

エピゲノム変化による肥満・インスリン抵抗性の解明

The Epigenomic Analysis of Obesity and Insulin Resistance

酒井 寿郎 (SAKAI JURO)

東京大学・先端科学技術研究センター・教授



研究の概要

ヒストン H3 の 9 番目のリジン (H3K9) のメチル化はエネルギー (脂肪) 蓄積と消費に関与する。脱メチル化酵素 JHDM2A 欠損マウスは肥満となる。本研究では脂肪細胞での動的なエピゲノムを解析し、H3K9 のチップシーケンシング・質量分析解析から標的遺伝子を探索し、H3K9 脱メチル化異常が肥満を発症するメカニズムをクロマチン構造の変化から解明する。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：代謝学

キーワード：メタボリックシンドローム

1. 研究開始当初の背景

PPAR γ の ChIP on Chip から、SEDB1、SETD5 を含む数個のヒストン修飾酵素遺伝子を明らかとし、中でもヒストン H3K9 のメチル化が脂肪細胞での栄養蓄積に関与すること、H3K9 脱メチル化酵素 (JHDM2A) 欠損マウスが肥満・インスリン抵抗性を呈することを明らかとしたが、詳細なメカニズムは明らかでなかった。

2. 研究の目的

本研究では、H3K9 のメチル化酵素と脱メチル化酵素を介する糖および脂質代謝のエネルギー代謝のエピジェネティックな制御のメカニズムを明らかにし、新規の生活習慣病の治療法をめざす。

3. 研究の方法

H3K9 のメチル化酵素・脱メチル化酵素抗体でチップシーケンシング (ChIP Seq) による遺伝子局在解析とエピゲノム解析を行う。質量分析を用いてのプロテオーム解析・翻訳後修飾解析、遺伝子発現解析など細胞レベルでの要素技術を駆使し、エピゲノム変化に伴うエネルギー代謝を 3T3-L1 脂肪細胞をモデルに上記要素技術解析を行う。H3K9 脱メチル化異常による肥満マウスの肥満解析には褐色脂肪細胞を樹立し、H3K9 などの ChIP-seq から標的を探索し、クロマチン構造の変化との情報と結びつける。さらに、これまで機能不明の SETD5 の脂肪細胞分化の役割を解明し、エピゲノムと肥満・生活習慣病への理解をより深める。

4. これまでの成果

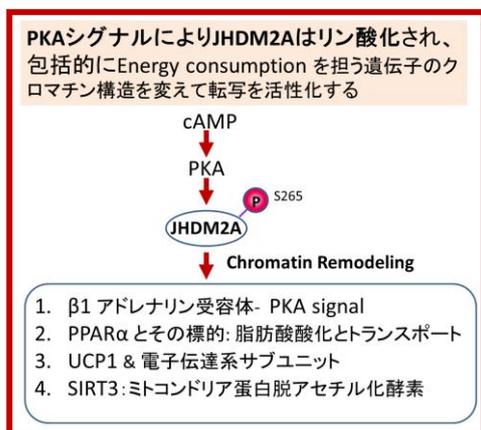
(1) 世界初の ChIP Seq 可能な SETDB1, JHDM2A, SETD5 モノクローナル抗体を作製した。

(2) 脂肪細胞分化時の代謝変動のゲートキーパーとなるヒストンメチル化酵素 SETDB1 ChIP が可能な抗 SETDB1 モノクローナル抗体を作製し技術的な課題をすべてクリアし、SETDB1 のゲノムワイド解析を成功させ H3K9 トリメチル修飾されたヘテロクロマチン領域のシグナルを高感度で得ることに成功した。その結果、SETDB1 が転写因子 C/EBP α 遺伝子に結合し H3K9 トリメチル修飾を入れることにより転写を抑制し、下流の PPAR α を介した代謝関連遺伝子の発現を抑制していることを突き止めた。細胞外フラックスアナライザー (シーホース社) を用いて 3T3-L1 細胞において解糖系の指標となる細胞外酸化速度 (ECAR)、ミトコンドリア活性の指標となる酸素消費速度を解析したところ、ヒストンメチル化酵素 SETDB1 が脂肪細胞分化に伴う代謝変動を制御することを生理的にも明らかにした。我々はヒストンメチル化酵素 SETDB1 が脂肪細胞分化時の代謝変動のゲートキーパーとして機能することを提唱した。

(3) 「環境変化がどのようにしてエピゲノム修飾と肥満につながるか？」の解明

---エネルギー消費 (太りやすさ・痩せやすさ) を担う JHDM2A は PKA シグナルでリン酸化されスイッチ ON となる

エネルギー消費は、寒冷あるいは飢餓時に活性化される交感神経系を介した PKA (プロテインキナーゼ A) シグナルによって促進される。我々は cAMP-PKA シグナルによって **JHDM2A** がリン酸化修飾を受けることで活性化され、熱産生すなわちエネルギー消費に**関与する数種類のモジュールの遺伝子群のクロマチン構造を変化させ、転写を ON にする** という一連のメカニズムの一端を解明した。さらに、JHDM2A リン酸化抗体作製にも成功し、追従を許さぬ独自性を取得した。さらに、不死化褐色脂肪細胞 のトランスクリプトーム解析から、JHDM2A は、① PPAR α とその標的: 脂肪酸酸化とトランスポート、②UCP1 & 電子伝達系サブユニット、に加えて、③ B1 アドレナリン受容体、④ SIRT3: ミトコンドリア蛋白脱アセチル化酵素遺伝子の発現制御を担っていることが明らかになった。



(4) **SETD5** が分ける骨と脂肪細胞
SETD5 は脂肪細胞への分化を抑制し、骨化を促進することが 3T3-L1 前駆脂肪細胞と bone marrow derived ST2 細胞を使った gain & loss of function 解析から解明された。3T3-L1 細胞での数種類の欠失変異体発現解析から、SETD5 の脂肪細胞分化を抑制には SET ドメインは不要、つまり、ヒストンリジンメチル化能は無関係であること、しかし、794-918 番目のアミノ酸残基が必須なこと、さらに、この領域に含まれる一部のセリン・スレオニンがリン酸化修飾をうけることがリン酸化プロテオミクス解析から判明した。アレイ解析から骨細胞への分化に重要な **PBX1** を誘導していることが判明。PBX1 は前骨芽細胞に発現しており、骨への分化に重要なレギュレーター RUNX2 や SOTERIX を制御する転写因子である。それとともに SETD5 が **Wnt5a** を誘導することを見いだした。

5. 今後の計画

- ① JHDM2A がリン酸化で活性化されるメカニズムの解明。JHDM2A 細胞内局在解析、遺伝子局在解析 (ChIP Seq)、JHDM2A 蛋白複合体解析を進める。
- ②分化の過程で SETD5 翻訳後修飾がどのように変化し、酵素活性に影響を及ぼすか、ユビキチン化との関係を引き続き要素技術を駆使し解析する。
- ③ SETD5 の ChIP Seq による標的の同定、質量分析による翻訳後修飾と蛋白複合体解析
- ④ SETD5 ノックアウトマウスの解析

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む) 学会賞

日本動脈硬化学会 第 6 回 五島雄一郎賞(平成 22 年度) (2011 年 7 月 16 日、札幌)

発表論文

Nakae J, Cao Y, Hakuno F, Takemori H, Kawano Y, Sekioka R, Abe T, Kiyonari H, Tanaka T, Sakai J, Takahashi S, Itoh H. (2012) Novel repressor regulates insulin sensitivity through interaction with Foxo1. **Embo J**, 31, 2275-95.

Mimura I, Nangaku M, Kanki Y, Tsutsumi S, Inoue T, Kohro T, Yamamoto S, Fujita T, Shimamura T, Suehiro J, Taguchi A, Kobayashi M, Tanimura K, Inagaki T, Tanaka T, Hamakubo T, Sakai J, Aburatani H, Kodama T, Wada Y. (2012) Dynamic change of chromatin conformation in response to hypoxia enhances the expression of GLUT3 (SLC2A3) by cooperative interaction of hypoxia-inducible factor 1 and KDM3A. **Mol Cell Biol**, 32, 3018-32.

Waki H, Nakamura M, Yamauchi T, Wakabayashi K, Yu J, Hirose-Yotsuya L, Take K, Sun W, Iwabu M, Okada-Iwabu M, Fujita T, Aoyama T, Tsutsumi S, Ueki K, Kodama T, Sakai J* (* corresponding author), Aburatani H, Kadowaki T. (2011) Global mapping of cell type-specific open chromatin by FAIRE-seq reveals the regulatory role of the NFI family in adipocyte differentiation. **PLoS Genet**, 7, e1002311.

Okamura M, Inagaki T, Tanaka T, Sakai J. (2010) Role of histone methylation and demethylation in adipogenesis and obesity. **Organogenesis**, 6, 24-32.

Kuwahara A, Hirabayashi Y, Knoepfler PS, Taketo MM, Sakai J, Kodama T, Gotoh Y. (2010) Wnt signaling and its downstream target N-myc regulate basal progenitors in the developing neocortex. **Development**, 137, 1035-44.

ホームページ等

<http://www.mm.rcast.u-tokyo.ac.jp/>