

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔平成31年度（2019年度）研究進捗評価用〕

平成28年度採択分
平成31年3月13日現在

環境因子とエピゲノム記憶による生活習慣病発症の解明

Elucidation of lifestyle-related diseases development
due to environmental factors and epigenetic memory

課題番号：16H06390

酒井 寿郎 (SAKAI, JURU)

東北大学・大学院医学系研究科・教授



研究の概要（4行以内）

エピゲノム（後天的ゲノム修飾）は環境への適応機構であり生活習慣病発症にも鍵を握る。しかし、多彩な外的環境の変化に対し、どのようにして特異的にエピゲノムを変化させるのか、一連のメカニズムは不明である。本研究では慢性寒冷環境下の脂肪細胞褐色化でのシグナル感知とエピゲノムの書き換えのメカニズムを解明し、生活習慣病への新規治療法開発を目指す。

研究分野：医歯薬学

キーワード：メタボリックシンドローム・エピゲノム・脂肪細胞

1. 研究開始当初の背景

肥満にともなう生活習慣病やがんなどの多因子の疾患の解明は今日、大きな課題となっている。エピゲノムは塩基配列を変えず、DNA やヒストンの化学修飾により遺伝子発現を変える環境への適応機構であり、生活習慣病発症への関与が示唆されている。しかし、多様な外的環境の変化に対応して、どのようにして特異的にエピゲノムが変化するのか、その一連のメカニズム解明は不十分であった。我々はこれまで、統合的なエピゲノム解析技術を確立し、環境変化を感知するエピゲノム酵素複合体の研究を進めてきた。寒冷刺激が感知されると脂肪細胞で細胞内シグナル伝達を介してヒストン脱メチル化酵素 JMJD1A のリン酸化修飾が 265 番目のセリン残基 (S265) で起こり、これが引き金となって誘導されるタンパク質複合体がクロマチン構造変化の初期応答 (1st step) を担うことを解明してきた (Nat Commun 2015)。

2. 研究の目的

本研究では、長期の寒冷刺激が白色脂肪組織をベージュ化するメカニズムとして、環境刺激によるエピゲノム酵素の翻訳後修飾を介した初期応答 (1st step) がエピゲノム変化 (2nd step) をともなう持続応答へとつながるメカニズムを解明する。そして、この 2 step モデルに基づく画期的な生活習慣病の治療法の開発を目指す。

3. 研究の方法

(課題 1) 寒冷刺激に適応したエピゲノム変

化を安定化させ「脂肪を燃焼しやすい体質」誘導できないか、(1-1) 寒冷刺激でリン酸化されない JMJD1A-S265A 変異マウスの適応型熱産生を解析し、(1-2) S265 リン酸化 JMJD1A のフォスファターゼ複合体 (触媒・調節サブユニット) を解明する。(1-3) そして、S265 リン酸化 JMJD1A のフォスファターゼのサブユニット欠損による熱産生能を初代培養細胞、組織特異的遺伝子欠損マウスで解析する。(課題 2) 寒冷刺激以外の 1st step となる刺激の感知機構として、低栄養刺激下での JMJD1A の翻訳後修飾を解明する。(課題 3) ヒストンメチル化酵素 SETDB1 の 1st step としてのユビキチン修飾と脂肪細胞分化を前駆脂肪細胞を用いて解明する。(課題 4) 栄養によるエピゲノム書き換え (2nd step) を脂肪細胞の分化・ベージュ化をモデルに、メタボローム解析や遺伝子改変マウスから解析をする。

4. これまでの成果

(課題 1) 環境適応に必要な、環境変化の感知 (1st step) とエピゲノム書き換え (2nd step) の二段階の連続したステップ機構を証明した (Nat Commun 2018)。①(1-1) 265 番目のセリン残基 S265 は寒冷刺激によってリン酸化され、寒冷シグナルの感知として機能する。S265 をアラニンに変えた S265A-JMJD1A (1st step の変異) マウスは、急激な寒冷刺激下で、低体温を呈し、組織学的にも褐色脂肪組織は白色化し、熱産生遺伝子 *Ucp1*, *Pgc1a* などの寒冷刺激による誘導が顕著に抑制されていた。② この S265A 点変異

マウスでは、白色脂肪組織のベージュ化が顕著に抑制された。③メカニズムとして、白色脂肪細胞では *Ucp1* など熱産生遺伝子はヒストン H3K9 のジメチル化を受け、ヘテロクロマチン化されている。寒冷刺激に伴いこれが消去され、ユークロマチンになるが、JMJD1A が H3K9 ジメチルの脱メチル化（エピゲノム書き換え, 2nd step）を担うことを解明した (Nat Commun 2018)。そして、1st step なしには、エピゲノム変化が起こらないことを示した。

(1-2, 1-3) さらに、寒冷刺激によるリン酸化を維持するフォスファターゼ複合体を特定し、このサブユニットを欠損させ、熱産生への影響を培養細胞や遺伝子改変マウスを用いて解析中である。PPAR γ のベージュ化には JMJD1A の寒冷 (β アドレナリン受容体) 刺激の感知と PPAR γ 経路の相乗作用が必須と解明 (Nat Commun 2018)。

(課題 2) 寒冷刺激以外の 1st step の他のシグナル感知機構について JMJD1A では数個のリン酸化アミノ酸残基を見出し、1st step として刺激 (栄養・ホルモン・サイトカインなど) との関連において解析を進めている。

(課題 3) SETDB1 にはユビキチン化と非ユビキチン化の 2 つのフォームが存在することを発見し、ユビキチン化修飾されるリジン残基を特定した。ユビキチン化されない SETDB1 変異体が脂肪細胞分化マスター遺伝子 *Cebpa* 遺伝子発現を抑制するか否か解析をすすめている。

(課題 4) 栄養・代謝物を介したエピゲノム変化 (2nd step) のメカニズムの解明。(4-1) 前駆脂肪細胞の分化誘導刺激によりクエン酸回路代謝物である α ケトグルタル酸 (α KG) が上昇すると、解糖系遺伝子上で H3K9 ジメチルの脱メチル化が促進し、遺伝子発現が誘導される。 α KG 合成酵素発現を抑制すると、分化誘導刺激時に α KG が上昇せず、解糖系遺伝子上の H3K9 ジメチルの脱メチル化と遺伝子発現誘導が抑制されることを解明した。 α KG を補酵素とする 6 種類すべての H3K9 ジメチルの脱メチル化酵素を各々発現抑制したところ、2 つの脱メチル化酵素が解糖系遺伝子の脱メチル化を担うことを発見した。今後、ヒストンメチル化、アセチル化の変化を解析し、栄養によるエピゲノム制御機構を解明する。

(4-2) 脂肪組織のベージュ化におけるヒストン脱メチル化酵素活性の役割 (2nd step) を明らかにするため、前駆脂肪細胞の JMJD1A をノックダウン後、リン酸化状態を模倣し、かつ酵素活性の不活性化変異を導入した JMJD1A 変異体 (S265D-H1120Y) の解析をおこなった。網羅的な遺伝子発現解析により、*Ucp1* をはじめとする 34 の遺伝子がこの二段階制御を受けることを解明し、提

唱する仮説を証明した (Nat Commun 2018)。さらに脱メチル化活性を失活させた H1122Y 点変異マウスを作製し、個体レベルでの重要性を解析している。

5. 今後の計画

シグナル感知 (1st step) を増強する本研究課題で特定したフォスファターゼタンパク質複合体の解析を引き続き進め、2nd step のエピゲノム変化を増強できるか解析する。1st step となる他の環境刺激についても翻訳語修飾を引き続き解析し、環境刺激の感知とエピゲノムの書き換えによる環境への適応機構をより普遍化する。そして、1st step を標的とした特異性の高いエピゲノムの書き換えにもとづく治療法に向けて貢献する。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

- (1) Abeyaratne Y, Fujiwara Y, Takahashi H, Matsumura Y, Sawada T, Jiang S, Nakaki R, Uchida A, Nagao N, Naito M, Kajimura S, Kimura H, Osborne TF, Aburatani H, Kodama T, *Inagaki T, *Sakai J. (2018) Histone demethylase JMJD1A coordinates acute and chronic adaptation to cold stress via thermogenic phospho-switch. **Nat Commun**, 9, 1566.
 - (2) Yeyati PL, Schiller R, Mali G, Kasioulis I, Kawamura A, Adams IR, Playfoot C, Gilbert N, van Heyningen V, Wills J, von Kriegsheim A, Finch A, Sakai J, Schofield CJ, Jackson IJ, Mill P. (2017) KDM3A coordinates actin dynamics with intraflagellar transport to regulate cilia stability. **J Cell Biol**, 216, 999-1013.
 - (3) Nagai N, Ohguchi H, Nakaki R, Matsumura Y, Kanki Y, Sakai J, Aburatani H, Minami T. (2018) Downregulation of ERG and FLI1 expression in endothelial cells triggers endothelial-to-mesenchymal transition. **PLoS Genet**, 14, e1007826.
- #### 7. ホームページ等
- <http://www.metab.med.tohoku.ac.jp/>
<http://www.mm.rcast.u-tokyo.ac.jp>
- プレスリリース
<https://www.tohoku.ac.jp/japanese/2018/04/press20180420-shibou-nensho.html>
http://www.rcast.u-tokyo.ac.jp/pressrelease/2018/20180419release_rcast_ja.html