

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26830136

研究課題名(和文) 脂肪細胞のTCA回路を介したエピゲノム制御

研究課題名(英文) Regulation of epigenome via TCA cycle in adipocytes

研究代表者

松村 欣宏 (Matsumura, Yoshihiro)

東京大学・先端科学技術研究センター・助教

研究者番号：20375257

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：脂肪細胞の分化過程でクエン酸回路の α -ケトグルタル酸を合成する酵素であるIDH3の発現が上昇し、細胞内の α -ケトグルタル酸が増加することが明らかとなった。 α -ケトグルタル酸の上昇は、ヒストン脱メチル化酵素であるKDM4Aを活性化し、解糖系遺伝子上のヒストン脱メチル化を促進することを見出した。これにより、解糖系遺伝子の発現が上昇し、糖代謝が亢進し、脂肪が蓄えられることが示唆された。これらの結果は脂肪細胞の分化過程において、代謝がエピゲノムを制御することを示唆する。

研究成果の概要(英文)：This study revealed that during adipogenesis, the TCA cycle enzyme IDH3, which catalyzes the synthesis of α -ketoglutarate, is induced to elevate cellular α -ketoglutarate level. The elevation of α -ketoglutarate activates histone demethylase KDM4A and facilitates histone demethylation on glycolysis genes. This, in turn, induces glycolysis genes and promotes glycolysis and lipid accumulation. These results suggest that metabolism regulates epigenome during adipogenesis.

研究分野：エピゲノム

キーワード：代謝ネットワーク エピゲノム 生活習慣病

1. 研究開始当初の背景

メタボリックシンドロームなどの生活習慣病は多因子性疾患であり、その発症メカニズムの解明は高齢化が進む先進国において大きな課題となっている。糖尿病や動脈硬化の発症機序において、脂肪細胞の生理的機能の破綻が重要な役割を担っていると考えられている。したがって、脂肪細胞における脂肪蓄積・燃焼のしやすさといった特性が、先天的な DNA 配列だけではなく、外的環境(栄養過多または欠乏)に反応して後天的なエピゲノムにより制御されるメカニズムを解明することは必須である。申請者の所属する研究室では、脂肪細胞分化のマスターレギュレーターである PPAR γ がヒストン修飾酵素遺伝子の発現調節を介して脂肪細胞のエピゲノム・分化を制御すること (*Mol Cell Biol* 2009)、ヒストンメチル化酵素 SETDB1 が脂肪細胞分化の代謝スイッチとして機能すること、さらにヒストン脱メチル化酵素欠損マウスは栄養環境に適応できず肥満を示すこと (*Genes Cells* 2009) を明らかにしてきた。これらの結果は、細胞の代謝はエピゲノムにより制御されていること示している。一方で反対に代謝がエピゲノムを制御する可能性があると近年報告されている。脂肪細胞において細胞外グルコースは細胞内アセチル CoA 濃度を変化させ、解糖系遺伝子のヒストンアセチル化・発現制御をすること (*Science* 2009)、またがん細胞においてトリカルボン酸 (TCA) 回路異常による代謝物の変化 (α -ケトグルタル酸の欠乏と 2-ヒドロキシグルタル酸の蓄積) が DNA メチル化に関与していることが示唆されている (*Nat Med* 2011)。これらの知見は、細胞内在性代謝物からの視点でエピゲノム制御機構を理解する重要性を提示している。

2. 研究の目的

ヒストン修飾によるクロマチン構造変化は遺伝子発現を後天的に制御し、多因子性疾患発症の鍵となることが知られている。細胞外の環境変化はシグナル伝達を介して、細胞のエネルギー代謝を変化させる。その代謝変化に伴う代謝中間体の変動はいくつかのヒストン修飾酵素の活性を調節し、エピゲノムを変化させる可能性が近年着目されているが、その詳細は未だ不明である。本研究では、脂肪細胞において高発現し α -ケトグルタル酸合成に関わるイソクエン酸デヒドロゲナーゼ (IDH) に焦点をおき、細胞の代謝状態がどのような作用機序でエピゲノムとして記憶され、細胞の特性を決定するかを解明することを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では脂肪細胞の代謝状態がどのような作用機序でエピゲノムを制御するかを明らかにするために、脂肪蓄積に関わる白色脂肪細胞において IDH3 が転写制御する遺伝

子群をマイクロアレイにより同定した。IDH3 により制御されるヒストン修飾を明らかにし、どの遺伝子上でそのヒストン修飾が制御されているかをクロマチン免疫沈降により解析した。CE-TOFMS によるメタボローム解析により、IDH3 依存的な代謝物 (α -ケトグルタル酸) の変化を解析した。また siRNA によるスクリーニングを行い、IDH3 により活性が制御されるヒストン修飾酵素を同定した。IDH3 に依存した糖代謝の変化を細胞外フラックスアナライザーで解析した。さらに α -ケトグルタル酸合成の制御機構を明らかにするために、IDH の酵素活性測定、細胞内局在解析を行った。

4. 研究成果

3T3-L1 脂肪細胞分化過程におけるマイクロアレイ解析、メタボローム解析から、分化に伴い *Idh3a*, *Idh3b*, *Idh3g* の遺伝子発現が誘導され、 α -ケトグルタル酸が 3 倍上昇することがわかっている。siRNA を用いて IDH1, IDH2, IDH3 α , IDH3 β , IDH3 γ のノックダウン実験を行ったところ、IDH3 β のノックダウンを行ったときのみ脂肪滴蓄積の抑制が認められた。またマイクロアレイ解析から、IDH3 β をノックダウンすると解糖系の遺伝子群の発現が大きく低下することが明らかとなった。さらにメタボローム解析から、IDH3 β をノックダウンすると分化過程における α -ケトグルタル酸の上昇が抑制されることが分かった (図 1)。細胞外フラックスアナライザー解析から、IDH3 β をノックダウンすると、糖代謝の亢進が抑制されることが明らかとなった。以上のことから、分化に伴う IDH3 依存的な α -ケトグルタル酸の上昇が、何らかのヒストン脱メチル化酵素の活性化を介して、解糖系の遺伝子群を包括的に制御することが示唆された。

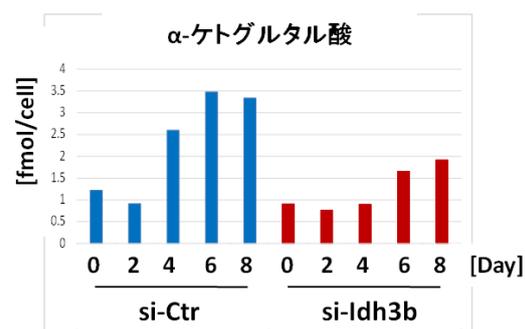


図 1. IDH3 β ノックダウン下でのメタボローム解析

前駆脂肪細胞において解糖系遺伝子群の発現を抑制しているヒストン修飾を明らかにするために、クロマチン免疫沈降により抑制系のヒストン修飾である H3K27me $_3$ 、H3K9me $_3$ 、H3K9me $_2$ について解析を行った。前駆脂肪細胞において解糖系の *Slc2a4*、*Hk2* 遺伝子は H3K9me $_2$ により発現が抑制されており、分化過程で H3K9me $_2$ の脱メチ

ル化が起こり、遺伝子発現が誘導されることがわかった。また、IDH3Bをノックダウンすると、解糖系遺伝子上のH3K9me2の脱メチル化が抑制された。次にH3K9me2の脱メチル化に関与するKDM3A, KDM3B, KDM4A, KDM4B, KDM4C, KDM4D, PHF2, PHF8についてsiRNAによるノックダウン実験を行った。KDM4Aのノックダウンは脂肪滴蓄積を抑制し、解糖系遺伝子の発現を低下させた。一方で、KDM4Aの過剰発現は脂肪滴蓄積を促進し、解糖系遺伝子の発現を増大させた。以上のことから、IDH3はKDM4Aの活性調節を介して、解糖系遺伝子群を包括的に制御し、糖代謝と脂肪蓄積を制御することが示唆された(図2)。

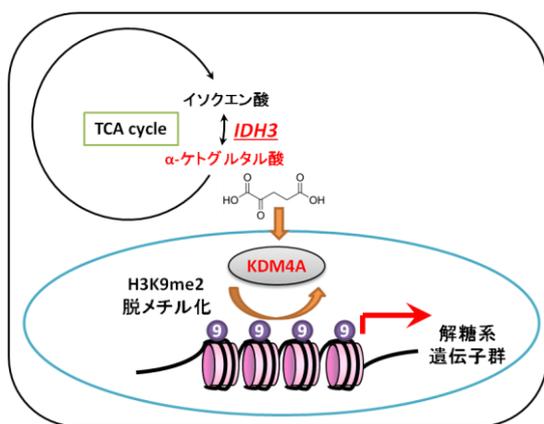


図2. IDH3とKDM4Aによるエピゲノムと解糖系遺伝子の包括的制御モデル

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4件)

- ① Takeshi Inagaki, Satoshi Iwasaki, Yoshihiro Matsumura, Takeshi Kawamura, Toshiya Tanaka, Yohei Abe, Ayumu Yamasaki, Yuya Tsurutani, Ayano Yoshida, Yoko Chikaoka, Kanako Nakamura, Kenta Magoori, Ryo Nakaki, Timothy F. Osborne, Kiyoko Fukami, Hiroyuki Aburatani, Tatsuhiko Kodama, and Juro Sakai. The FBXL10/KDM2B scaffolding protein associates with novel polycomb repressive complex-1 to regulate adipogenesis. *J. Biol. Chem.*, 査読有, 2015, 290, 4163-4177.
- ② Sana Raza-Iqbal, Toshiya Tanaka, Motonobu Anai, Takeshi Inagaki, Yoshihiro Matsumura, Kaori Ikeda, Akashi Taguchi, Frank J. Gonzalez, Juro Sakai, and Tatsuhiko Kodama. Transcripton analysis of K-877, a novel selective PPARα modulator (sPPARMα), regulated genes in primary human hepatocytes and mouse liver. *J. Atheroscler. Thromb.*, 査読有, 2015, 22, 754-772.
- ③ Yohei Abe, Royhan Rozqie, Yoshihiro

Matsumura, Takeshi Kawamura, Ryo Nakaki, Yuya Tsurutani, Kyoko Tanimura-Inagaki, Akira Shiono, Kenta Magoori, Kanako Nakamura, Shotaro Ogi, Shingo Kajimura, Hiroshi Kimura, Toshiya Tanaka, Kiyoko Fukami, Timothy F. Osborne, Tatsuhiko Kodama, Hiroyuki Aburatani, Takeshi Inagaki, and Juro Sakai. JMJD1A is a signal-sensing scaffold that regulates acute chromatin dynamics via SWI/SNF association for thermogenesis. *Nat. Commun.*, 査読有, 2015, 6, 7052.

④ Yoshihiro Matsumura*, Ryo Nakaki, Takeshi Inagaki, Ayano Yoshida, Yuka Kano, Hiroshi Kimura, Toshiya Tanaka, Shuichi Tsutsumi, Mitsuyoshi Nakao, Takefumi Doi, Kiyoko Fukami, Timothy F. Osborne, Tatsuhiko Kodama, Hiroyuki Aburatani, and Juro Sakai*. H3K4/H3K9me3 bivalent chromatin domains targeted by lineage-specific DNA methylation pauses adipocyte differentiation. *Mol. Cell*, 査読有, 2015, 60, 584-596. (*correspondence)

[学会発表] (16件)

- ①稲垣毅、岩崎聡、松村欣宏、川村猛、阿部陽平、吉田文乃、中村加奈子、馬郡健太、仲木竜、田中十志也、児玉龍彦、油谷浩幸、酒井寿郎、FBXL10によるエピゲノム複合体を介した脂肪細胞分化調節機構。第37回日本分子生物学会年会, 2014.11.25-27
- ②山崎あゆむ、大木翔太郎、馬郡健太、松村欣宏、稲垣毅、野出孝一、渡辺琢也、酒井寿郎、SETDYは脂肪細胞分化と骨細胞分化を制御する。第37回日本分子生物学会年会, 2014.11.25-27
- ③阿部陽平、Royhan Rozqie、松村欣宏、川村猛、仲木竜、鶴谷悠也、稲垣(谷村)恭子、塩野陽、馬郡健太、田中十志也、児玉龍彦、油谷浩幸、稲垣毅、酒井寿郎、JMJD1Aのリン酸化スイッチはクロマチンリモデリング因子およびPPARγと複合体を形成し、クロマチンの高次構造を変化させる。第37回日本分子生物学会年会, 2014.11.25-27
- ④Eko F Ariyanoto, Yoshihiro Matsumura Tomoyoshi Soga, Takeshi Inagaki, Juro Sakai. Role of Isocitrate Dehydrogenase 3 in Regulation of Epigenome and Transcription during Adipogenesis. The 37th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, 2014.11.25-27
- ⑤松村欣宏、吉田文乃、仲木竜、鹿野優佳、若林賢一、稲垣毅、深見希代子、油谷浩幸、酒井寿郎、SETDB1は新規のクロマチンドメインを形成することでCepbaの転写と脂肪細胞分化を制御する。第37回日本分子生物学会年会, 2014.11.25-27
- ⑥鹿野優佳、松村欣宏、吉田文乃、柳茂、稲垣毅、酒井寿郎、ヒストンメチル化酵素

SETDB1 のユビキチン化修飾. 第 37 回日本分子生物学会年会, 2014.11.25-27

⑦ Takeshi Inagaki, Satoshi Iwasaki, Yoshihiro Matsumura, Yohei Abe, Timothy F. Osborne, Hiroyuki Aburatani, Juro Sakai. FBXL10/KDM2B Regulates 3T3-L1 Adipogenesis via PRC1-dependent Transcriptional Repression. Deuel Conference on Lipids, 2015.3.3-6

⑧ Yoshihiro Matsumura, Ayano Yoshida, Ryo Nakaki, Ken-ichi Wakabayashi, Takeshi Inagaki, Kiyoko Fukami, Hiroyuki Aburatani, Juro Sakai. Lineage-specific Gene Body DNA Methylation Recruits SETDB1 to Form Non-Canonical Bivalent Chromatin Domains That Inhibit *Cebpa* and *Pparg* expression and adipogenesis. Deuel Conference on Lipids, 2015.3.3-6

⑨ Yohei Abe, Royhan Rozqie, Yoshihiro Matsumura, Takeshi Kawamura, Ryo Nakaki, Yuya Tsurutani, Kyoko Tanimura-Inagaki, Akira Shiono, Kenta Magoori, Kanako Nakamura, Shingo Kajimura, Hiroshi Kimura, Toshiya Tanaka, Kiyoko Fukami, Timothy F. Osborne, Tatsuhiko Kodama, Hiroyuki Aburatani, Takeshi Inagaki, Juro Sakai. PKA-dependent Phospho-switch on JMJD1A Regulates Higher Order Chromatin Dynamics via SWI/SNF Association for Thermogenesis. Deuel Conference on Lipids, 2015.3.3-6

⑩ Yoshihiro Matsumura, Ayano Yoshida, Ryo Nakaki, Ken-ichi Wakabayashi, Takeshi Inagaki, Kiyoko Fukami, Hiroyuki Aburatani, Juro Sakai. Lineage-specific gene-body DNA Methylation and non-canonical H3K4/H3K9me3 bivalent domains maintain adipocyte lineage. The 40th Naito Conference Epigenetics, 2015.9.15-18

⑪ 小山一貴、阿部陽平、松村欣宏、稲垣毅、酒井寿郎、熱産生関連遺伝子の転写制御におけるエンハンサーの機能解析. 第 38 回日本分子生物学会年会 第 88 回日本生化学大会 合同大会, 2015.12.1-4

⑫ 鹿野優佳、松村欣宏、吉田文乃、柳茂、稲垣毅、酒井寿郎、ヒストンメチル化酵素 SETDB1 のユビキチン化修飾. 第 38 回日本分子生物学会年会 第 88 回日本生化学大会 合同大会, 2015.12.1-4

⑬ Eko F. Ariyanto, 松村欣宏、曾我朋義、稲垣毅、酒井寿郎, Metabolic Regulation of Histone Demethylation and Glycolysis Gene Expression by Isocitrate Dehydrogenase 3 during Adipogenesis. 第 38 回日本分子生物学会年会 第 88 回日本生化学大会 合同大会, 2015.12.1-4

⑭ 馬郡健太、山崎あゆむ、大木翔太郎、松村欣宏、稲垣毅、酒井寿郎, SETDY Regulates

C/EBPα Transcription during Adipogenesis. 第 38 回日本分子生物学会年会 第 88 回日本生化学大会 合同大会, 2015.12.1-4

⑮ 松村欣宏、吉田文乃、仲木竜、鹿野優佳、稲垣毅、油谷浩幸、酒井寿郎、細胞系譜特異的 DNA メチル化により形成される H3K4/H3K9me3 クロマチンドメインは脂肪細胞分化を停止させる. 第 38 回日本分子生物学会年会 第 88 回日本生化学大会 合同大会, 2015.12.1-4

⑯ Yoshihiro Matsumura, Ryo Nakaki, Takeshi Inagaki, Ayano Yoshida, Yuka Kano, Hiroshi Kimura, Toshiya Tanaka, Shuichi Tsutsumi, Mitsuyoshi Nakao, Takefumi Doi, Kiyoko Fukami, Timothy F. Osborne, Tatsuhiko Kodama, Hiroyuki Aburatani, Juro Sakai. H3K4/H3K9me3 Bivalent Chromatin Domains Targeted by Lineage-Specific DNA Methylation Pauses Adipogenesis. Keystone Symposia Chromatin and Epigenetics, 2016.3.20-24

〔図書〕 (計 1 件)

酒井寿郎、阿部陽平、松村欣宏、稲垣毅、エピゲノムと脂肪細胞. 実験医学, 2016, 34, No. 2 (増刊), 64-71.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松村 欣宏 (MATSUMURA, Yoshihiro)

東京大学 先端科学技術研究センター
助教

研究者番号 : 20375257

(2) 研究分担者

該当なし ()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

該当なし ()

研究者番号 :