohepatitis in den westlichen Industrieländern und der vielversprechenden Ergebnisse einer Herunterregulation von Adipophilin im Mausmodell, untersuchten wir Lipidtropfen-assoziierte Proteine in menschlicher Leber *in situ* und die Übertragbarkeit auf gängige humane hepatozytäre Zellkulturmodelle.

## Material und Methoden

### Gewebe

Alle humanen Gewebe wurden durch die Gewebekbank des Nationalen Centrums für Tumorerkrankungen (NCT, Heidelberg) zur Verfügung gestellt (Ethikantrag 206/2005 sowie 207/2005). Bezüglich der verwendeten Steatose- und Steatohepatiskollektive verweisen wir auf Straub et al. [13].

### Antikörper und Reagenzien

Die monoklonalen Mausantikörper gegen Adipophilin (Klon AP125), Peri-

Pathologie 2010 · [Suppl 2] 31:126–131 DOI 10.1007/s00292-010-1322-1  
© Springer-Verlag 2010

L.M. Pawella · M. Hashani · P. Schirmacher · B.K. Straub

## Lipidtropfen-assoziierte Proteine bei Steatose. Effekte einer Induktion und siRNA-vermittelten Herunterregulation von PAT-Proteinen in hepatozytären Zellkulturmodellen

### Zusammenfassung

**Hintergrund.** Die Akkumulation hepatozellulärer Lipidtropfen als Ausdruck einer Steatose ist die häufigste Lebererkrankung in den westlichen Industrieländern. Die Oberfläche von Lipidtropfen wird durch amphiphile Proteine der PAT-Familie (Perilipin, Adipophilin und TIP47) stabilisiert. Wir konnten kürzlich zeigen, dass PAT-Proteine in der Leber differenziell exprimiert werden.

**Methoden.** Die Effekte einer Lipidtropfen-induktion mit Oleat und einer siRNA-vermittelten Herunterregulation wurden mittels Immunfluoreszenzmikroskopie, Immunblot und funktionellen Tests untersucht.

**Ergebnisse.** Während in steatotischen Hepatozyten Perilipin, Adipophilin und nur in geringem Umfang auch TIP47 Lipidtropfen um-

manteln, sind in hepatozellulären Zellkulturmodellen nach Oleatbehandlung nur Adipophilin und TIP47 nachweisbar, nicht jedoch Perilipin. Auch nach Herunterregulation von Adipophilin oder TIP47 wird Perilipin nicht induziert.

**Schlussfolgerung.** Gängige Steatose-Zellkulturmodelle unterscheiden sich gegenüber humaner hepatozellulärer Steatose *in vivo*. Möglicherweise spielt Perilipin eine Rolle bei der Langzeitspeicherung von Fetten, die in Zellkulturmodellen nur partiell widerspiegelt wird.

### Schlüsselwörter

Fettleber · Lipidtropfen · Steatose · PAT-Proteine

## Lipid droplet-associated proteins in steatosis. Effects of induction and siRNA-mediated downregulation of PAT proteins in cell culture models of hepatocyte steatosis

### Abstract

**Background.** The accumulation of hepatocellular lipid droplets, referred to as steatosis, is the most frequent liver pathology in western industrial countries. The surface of lipid droplets is stabilized by amphiphilic proteins of the PAT family (perilipin, adipophilin, TIP47). We recently showed that PAT proteins are differentially expressed in liver.

**Methods.** The effects of lipid droplet induction with oleate and of siRNA-mediated downregulation of PAT proteins were evaluated using immunofluorescence microscopy, immunoblot and functional assays.

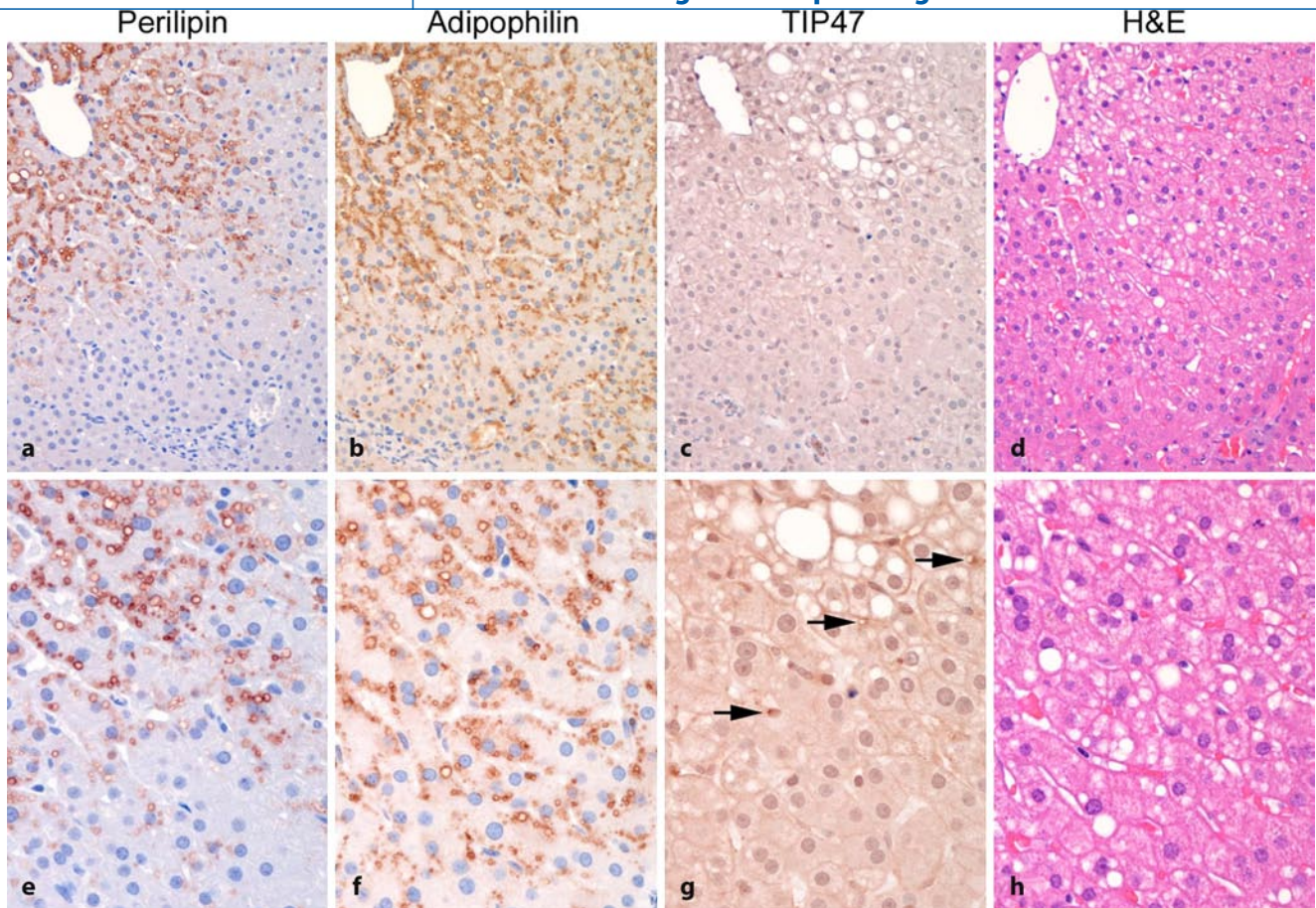
**Results.** Whereas perilipin, adipophilin and (in only minor amounts) also TIP47 coat lipid

droplets in steatotic hepatocytes, adipophilin and TIP47, but not perilipin, are detectable in hepatocellular cell cultures. Likewise, perilipin is not induced after downregulation of adipophilin and TIP47.

**Conclusions.** Common cell culture models show specific differences to human hepatocyte steatosis *in vivo*. Perilipin may play a role in the long-term storage of fat, which may be only partially reflected by cell culture models.

### Keywords

Fatty liver · Lipid droplets · Steatosis · PAT proteins



**Abb. 1** ▲ Differenzielle Lokalisation von Adipophilin, Perilipin und TIP47 in humaner Steatose *in situ*. Immunhistochemische Analyse von Perilipin, Adipophilin und TIP47 in einer Leberbiopsie eines Patienten mit geringer Leberparenchymverfettung (Pfeile TIP47-positive Lipidtropfen in „hepatic stellate cells“; a–d Vergr. 200:1, e–h Vergr. 400:1)

lipin (Klon 112.17) und die polyklonalen Meerschweinchenantisera gegen TIP47 (GP30) wurden von Progen Biotechnik (Heidelberg) bezogen, der monoklonale Mausantikörper gegen Aktin (Klon C4) von MP Biomedicals (Solon/OH, USA). Sekundärantikörper waren Cy3-gekoppelte Anti-Maus und Anti-Meerschweinchen IgG-Antikörper (MoBiTec, Göttingen) sowie HRP-gekoppelte Anti-Maus-IgG (Cell Signaling Technology, Frankfurt) und Anti-Meerschweinchen-IgG (Dianova, Hamburg). Zur immunfluoreszenzmikroskopischen Darstellung der Lipidtropfen wurde Bodipy (Invitrogen, Karlsruhe) verwendet.

### Zellkulturexperimente

Humane, von hepatozellulären Karzinomen oder Hepatoblastomen abgeleitete Zellkulturen der Linien HuH7, HepG2, PLC und Hep3B wurden nach Standardprotokoll kultiviert. Zur Oleatbehandlung

wurden Zellen in 6er Well-Platten ausgesät und bei etwa 70%iger Konfluenz mit 250  $\mu$ M BSA-gekoppelter Ölsäure (Sigma Aldrich) inkubiert. Kontrollzellen wurden in Medium ohne Oleat kultiviert. An den entsprechenden Zeitpunkten wurden die Zellen in Zelllysispuffer (Cell Signaling Technology) aufgeschlossen. Die Proteinkonzentrationsbestimmung des Gesamtzellextrakts wurde mittels Bradford-Messung (Bio-Rad, München) durchgeführt und 50  $\mu$ g Protein/Gelspur verwendet. Für die Immunfluoreszenzfärbung wurden die Zellen auf sterile Deckgläser ausgesät und wie vorher beschrieben behandelt.

Für siRNA-Experimente wurden 20.000 HuH7-Zellen/24-Well-Platte ausgesät und einen Tag danach mit Oligofectamin (Invitrogen) laut Herstellerangaben transfiziert. Nonsense#1 (Dharmacon RNAi Technologies, Epsom, UK) und nonsense#2 siRNAs wurden in 10 nM und 20 nM Endkonzentration verwendet.

siRNAs gegen Adipophilin und TIP47 wurden jeweils in 10 nM Endkonzentration eingesetzt. Für die Doppeltransfektion wurden siRNA#2 für Adipophilin (5 bzw. 10 nM) und siRNA#1 für TIP47 (5 bzw. 10 nM) verwendet. Zellen wurden 72 Stunden nach Transfektion lysiert und 50  $\mu$ g Protein des Gesamtzellextrakts/Gelspur für die Analyse verwendet.

### Immunfluoreszenzmikroskopie, Immunblot

Zu den ausführlichen Protokollen der Färbungen für Immunfluoreszenzmikroskopie und Immunhistochemie sowie des Immunblot-Verfahrens verweisen wir auf Straub et al. [12, 13]. Die mikroskopischen Bilder wurden mit einem Fluoreszenzmikroskop IX-81 (Olympus) mit 60x-Immersionsobjektiv aufgenommen.



## Ergebnisse

### Differenzielle PAT-Proteinexpression in hepatozellulärer Steatose

In normaler Leber verschiedener Spezies lagen die PAT-Proteine Adipophilin und TIP47 an kleinen Lipidtropfen in Hepatozyten sowie an Vitamin-A-speichernden Lipidtropfen der „hepatic stellate cells“ (HSC) vor. In verfetteten humanen Hepatozyten war neben Adipophilin und TIP47 *de novo* auch Perilipin nachweisbar. Die PAT-Proteine zeigten ein differenzielles Verteilungsmuster (■ **Abb. 1 a, b**; zu ausführlichen Ergebnissen s. [13]):

- Zelltyp (HSC: TIP47 und Adipophilin; Hepatozyten: TIP47, Adipophilin und Perilipin),
- Steatose (normal: TIP47 und Adipophilin; steatotisch: Adipophilin und Perilipin),
- Größe der Lipidtropfen (klein: TIP47 und Adipophilin; mittelgroß/groß: Adipophilin und Perilipin),
- Lokalisation im Leberläppchen (ubiquitär: Adipophilin; perizentral: Perilipin).

In einem Kollektiv von über 80 Leberbiopsien von Patienten mit chronischer Steatose (ASH, NAFLD/NASH, HBV, HCV) zeigte sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen PAT-Expression und Ätiologie [13]. Die Proteinmenge von Adipophilin und Perilipin (A), nicht jedoch TIP47, korrelierte in Immunblot und Immunhistochemie jedoch hoch signifikant positiv mit dem Grad der Verfettung der Hepatozyten. In Doppelimmunfluoreszenzmikroskopie-Experimenten zeigte sich sowohl eine partielle Kolokalisation an manchen Lipidtropfen als auch eine differenzielle Expression von Adipophilin und Perilipin an anderen Lipidtropfen.

Zusammenfassend zeigen PAT-Proteine ein differenzielles Verteilungsmuster in humanen Hepatozyten *in situ*. Die Proteinmenge von Adipophilin und Perilipin korreliert mit dem Grad der Steatose, jedoch nicht mit der zugrunde liegenden Ätiologie.

### Oleatbehandlung induziert die Expression von Adipophilin in Zellkultur

Um die In-vivo-Situation mit der In-vitro-Situation vergleichen zu können, begannen wir, die Expression der PAT-Proteine Perilipin, Adipophilin und TIP47 in den abgeleiteten Zellkulturlinien PLC, HuH7, Hep3B und HepG2 zu untersuchen. Adipophilin und TIP47 waren in Immunblots mit einer Bande von etwa 53 kDa bzw. etwa 47 kDa und in der Immunfluoreszenzmikroskopie am Rand von vereinzelt, kleinen, Bodipy-positiven Lipidtropfen nachweisbar (■ **Abb. 2 b, d, f**). Perilipin (Isoform A) war in keiner der untersuchten Zellkulturen nachweisbar.

Um Effekte einer „Fettbelastung“ auf das Expressionsniveau der PAT-Proteine zu untersuchen, wurden die Zelllinien PLC, HuH7, Hep3B und HepG2 bis zu 10 Tage lang mit BSA-gekoppelter Ölsäure inkubiert und mit unbehandelten Kontrollen verglichen. Durch die BSA-Oleat-Behandlung stieg in allen Zellkulturen die im Immunblot gemessene Menge von Adipophilin über die Zeit deutlich an, wohingegen die Proteinmenge von TIP47 unbeeinflusst blieb (exemplarisch für HuH7-Zellen gezeigt in ■ **Abb. 2 a**). Nach einer 2-tägigen Inkubation der HuH7-Zellen mit BSA-gekoppelter Ölsäure stiegen die Anzahl und die Größe der Lipidtropfen bereits stark an.

Immunfluoreszenzmikroskopisch zeigte sich zusammen mit dem vermehrten Auftreten von in der Größe über die Zeit zunehmenden Bodipy-positiven Lipidtropfen eine verstärkte Adipophilin-Anfärbung (■ **Abb. 2 c, e, g**). Ein deutlich schwächerer Anstieg der Adipophilin-Expression konnte auch in Kontrollzellen über längere Zeitpunkte (bis zu 10 Tage) beobachtet werden. Perilipin (Isoform A) war zu keinem Zeitpunkt in oleatbehandelten Zellen oder Kontrollzellen nachweisbar.

Zusammenfassend ist in dem gängigen Oleatzellkulturmodell zwar Adipophilin induzierbar, jedoch im Gegensatz zu menschlicher Steatose *in situ* Perilipin nicht. Die Situation im Menschen wird damit durch diese Zellkulturmodelle nur partiell abgebildet.

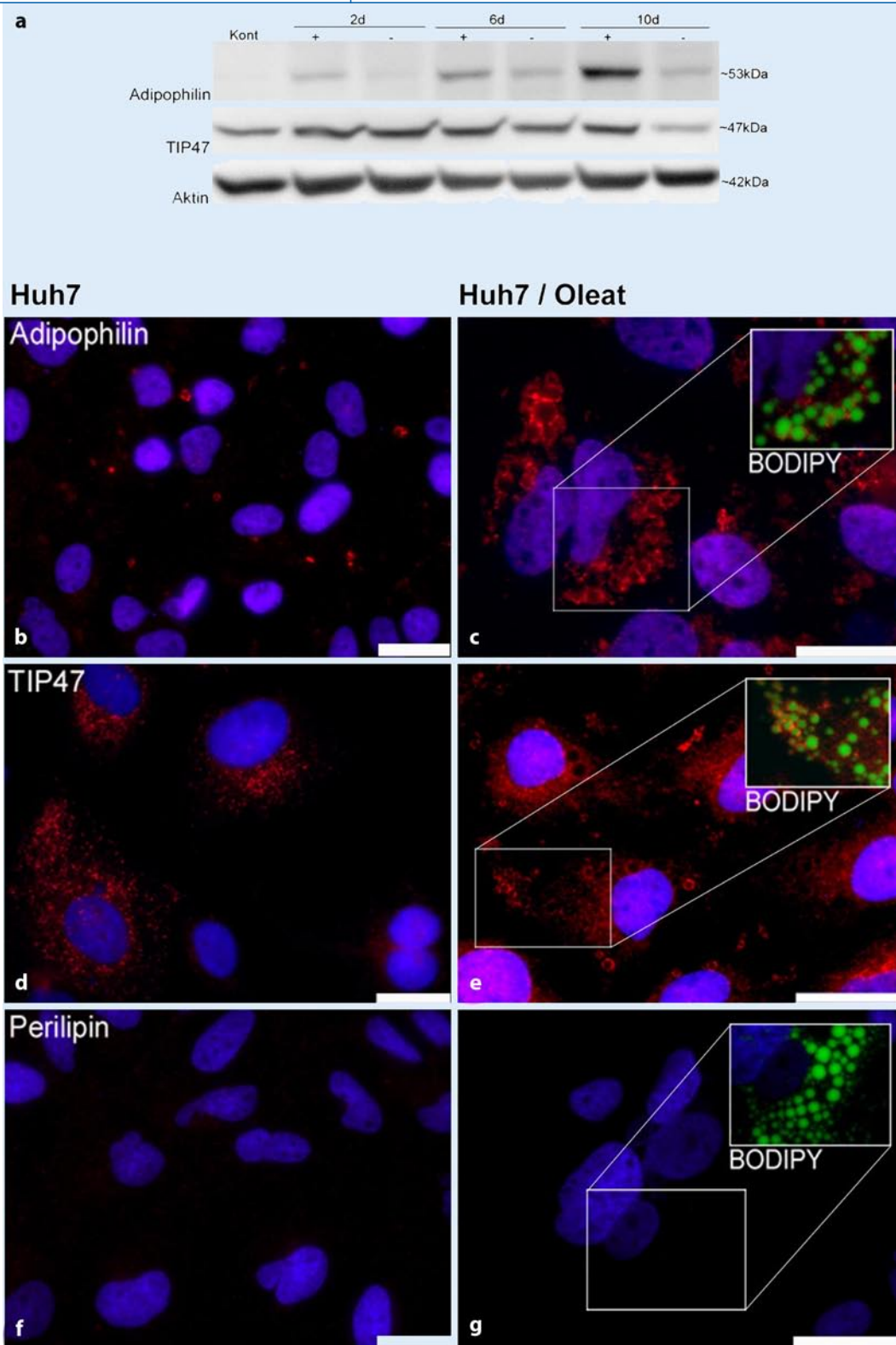
### siRNA-vermittelte Herunterregulation von Adipophilin und TIP47

Um die Effekte einer Herunterregulation von Adipophilin und/oder TIP47 in hepatozytären Zellkulturen zu analysieren, wurde ein siRNA-Ansatz gewählt. Jeweils 2 unterschiedliche siRNA gegen Adipophilin bzw. TIP47 erzielten eine deutliche Verminderung der Proteinexpression. Die Herunterregulation von TIP47 hatte keinen Einfluss auf die Expression von Adipophilin (■ **Abb. 3 a**), und die Herunterregulation von Adipophilin hatte keinen Effekt auf die Expression von TIP47 (■ **Abb. 3 b**). Darüber hinaus konnte bislang keine Expressionsänderung weiterer PAT-Proteine wie z. B. Perilipin festgestellt werden. Die Zellviabilität zeigte durch die verringerte Expression von Adipophilin und TIP47 keine wesentliche Änderung (Daten nicht gezeigt).

## Diskussion

Bei humaner Leberparenchymverfettung wird die Struktur der hepatozytären Lipidtropfen zumindest wesentlich durch Lipidtropfen-assoziierte Proteine der PAT-Familie mit den Hauptmitgliedern Perilipin, Adipophilin und TIP47 sichergestellt [13]. Das Vorhandensein der PAT-Proteine an Lipidtropfen scheint für Lipidtropfen essenziell zu sein, da der Verlust von Adipophilin und Perilipin im Mausmodell organspezifisch eine drastische Reduktion der Lipidtropfen bewirkt [3, 11]. Offenbar können verschiedene PAT-Proteine sich nur bedingt gegenseitig kompensieren. Das differenzielle Verteilungsmuster der PAT-Proteine innerhalb der Leberläppchen bei humaner Leberparenchymverfettung *in situ* sowie die Assoziation mit unterschiedlich großen Lipidtropfen legen nahe, dass TIP47, Adipophilin und Perilipin eine unterschiedliche Rolle im Stoffwechsel und/oder in der Reifung von Lipidtropfen spielen (s. hierzu auch [15]).

Um den Zusammenhang zwischen der Expression bestimmter PAT-Proteine und der Lipidtropfenbiogenese, -aufrechterhaltung und -degradation weiter aufzuklären, sind dynamische Untersuchungen an Zellkulturmodellensystemen notwendig.

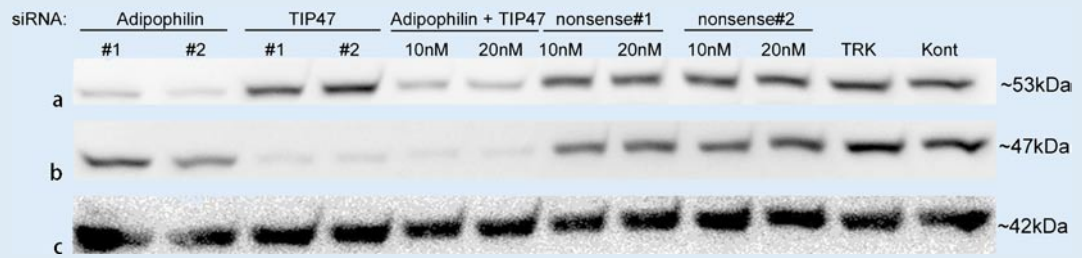


**Abb. 2** ◀ Induktion von Adipophilin in HuH7-Zellen durch Oleatbehandlung. **a** Immunblot-Analyse mit Antikörpern gegen Adipophilin und TIP47 in HuH7-Zellen nach 2, 6 und 10 Tagen Behandlung mit (+) und ohne (–) BSA-gekoppeltem Oleat. Aktin wurde als Ladekontrolle verwendet. Die Molekulargewichtsmarker sind auf der rechten Seite angegeben. **b–g** Immunfluoreszenzmikroskopie von Adipophilin (**b, c rot**), TIP47 (**d, e rot**) und Perilipin (**f, g rot**) in unbehandelten (jeweils links) und oleatbehandelten HuH7-Zellen (jeweils rechts). Zur Kollokalisation der jeweiligen PAT-Proteine mit Bodipy-positiven Lipidtröpfchen (*grün*) s. Insets in **c, e** und **g**. Die Zellkerne sind in *blau* (DAPI) dargestellt (Größenstandard: jeweils 20 µm)

In einem gängigen Steatosezellkulturmodell werden Zellen typischerweise bis zu 2 Tage mit BSA-gekoppelter Ölsäure inkubiert. Nach Verlängerung dieses Zeitraums auf bis zu 10 Tage war zusammen mit dem vermehrten Vorkommen von

größeren Lipidtröpfchen eine zunehmende Expression von Adipophilin nachweisbar. Zumindest für Adipophilin lässt sich also der in humaner Leberparenchymverfettung [13] gezeigte direkte Zusammenhang des Steatosegrads mit der Adipophi-

lin-Proteinmenge reproduzieren. Im Gegensatz zur humanen Situation wird Perilipin im vorliegenden Modell nicht induziert. Bei Oleatbehandlung blieb die Proteinmenge von TIP47 unbeeinträchtigt; es kommt folglich in oleatbehandelten Zel-



**Abb. 3** ▲ siRNA-vermittelte Herunterregulation von Adipophilin und TIP47. Die Herunterregulation von Adipophilin und/oder TIP47 wurde mit je 2 unterschiedlichen siRNA (10 nM) in HuH7-Zellen durchgeführt und mit Immunblot-Analyse überprüft. Antikörper gegen Adipophilin (a) und TIP47 (b) reagierten mit Proteinbanden bei etwa 53 kDa und etwa 47 kDa. Aktin (c) wurde als Ladekontrolle verwendet. Die Molekulargewichtsmarker sind auf der rechten Seite angegeben (TRK Transfektionsreagenzkontrolle, Kont unbehandelte Zellen)

len zu einer Umverteilung der PAT-Proteine.

Im Hinblick auf eine mögliche therapeutische Anwendung bei Steatose und Steatohepatitis führten wir siRNA-Experimente durch. Die Herunterregulation von Adipophilin zeigte keinen Einfluss auf die Expression von TIP47 und umgekehrt. Dies mag ebenfalls auf eine zumindest partielle Entkopplung der Regulation beider Proteine hindeuten. Bis jetzt hatte weder die verminderte Expression von Adipophilin, TIP47 oder beider Proteine einen Effekt auf die Proteinexpression anderer PAT-Proteine, wie Perilipin. Weitere Untersuchungen werden zeigen, inwiefern eine Herunterregulation bestimmter PAT-Proteine eine extern induzierte Lipidtröpfchenakkumulation und damit einen möglichen Zellschaden verhindern kann.

Im Gegensatz zum Maus- und Zellkulturmodell ist Perilipin (Isoform A) bislang nur bei humaner Leberparenchymverfettung *in situ* nachweisbar. Auch nach bis zu 10 tägiger Induktion mit Ölsäure wird Perilipin A nicht induziert. Während TIP47 eine Rolle bei der Lipidtröpfchenbiogenese zugeschrieben wird [15], könnten Adipophilin und Perilipin eine Rolle bei der Langzeitspeicherung von Fetten spielen.

## Fazit

- Lipidtröpfchen-assoziierte Proteine der PAT-Familie werden differenziell in menschlicher Leber *in situ* exprimiert.
- Das differenzielle Expressionsmuster der PAT-Proteine legt einen Zusammenhang mit der Reifung der Lipidtröpfchen nahe.
- Derzeitige Zellkulturmodelle (einschließlich mit Oleatbehandlung)

**spiegeln partiell die Situation im Menschen wider, wobei Adipophilin, bis jetzt jedoch nicht Perilipin nachweisbar ist.**

## Korrespondenzadresse

**Dr. B.K. Straub**



Pathologisches Institut,  
Universitätsklinik Heidelberg  
Im Neuenheimer Feld 220/221,  
69120 Heidelberg  
beate.straub@med.uni-heidelberg.de

**Danksagung.** Wir danken Herrn Prof. Dr. Werner W. Franke für das wohlwollende Interesse, Herrn Dr. Hans Heid für ausführliche Diskussionen sowie Ralf Zimbelmann (Helmholtz-Gruppe Zellbiologie, DKFZ, Heidelberg) für die Unterstützung bei molekularbiologischen und proteinbiochemischen Vorversuchen. Frau Elisabeth Specht-Delius danken wir für die hervorragende Durchführung immunhistochemischer Arbeiten. Dr. Beate Straub wird durch ein Stipendium des Olympia-Morata-Programms der Medizinischen Fakultät Heidelberg unterstützt.

**Interessenkonflikt.** Die korrespondierende Autorin gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

## Literatur

1. Brasaemle DL, Rubin B, Harten IA et al (2000) Perilipin A increases triacylglycerol storage by decreasing the rate of triacylglycerol hydrolysis. *J Biol Chem* 275:38486–38493
2. Bickel PE, Tansey JT, Welte MA (2009) PAT proteins, an ancient family of lipid droplet proteins that regulate cellular lipid stores. *Biochim Biophys Acta* 1791:419–440
3. Chang BH, Li L, Paul A et al (2006) Protection against fatty liver but normal adipogenesis in mice lacking adipose differentiation-related protein. *Mol Cell Biol* 26:1063–1076
4. Day CP, James OF (1998) Steatohepatitis: a tale of two „hits“? *Gastroenterology* 114:842–845
5. Farese RV, Walther TC (2009) Lipid droplets finally get a little R-E-S-P-E-C-T. *Cell* 139:855–860

6. Greenberg AS, Egan JJ, Wek SA et al (1991) Perilipin, a major hormonally regulated adipocyte-specific phosphoprotein associated with the periphery of lipid storage droplets. *J Biol Chem* 266:11341–11346
7. Heid HW, Moll R, Schwetlick I et al (1998) Adipophilin is a specific marker of lipid accumulation in diverse cell types and diseases. *Cell Tissue Res* 294:309–321
8. Imai Y, Varela GM, Jackson MB et al (2007) Reduction of hepatosteatosis and lipid levels by an adipose differentiation-related protein antisense oligonucleotide. *Gastroenterology* 132:1947–1954
9. Kimmel AR, Brasaemle DL, McAndrews-Hill M et al (2010) Adoption of PERILIPIN as a unifying nomenclature for the mammalian PAT-family of intracellular, lipid storage droplet proteins. *J Lipid Res* 51:468–471
10. Martin S, Parton RG (2006) Lipid droplets: a unified view of a dynamic organelle. *Nat Rev Mol Cell Biol* 7:373–378
11. Martinez-Botas J, Anderson JB, Tessier D et al (2000) Absence of perilipin results in leanness and reverses obesity in *Lepr(db/db)* mice. *Nat Genet* 26:474–479
12. Straub BK, Herpel E, Singer S et al (2010) Lipid droplet-associated PAT-proteins show frequent and differential expression in neoplastic steatogenesis. *Mod Pathol* 23:480–492
13. Straub BK, Stoeffel P, Heid H et al (2008) Differential pattern of lipid droplet-associated proteins and de novo perilipin expression in hepatocyte steatogenesis. *Hepatology* 47:1936–1946
14. Wolins NE, Rubin B, Brasaemle DL (2001) TIP47 associates with lipid droplets. *J Biol Chem* 276:5101–5108
15. Wolins NE, Brasaemle DL, Bickel PE (2006) A proposed model of fat packaging by exchangeable lipid droplet proteins. *FEBS Lett* 580:5484–5491