

令和 2 年 5 月 28 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08566

研究課題名(和文) 視床下部摂食代謝中枢におけるN6-メチルアデノシンの制御と役割

研究課題名(英文) Role of N6-methyladenosine in the control of body weight

研究代表者

河野 大輔 (Kohno, Daisuke)

群馬大学・生体調節研究所・助教

研究者番号：10382904

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：N6-メチルアデノシン修飾(m6A修飾)は、RNAのメチル化修飾であり、RNAの様々な機能に影響することが知られている。視床下部摂食代謝中枢は、食欲や熱産生を制御することにより全身のエネルギーバランスを調節し、体重を一定に保つ役割をしている。本研究では、m6A修飾の脱メチル化酵素のFTOが、視床下部摂食代謝中枢の特定のニューロンで、体重を増加させる働きをしていることを明らかにした。その機序としては、FTOが、m6A脱メチル化を介して選択的スプライシングを調節し、軸索輸送に影響を与えており、その結果、食欲の亢進、効率的な栄養素の利用につながることを示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、世界的に肥満者が増加しており、糖尿病などの病気の患者の増加を引き起こしている。肥満者の増加には、食事や移動手段の変化などの環境要因が関与していると考えられている。m6A修飾は、環境要因の影響を受けて変化する修飾であるため、環境要因により誘導される肥満の分子機序の一部になっている可能性がある。したがって、FTOやm6A修飾を標的とした肥満の予防法や治療法の開発に将来的につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：N6-methyladenosine (m6A) RNA modification is an RNA modification that affects some RNA functions. Hypothalamic feeding center plays important role in the control of feeding and metabolism. In this study we found that FTO in a group of hypothalamic feeding center neurons plays indispensable role in the body weight control. Mechanistically, FTO demethylates m6A and controls alternative splicing of genes related to some neuronal functions. In the neurons, FTO stimulates feeding and alters nutrient utilization.

研究分野：生理学、内分泌学、肥満学

キーワード：FTO 肥満 視床下部

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、世界的に肥満者が急増しており、糖尿病などの病気の増加を引き起こしている。肥満者の増加には、食事や移動手段の変化などの環境要因が特に影響していると考えられている。生体内の環境応答機構の一つに、後天的な遺伝子発現調節機構であるエピゲノム修飾がある。摂食行動や代謝の調節に関与する細胞のエピゲノム修飾の制御を調べることにより、環境要因に由来する肥満の発症機序の一端を明らかできる可能性がある。エピゲノム修飾の中には、DNA やヒストンなどの様々なレベルでの調節が含まれているが、本研究課題では、それらの中でも最近になって明らかになってきた RNA メチル化修飾である N6-メチルアデノシン修飾 (m6A 修飾) に焦点を当てた。m6A 修飾は、RNA のアデニンにメチル基が付与される修飾であり、RNA の様々な機能に影響することが知られている。m6A 修飾のメチル化酵素や脱メチル化酵素、また、リーダーと呼ばれる m6A 修飾に結合して機能に結び付ける結合タンパクが、最近の研究で明らかになってきた。非常に興味深いことに、m6A 修飾の脱メチル化酵素の FTO は、肥満と関連があることが知られている。体重の調節には、体内の様々な組織が関係しているが、それらの統合的な制御を担うのが視床下部摂食代謝中枢である。視床下部摂食代謝中枢は、食欲や熱産生を調節することにより、全身のエネルギーバランスを一定に保つ役割をしている。そこで本研究では、視床下部摂食代謝中枢の FTO に注目した。

2. 研究の目的

視床下部における FTO や m6A の体重調節における役割は、いまだほとんど分かっていない。そこで、以下を明らかにすることを目的とした。

- (1) FTO は、視床下部摂食代謝中枢の中のどのニューロン群で、体重調節を担っているか。
- (2) 視床下部の FTO は、如何なる機序により体重調節を行っているか。

3. 研究の方法

- (1) Fto-lacZ マウスの X-gal 染色や、Fto in situ ハイブリダイゼーションなどの組織学的手法を用いて、Fto の視床下部における発現場所を調べた。
- (2) Cre/loxP システムにより、視床下部摂食代謝中枢を構成する各神経核やニューロン群特異的 FTO 欠損マウスを作成し、体重を測定した。
- (3) m6A 抗体を用いた RNA の免疫沈降と、それに続く RNA-seq により、m6A 修飾パターンの網羅的解析を行った。
- (4) RNA-seq 後、Isoform 解析を行い、選択的スプライシングの変化を網羅的に調べた。

4. 研究成果

(1) 視床下部における FTO の分布を調べた。Fto の in situ ハイブリダイゼーションを行ったところ、FTO は、弓状核、室傍核、腹内側核に豊富に発現していた。そこで、弓状核の特定のニューロンとの共局在を調べた。Fto 遺伝子の発現にともない LacZ を発現する Fto-lacZ マウスと Npy-hrGFP マウスまたは POMC-GFP マウスと掛け合わせたマウスを作成し、脳切片を X-gal 染色したところ、FTO は、NPY/AgRP ニューロンの 85%、POMC ニューロンの 63% に共局在していた。これらのことから FTO は、視床下部摂食代謝中枢ニューロンに広く発現しており、特に、NPY/AgRP ニューロンに豊富に発現していることが明らかになった。

(2) 視床下部摂食代謝中枢における FTO タンパクの役割を明らかにするために、摂食代謝中枢を構成する各神経核・神経群特異的に Fto 遺伝子を欠損させたマウスを作成した。AgRP ニューロン特異的 Fto 欠損マウスは、5 週齢から有意な体重減少を呈したのに対し、POMC ニューロン特異的 Fto 欠損マウスや室傍核特異的 Fto 欠損マウス、腹内側核特異的 Fto 欠損マウスは体重の変化は示さなかった。したがって、FTO による体重調節作用の少なくとも一部は、AgRP ニューロンにある FTO により担われていることが明らかになった。そこで AgRP ニューロン特異的 Fto 欠損マウスの表現型の詳細を解析した。AgRP ニューロン特異的 Fto 欠損マウスは、体脂肪率や脂肪組織重量が低下していたのに対し、体長は変化していなかった。したがって、脂肪量の減少による痩せが起こっていることが明らかになった。AgRP ニューロン特異的 Fto 欠損マウスは、摂食量が減少していた。詳細に摂食行動を調べると、暗期のはじめの摂食行動が低下していた。一方で、酸素消費量には違いがなかったため、摂食量の減少により体重減少が引き起こされたと考えられる。また、呼吸商が低下しており、血液中の遊離脂肪酸濃度も有意に低下していた。エネルギー源として脂肪利用の割合が増えており、食事から得た脂肪がより多く使われているため、血液中の遊離脂肪酸が低下したと考えている。これらから、AgRP ニューロンの FTO は、摂食行動を促進することと、摂取した栄養素の効率的な利用を促進することにより脂肪を蓄積させる作用があることが示唆された。

(3) このような摂食行動や代謝の表現型は、NPY/AgRP ニューロンの機能低下が原因であると推測される。そこで分子機序を明らかにするため、AgRP ニューロン特異的 Fto 欠損マウスの弓状核組織から抽出した RNA を用いて、抗 m6A 抗体を用いた免疫沈降とそれ続く次世代シーケンサー解析 (m6A-seq) および RNA 発現解析 (RNA-seq) を行った。その結果、AgRP ニューロンにおいて、FTO は特に、エクソンやイントロン領域にある m6A 修飾を脱メチル化することが明らかになった。一般に、これらの領域の m6A 修飾は、選択的スプライシングのされやすさに影響することが知られているが、それと一致して、FTO により脱メチル化される遺伝子としては、スプライシングバリエーションを持つ遺伝子が多く含まれていた。また、機能としては、神経成長や膜輸送、選択的スプライシングの調節に関わる遺伝子多く含まれていた。RNA-seq の結果についても重ねて解析すると、m6A-Seq で FTO の標的であると見いだされた遺伝子の 1 割程度しか、RNA 発現の変化を起さなかった。このことは、一般に、m6A 修飾は、RNA 量ではなく、タンパク発現のされ方に影響すると考えられていることと一致するものであった。また、遺伝子発現が変化した遺伝子には、軸索誘導シグナリングや選択的スプライシング、生体膜に関わる遺伝子が多く含まれていた。

(4) そこで、実際に、選択的スプライシング如何に変化しているかを調べるため、神経特異的 Fto 欠損マウスの視床下部組織から抽出した RNA を用いて、RNA-seq を行い、isoform の解析を行った。軸索輸送を担う複数の遺伝子の isoform が特に大きく変化していた。また、m6A-Seq で明らかにされた FTO により脱メチル化される遺伝子も複数、含まれていた。また、組織学的解析から、Fto 欠損マウスにおいて、軸索輸送が低下していることを示唆するデータが得られた。これらことから、FTO は、脱メチル化を介して、主に軸索輸送に関わる遺伝子の選択的スプライシングに影響を与えて、AgRP ニューロンの軸索輸送に影響を与えていることが示唆された。

(まとめ)

本研究により、AgRP ニューロンにある FTO が正常な体重の増加に必須な役割を担っており、そ

の機序に、FTOによるm6A脱メチル化を介した選択的スプライシングの調節と、その結果起こる、軸索輸送の促進が関与していることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 河野 大輔
2. 発表標題 視床下部のFT0によるm6A修飾を介した体重調節機構
3. 学会等名 第39回日本肥満学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 河野 大輔
2. 発表標題 視床下部におけるFT0とm6A修飾の役割
3. 学会等名 第7回日本DOHaD学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 河野大輔
2. 発表標題 FT0によるm6A修飾の制御と体重調節
3. 学会等名 第12回日本エピジェネティクス研究会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 河野大輔、川端麗香、西山正彦、佐々木努、北村忠弘
2. 発表標題 視床下部のFT0による体重調節機構
3. 学会等名 第40回日本肥満学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 河野大輔、常岡明加、川端麗香、西山正彦、佐々木努、北村忠弘
2. 発表標題 視床下部のFT0によるm6A脱メチル化を介した体重調節機構
3. 学会等名 第34回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考