

令和 5 年 6 月 29 日現在

機関番号：11401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19499

研究課題名（和文）新規脂肪前駆細胞群のエピジェネティック制御機構の解明

研究課題名（英文）Epigenetic Regulation of Adipocyte Progenitor Cells

研究代表者

脇 裕典（Waki, Hironori）

秋田大学・医学系研究科・教授

研究者番号：00466765

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：最新のシングルセル解析やリニエージ解析からの新知見で明らかになった生体内の新規脂肪前駆細胞群の定常状態および環境応答・病態による変動の解明にエピゲノム解析を応用し、その制御因子と制御機構を明らかにする目的で、脂肪組織内の脂肪前駆細胞のフローサイトメトリーとエピゲノム解析を施行し新たな性質を有する脂肪前駆細胞群のサブグループを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新知見で明らかになった生体内の脂肪細胞に分化する前駆細胞群について解析を応用し、その制御機構を明らかにする目的で、脂肪組織内の前駆細胞の解析を施行し新たな性質を有する脂肪前駆細胞の一群を見出した。

研究成果の概要（英文）：The aim is to elucidate regulatory mechanism that controls adipocyte progenitor cells in adipose tissue that were newly identified by recent single cell analyses and lineage analyses. We conducted flowcytometry and epigenetic analyses on adipocyte progenitor cells in adipose tissue and identified a subset of progenitor cells that have new characteristics.

研究分野：代謝・内分泌

キーワード：脂肪細胞

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脂肪細胞は全身の糖脂質エネルギー代謝の維持や、肥満、2型糖尿病などの病態形成の上で重要な役割を果たす。近年は、通常の白色脂肪細胞に加えて、寒冷刺激に応答し熱産生の形でエネルギーを消費する褐色脂肪細胞がヒト成人にも存在することが報告され、肥満症治療の観点で注目されている(Lichtenbelt WD, Cypess AM, Virtanen KA, *N Engl J Med.* 2009、Saito M, *Diabetes.* 2009)。

申請者は、3T3-L1 脂肪細胞などの株化された培養細胞の分化過程や、分化した褐色脂肪細胞と白色脂肪細胞を対象に、次世代シーケンサーを利用したエピゲノム解析を行い、脂肪細胞分化過程のエピゲノム変動や、褐色脂肪細胞に特異的な転写制御メカニズムとその制御因子を明らかにしてきた(Waki H. *PLoS Genet.* 2011, 7(10):e1002311、Hiraike Y, Waki H. *Nat Cell Biol.* 2017, 19(9):1081-1092、Hiraike Y, Waki H. *PLoS Genet.* 2020, 16(9): e1009044)。

多彩な分化の系統樹とその制御機構が明らかにされている血球分化など他の細胞系統と比較して、生体の脂肪組織内における脂肪細胞の分化の制御機構の理解は未解決の部分が多かった。近年のシングルセル解析による unbiased な解析やリニエージ解析による新知見で、白色脂肪細胞と褐色脂肪細胞が、それぞれ異なる前駆細胞 myf5⁻および myf5⁺細胞に由来すること、同じ脂肪前駆細胞でも DPP4⁺細胞、ICAM1⁺細胞、CD142⁺細胞などのサブグループが存在し、それらが相互の分化を制御し、階層性をもった分化様式をとることなどが明らかになってきた(Merrick D, *Science* 2019, Schwalie PC, *Nature* 2018, Burl RB, *Cell Metab.* 2018 他)。

これまで脂肪組織内の脂肪細胞はターンオーバーが遅いと考えられていたが、高脂肪食や寒冷刺激などの環境の変化に対する応答に、脂肪前駆細胞から新たに分化する脂肪細胞が寄与することが示唆されている(Wang QA, *Nat Med.* 2013, Lee YH, *Cell Metab.* 2012)。そのため、今回同定された新規脂肪前駆細胞群は、生体内の脂肪細胞の分化制御である点で生理的であるのみならず、環境に対する脂肪組織の可塑性や肥満などの病態にも関与している可能性が十分に想定される。

2. 研究の目的

脂肪細胞分化の研究は脂肪細胞株を軸に大きく進展してきたが、生体内の脂肪細胞の分化の系統やそのしくみは明らかでなく、制御機構や環境応答・病態における役割の解明はいまだ「未開拓の分野」である。最新のシングルセル解析やリニエージ解析からこれまでに知られていなかった脂肪前駆細胞群が報告されるなど新たな展開を見せている(Merrick D, *Science* 2019, Schwalie PC, *Nature* 2018, Burl RB, *Cell Metab.* 2018, Seale P, *Nature* 2008 他)。本研究では、最新のシングルセル解析やリニエージ解析からの新知見で明らかになった生体内の新規脂肪前駆細胞群の性質や環境応答・病態による変動を明らかにし、エピゲノム解析等の網羅的な解析を駆使して制御機構を明らかにする。

3. 研究の方法

本研究では、最新のシングルセル解析やリニエージ解析からの新知見で明らかになった生体内の新規脂肪前駆細胞について、白色・褐色脂肪など各脂肪組織部位、高脂肪食や寒冷環境や肥満などの病態や加齢によって、新規脂肪前駆細胞群の局在や変動をフローサイトメーターや免疫組織化学染色を用いて解析する。ChIP-seq, FAIRE-seq, ATAC-seq により脂肪前駆細胞群のアイデンティティの基盤となるエピゲノムを解析を行う。

4. 研究成果

近年のシングルセル解析による unbiased な解析やリニエージ解析による新知見で、脂肪組織内の脂肪前駆細胞には DPP4⁺細胞、ICAM1⁺細胞、CD142⁺細胞などのサブグループが存在し、それらが相互の分化を制御し、階層性をもった分化様式をとることなどが明らかになってきた。

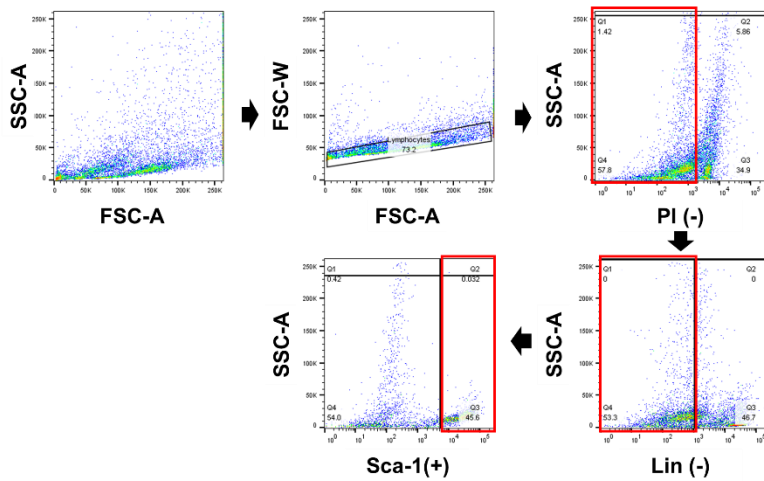


図1 マウス皮下脂肪組織の間質血管分画からの脂肪前駆細胞の分離
 マウス皮下脂肪組織をコラゲナーゼ処理後の間質血管分画からシングルセルを単離し、フローサイトメトリーでPI陰性、Lin (CD31/CD45/Ter-119)陰性を分離後、幹細胞マーカーSca-1陽性細胞を分取した

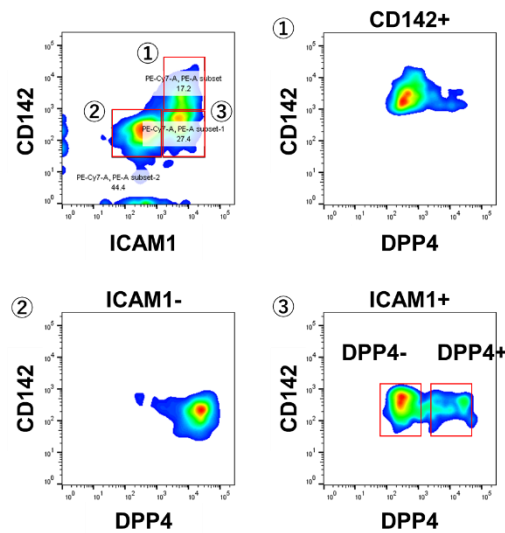


図2 マウス皮下脂肪組織の新規脂肪前駆細胞群

フローサイトメトリーで分離したLin (CD31/CD45/Ter-119)陰性、Sca-1陽性細胞について、近年のシングルセル解析で明らかになった脂肪前駆細胞のサブセットICAM1陽性、DPP4陽性、CD142陽性細胞を分離した。③ではICAM1/DPP4の共陽性前駆細胞を認める。

我々の検討でもマウス皮下脂肪組織をコラゲナーゼ処理後の間質血管分画からシングルセルを単離し、フローサイトメトリーでPI陰性、Lin (CD31/CD45/Ter-119)陰性を分離後、幹細胞マーカーSca-1陽性細胞を分取したのち (図1)、近年のシングルセル解析で明らかになった脂肪前駆細胞のサブセットの細胞表面抗原 ICAM1、DPP4、CD142 でソートしたところ、ICAM1陽性(group 1)細胞、DPP4陽性(group 2)細胞、CD142陽性(group 3)細胞が分離された (図2)。興味深いことに ICAM1陽性細胞においては、DPP4陽性とDPP4陰性の二つの群が存在していた (図2③)。ICAM1/DPP4の共陽性前駆細胞はこれまでに報告がなく、生体内におけるICAM1陽性細胞からDPP4陽性細胞への遷移状態にある細胞である可能性が示唆された。これらの新規前駆細胞群のmRNA解析を施行すると、ICAM1陽性細胞、DPP4陽性細胞のそれぞれのマーカー遺伝子群を発現するほか、網羅的な遺伝子発現解析やエピゲノム解析から特徴的な遺伝子発現パターンやエピゲノム状態を呈していた。これらの細胞の高脂肪食下など環境による変化から、環境に対する脂肪組織の可塑性や肥満などの病態にも関与している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shimizu Tatsunori, Takahashi Yuya, Fujita Hiroki, Waki Hironori	4. 巻 -
2. 論文標題 Pick the best of both glucose and lipid metabolism	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jdi.13774	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 脇 裕典, 山内敏正	4. 巻 14(1)
2. 論文標題 脂肪細胞のエピジェネティック修飾と糖尿病	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 月刊糖尿病	6. 最初と最後の頁 22-27
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 脇 裕典	4. 巻 280(11)
2. 論文標題 褐色・ベージュ・白色脂肪細胞研究UPDATE（特集企画担当）	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 4件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 脇裕典
2. 発表標題 NFIA による褐色脂肪特異的転写プログラムとエネルギー代謝の制御
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 脇裕典
2. 発表標題 脂肪細胞のエピゲノム制御と 肥満 2 型糖尿病における意義
3. 学会等名 日本糖尿病学会 第59回東北地方会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 脇裕典
2. 発表標題 脂肪細胞のエピゲノム制御と肥満 2 型糖尿病における意義
3. 学会等名 日本糖尿病学会 第56回糖尿病学の進歩（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hironori Waki
2. 発表標題 NFIA controls the brown-fat-specific gene program and energy homeostasis
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会（招待講演）
4. 発表年 2022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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------