

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860743

研究課題名(和文) 脂肪細胞への運命決定と分化ポテンシャルを規定するエピジェネティック制御機構の研究

研究課題名(英文) Epigenetic regulation of PPAR gamma gene expression and adipocyte differentiation

研究代表者

于 静 (YU, JING)

東京大学・医学部附属病院・研究員

研究者番号：70623875

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：発生分化関連転写因子の発現制御にH3K4me3(活性型)とH3K27me3(抑制型)が同時に起こるBivalent修飾の重要性が提唱されている。ES細胞、マウス白色脂肪組織内前駆細胞や、マウス胎児線維芽細胞MEFでPPAR 1プロモーターにBivalent修飾を認めた。MEFの脂肪分化ではH3K27me3が減少しH3K4me3の活性型に変化した。PPAR 1のBivalent修飾の変化は分化刺激であるDMI刺激に非依存性であった。PPAR 1プロモーターのbivalent修飾は、前駆脂肪細胞/幹細胞の未分化状態におけるPPAR 1の発現ポテンシャルを規定するヒストン修飾である可能性が示唆される。

研究成果の概要(英文)：Recent genome-wide studies of histone modification in ES cells revealed that the promoters of a subset of developmental genes are marked by both active histone H3K4me3 and repressive H3K27me3, which is referred to as bivalent domain and proposed to represent poised status of developmental genes. We show that the promoter region of the PPAR 1 gene is marked by the bivalent modification in ES cells, MEFs and adipocyte progenitor cells in white adipose tissue. Upon differentiation of MEFs, the repressive H3K27me3 of the PPAR 1 promoter decreases while H3K4me3 stays constant resulting in the H3K4me3-dominant pattern. The resolution of the bivalent domain occurs either in the presence or the absence of the adipogenic inducers. The bivalent modification at the PPAR 1 promoter is present in in vivo adipocyte stem/progenitor cells and its resolution appears to be a prerequisite for subsequent activation of PPAR 1 expression and differentiation in response to the adipogenic cue.

研究分野：糖尿病・代謝内科

キーワード：脂肪細胞 Bivalent ヒストン修飾 分化

1. 研究開始当初の背景

各系統(lineage)に分化した細胞は一部を除いて共通の1次塩基配列のゲノム DNA を有するが、細胞が系統・組織特異的で多様性のある遺伝子発現パターンを維持する分子メカニズムとして、エピジェネティクスによるクロマチン構造・遺伝子発現の制御が注目されている。特に DNA のメチル化、ヒストン H3 のリジン K4, K27 のメチル化などのエピゲノム変化は細胞分裂時にも継承される(細胞記憶)。近年シーケンシング技術の進歩で可能となった ChIP-seq などのゲノムワイドなヒストン修飾解析により、ES 細胞などの幹細胞では、活性型のヒストン H3 リジン 4 のトリメチル化(H3K4me3)と、抑制型のヒストン H3 リジン 27 のトリメチル化(H3K27me3)が同時に起こる'bivalent'修飾が、特に発生分化に関わる転写因子のプロモーターに多く存在する事が明らかにされ、発現ポテンシャルを保持しながらも未分化の幹細胞では積極的に発現抑制される事が必要である発生分化に関わる転写因子の転写制御に重要な修飾である事が提唱されている(Cell. 2006 125(2):315-26. Nature. 2007 448(7153): 553-60)。分化に従って、'bivalent'修飾は活性型の H3K4me3 か抑制型の H3K27me3 などの状態に'resolve'すると言われる。多能性幹細胞からの運命決定には(1)各リニエージに適切なエピゲノム状態と(2)分化刺激の両方が必要と考えられる。

2. 研究の目的

核内受容体型転写因子 PPAR は、脂肪細胞分化のマスターレギュレータであり、チアゾリジン誘導体の分子標的である。本研究では脂肪細胞分化における分化スイッチを規定するエピジェネティック制御を明らかにする目的で、脂肪細胞へ分化するポテンシャルを有する ES 細胞、MEF(マウス繊維芽細胞)や各種細胞、および各種血清条件や液性因子による PPAR γ 発現及び脂肪細胞分化のポテンシャルを規定するメカニズムに、エピジェネティクス機構が関与するかどうかを検討する。

3. 研究の方法

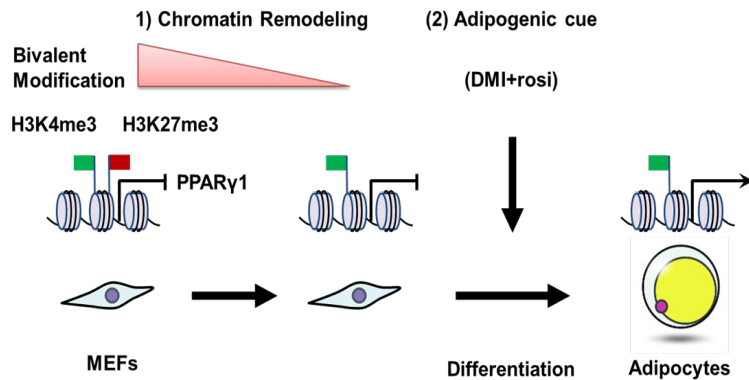
本研究では脂肪細胞分化における分化スイッチを規定するエピジェネティック制御を明らかにする目的で、脂肪細胞へ分化するポテンシャルを有する ES 細胞、MEF(マウス繊維芽細胞)や各種細胞を用いて、各種血清条件や液性因子による PPAR γ 発現及び脂肪細胞分化のポテンシャルを制御するエピジェネティクス機構を検討する。脂肪細胞分化のポテンシャルにおけるエピジェネティクス

制御について、MEF の脂肪細胞分化における Bivalent 解消と遺伝子発現を結ぶメカニズムを解明する。具体的には、分化プログラムのどのステップを制御しているか、過剰発現系や siRNA を用いたノックダウンなどにより検討する。そのほか分化における血清成分によるエピゲノム制御や、筋細胞分化/脂肪細胞分化スイッチや血管内皮細胞におけるエピジェネティクス変化を検討する。

4. 研究成果

マウス繊維芽細胞(MEF)において、脂肪細胞分化を制御する各転写因子のプロモーター領域をクロマチン免疫沈降(ChIP)で検討したところ、PPAR γ 1 プロモーターのみ Bivalent 修飾(H3K4me3(+), H3K27me3(+))を認め、脂肪分化後に PPAR γ 1 プロモーターの H3K27me3 が減少し H3K4me3(+))のみに変化した。この Bivalent 修飾の変化は分化刺激である DMI 刺激に非依存性であった。H3K27me3 の特異的な脱メチル化酵素である Jmjd3 と Utx をノックダウンしたところ、分化に伴う PPAR γ 1 プロモーターの H3K27me3 の消失が減弱し、脂肪細胞分化における PPAR γ とその標的遺伝子の発現誘導および、中性脂肪の蓄積が抑制された。網羅的な発現解析では PPAR γ とその標的遺伝子の発現が抑制され、Jmjd3 と Utx のターゲット遺伝子は PPAR γ と大部分オーバーラップしていた。PPAR γ の過剰発現で Jmjd3、Utx をノックダウンした MEF の表現型をレスキューされた。脂肪細胞分化には PPAR γ 1 プロモーターの Bivalent 修飾の解除が必要であると考えられた。また、マウス胎児線維芽細胞(MEF)以外、ES 細胞、マウス白色脂肪組織由来の脂肪前駆細胞(Lin-/Sca-1+画分)において、PPAR γ 1 プロモーターに Bivalent 修飾(H3K4me3(+), H3K27me3(+))を認めた。一方マウス白色脂肪組織の成熟脂肪細胞や未分化状態の 3T3-L1、C3H10T1/2 細胞では活性型 H3K4me3(+))のみを認めた。以上のことから、PPAR γ 1 プロモーターの bivalent 修飾は、前駆脂肪細胞/幹細胞の未分化状態における PPAR γ の発現ポテンシャルを規定するヒストン修飾である可能性が示唆される。脂肪細胞分化のプロセスには(1)PPAR γ 1 プロモーター領域の H3K27 脱メチル化酵素による Bivalent 修飾の解消と、(2)分化刺激(DMI 刺激)の両方が必要であることが示唆された (図 1)。

1



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計0件)

[学会発表](計9件)

第56回日本糖尿病学会年次学術集会(2013年5月 熊本)

于静、脇裕典、山内敏正、羽田裕亮、岩部真人、岩部美紀、堤修一、油谷浩幸、門脇孝
PPARプロモーター領域の Bivalent ヒストン修飾は脂肪細胞分化ポテンシャルを規定する

73th Scientific Sessions of the American Diabetes Association (Chicago, USA, 2013.6)

Jing Yu, Hironori Waki, Toshimasa Yamauchi, Nozomu Kamei, Yusuke Hada, Masato Iwabu, Miki Okada-Iwabu, Kohjiro Ueki, Shuichi Tsutsumi, Hiroyuki Aburatani, Takashi Kadowaki: Bivalent Histone Modification at the Promoter and Its Resolution Contribute to the Epigenetic Regulation of PPAR Gene Expression and Adipocyte Differentiation

第18回アディポサイエンス・シンポジウム(2013年8月 豊中)

于静、脇裕典、山内敏正、亀井望、熊谷勝義、羽田裕亮、岩部真人、岩部美紀、窪田直人、植木浩二郎、堤修一、油谷浩幸、門脇孝
PPARプロモーター領域の Bivalent ヒストン修飾は脂肪細胞分化ポテンシャルを規定する

49th EASD Annual Meeting (Barcelona, Spain, 2013.9)

Toshimasa Yamauchi, Jing Yu, Hironori Waki, Nozomu Kamei, Yusuke Hada, Masato Iwabu,

Miki Okada-Iwabu, Kohjiro Ueki, Shuichi Tsumi, Hiroyuki Aburatani, Takashi Kadowaki. Bivalent histone modification of the promoter and its resolution contribute to the epigenetic regulation of PPAR gene

第34回日本肥満学会年次学術集会(2013年10月 東京)

于静、脇裕典、山内敏正、亀井望、熊谷勝義、羽田裕亮、岩部真人、岩部美紀、窪田直人、植木浩二郎、堤修一、油谷浩幸、門脇孝
PPARプロモーター領域の Bivalent ヒストン修飾は脂肪細胞分化ポテンシャルを規定する

第34回日本肥満学会年次学術集会(2013年10月 東京)

脇裕典、山内敏正、平池勇雄、于静、青山倫久、中村正裕、孫威、富岡恵、若林賢一、岩部真人、岡田美紀、堤修一、児玉龍彦、酒井寿郎、植木浩二郎、油谷浩幸、門脇孝
白色・褐色脂肪細胞におけるクロマチン構造とエピゲノム制御

第57回日本糖尿病学会年次学術集会(2014年5月24日 大阪市)(口演発表)

于静、脇裕典、山内敏正、亀井望、羽田裕亮、岩部真人、岩部美紀、植木浩二郎、堤修一、油谷浩幸、門脇孝
PPAR γ プロモーター領域の Bivalent ヒストン修飾は脂肪細胞分化ポテンシャルを規定する

第8回日本エピジェネティクス研究会年会(2014年5月27日 東京都)(ポスター発表)

于静、脇裕典、亀井望、羽田裕亮、岩部真人、岩部美紀、植木浩二郎、堤修一、油谷浩幸、山内敏正、門脇孝
PPAR γ プロモーター領域の Bivalent ヒストン修飾は脂肪細胞分化ポテンシャルを規定する

第57回日本糖尿病学会年次学術集会(2015年5月21日 下関)(口演発表)

脇裕典、于静、山内敏正、亀井望、羽田裕亮、岩部真人、岩部美紀、植木浩二郎、堤修一、油谷浩幸、門脇孝
PPAR γ プロモーター領域の Bivalent ヒストン修飾は脂肪細胞分化ポテンシャルを規定する

75th Scientific Sessions of the American Diabetes Association (Boston, USA, 2015.6)

Hironori Waki, Jing Yu, Toshimasa Yamauchi, Nozomu Kamei, Yusuke Hada, Masato Iwabu, Miki Okada-Iwabu, Kohjiro Ueki, Shuichi Tsutsumi, Hiroyuki Aburatani, Takashi Kadowaki: Bivalent Histone Modification at the Promoter and Its Resolution Contribute to the

Epigenetic Regulation of PPAR Gene
Expression and Adipocyte Differentiation

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

于 静 (Yu, Jing)

東京大学・医学部附属病院 特任研究員

研究者番号：70623875

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし