

令和 4 年 10 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09818

研究課題名(和文) NFIAによる褐色脂肪分化と糖・脂質・エネルギー代謝の制御機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of Regulatory Mechanism of Brown Adipocyte Differentiation and Glucose, Lipid and Energy Metabolism by NFIA

研究代表者

脇 裕典 (Waki, Hironori)

東京大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：00466765

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：近年の肥満とそれに起因するメタボリックシンドロームの新しい治療標的として褐色脂肪細胞が注目されている。我々は、褐色脂肪と白色脂肪の網羅的なエピゲノム解析により、転写因子NFIAが褐色脂肪特異的な遺伝子の転写制御に重要な役割を果たすことを見出した。NFIAの全身欠損マウスは新生児期に死亡する。脂肪細胞特異的なNFIA欠損マウスやNFIAトランスジェニックマウスを作製するとともに、NFIAによる転写の制御メカニズムを明らかにし、NFIAの成体における転写制御とエネルギー代謝における生理的な役割や環境因子と関連を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脂肪細胞におけるこれまでのNFIAの知見に加えて、成体の全身のエネルギー代謝と環境因子との関連におけるNFIAの役割を明らかになった点で、肥満やメタボリックシンドローム、2型糖尿病などの疾患の治療に役立つ可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Brown adipose tissue has attracted attention as a therapeutic target for obesity. We discovered that a transcription factor NFIA plays an important role in the regulation of brown-adipocyte-specific gene expression. NFIA knockout mice die within a few weeks after birth due to neurological deficit. By creating adipose-tissue-specific NFIA knockout mice and transgenic mice and by studying regulatory mechanism of NFIA, we elucidated NFIA's role in gene regulation and systemic energy metabolism and its relation to environment.

研究分野：糖尿病・代謝内科学

キーワード：褐色脂肪細胞 転写 遺伝子 分化 肥満 糖尿病 トランスジェニック ノックアウト

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

近年の肥満とそれに起因するメタボリックシンドロームの新しい治療標的として褐色脂肪細胞が注目されている。ヒト成人の機能的な褐色脂肪組織の存在や(N Engl J Med 2009; 1500-8, 1518-25, 1509-17. Diabetes 2009;1526-31)、PRDM16 などの褐色脂肪細胞分化制御因子や古典的褐色脂肪と誘導型褐色脂肪細胞(ベージュ脂肪細胞)の性質が明らかにされており、褐色脂肪を増やしたり、機能を高めることが新たな治療になると期待される。

我々は、マウスの褐色脂肪と白色脂肪のゲノム上の転写制御領域であるオープンクロマチン領域を FAIRE-seq で網羅的に解析し、褐色脂肪特異的な転写制御領域に、転写因子 NFIA の結合モチーフが濃縮していることを見出した。NFIA は白色脂肪や骨格筋と比較して褐色脂肪で高発現しており、NFIA を筋芽細胞 C2C12 へ導入することにより、骨格筋の遺伝子プログラムは抑制されるのに対し、褐色脂肪特異的な遺伝子プログラムが誘導され、脂肪の蓄積と酸素消費量の増大が生じた。

NFIA の全身欠損マウスは水頭症などの神経系の異常で生後数日の新生児期に死亡する(Proc Natl Acad Sci U S A. 1997; 96: 11946-51)。出生直後の褐色脂肪の褐色遺伝子の転写異常が起こることを明らかにしたが、成体における NFIA の肥満、耐糖能、インスリン感受性における生理的な役割や環境因子と連関は明らかでなかった。

2. 研究の目的

成体における NFIA の肥満、耐糖能、インスリン感受性における生理的な役割や環境因子と連関を明らかにするために NFIA の組織特異的欠損マウスとトランスジェニックマウスの作成とその解析を試みる。また、これらの知見を糖尿病の治療への応用するために、NFIA を制御する上流の因子や、NFIA と協調する作用する因子など、NFIA の作用メカニズムの解明を試みる。

3. 研究の方法

組織特異的 NFIA 欠損 ES 細胞はバンクより入手する。組織特異的欠損のための Cre ドライバーは Myf5-Cre 及び Adiponectin-Cre マウスを使用する。NFIA^{Myf5} 欠損マウスでは骨格筋と起源を同一とする古典的褐色脂肪について、NFIA^{Adipoq} 欠損マウスでは古典的褐色脂肪及びベージュ脂肪について、その組織重量や褐色脂肪特異的な遺伝子や蛋白の発現に加え、体重、耐糖能、インスリン感受性、酸素消費量などの全身の糖・脂質・エネルギー代謝について解析する。寒冷刺激や $\beta 3$ アドレナリン受容体作動薬による褐色脂肪の活性化や白色脂肪組織のベージュ化、および加齢や高脂肪食における表現型を解析する。また、NFIA の褐色脂肪特異的な転写制御のメカニズムを検討するために、過剰発現や siRNA によるノックダウン、クロマチン免疫沈降などを施行する。

4. 研究成果

初代培養褐色脂肪細胞における NFIA ノックダウンや NFIA 欠損マウスの新生児褐色脂肪において褐色脂肪遺伝子が特異的に抑制された。そのメカニズムとして、NFIA が褐色細胞特異的なエンハンサーに分化に先駆けて結合しクロマチンを開かせ、分化後に共局在するマスターレギュレーター PPAR γ のエンハンサーへの結合を促進することを明らかにし報告した (Nat Cell Biol. 2017 Sep;19(9):1081-1092.)。

褐色脂肪組織の制御因子として同定した NFIA の構造と機能を解析したところ、カルボキシル末端側の 17 アミノ酸(pro#3 ドメイン)が NFIA の転写活性に必須であり、脂肪分化マスター転写因子 PPAR γ の誘導と脂肪分化に重要である一方、NFIA の筋細胞遺伝子プログラムの抑制作用は pro#3 は必須ではなく、筋分化マスター転写因子 MyoD1 のエンハンサーへの KLF5 結合が抑制されていたことから、NFIA は褐色脂肪細胞及び筋細胞遺伝子プログラムを異なる経路で制御することが示唆された (PLoS Genet. 2020 Sep 29;16(9):e1009044.)。

組織特異的 NFIA 欠損 ES 細胞はバンクより入手し、組織特異的欠損のための Myf5-Cre 及び Adiponectin-Cre マウスとの掛け合わせを進め、褐色脂肪細胞および骨格筋特異的な NFIA^{Myf5} 欠損マウス、褐色脂肪及び白色脂肪細胞特異的な NFIA^{Adipoq} 欠損マウスを樹立した。更に、Fabp4 プロモーターを用いた脂肪細胞特異的な NFIA トランスジェニックマウスを樹立した。

これらのマウスの組織重量や褐色脂肪特異的な遺伝子や蛋白の発現に加え、体重、耐糖能、インスリン感受性、酸素消費量などの全身の糖・脂質・エネルギー代謝について検討するとともに、組織や単離した細胞を解析することにより、NFIA の成体における転写制御とエネルギー代謝に

おける生理的な役割や環境因子と関連を明らかにした。また、NFIA の過剰発現や siRNA によるノックダウン、クロマチン免疫沈降などにより、NFIA が制御する因子や NFIA と協調する作用する因子を明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 脇 裕典	4. 巻 8
2. 論文標題 脂肪細胞における転写・エピゲノム制御と糖・脂質エネルギー代謝における意義	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cardio-Renal Diabetes	6. 最初と最後の頁 116-121
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 .
2. 論文標題 褐色脂肪細胞のエピゲノム制御におけるNFIAの役割	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 糖尿病学2018	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 -

1. 著者名 脇 裕典	4. 巻 .
2. 論文標題 脂肪細胞の褐色化のメカニズム：新規治療への応用	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 糖尿病最新の治療2019-2021	6. 最初と最後の頁 44-47
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 Hiraike Y, Waki H, Yu J, Nakamura M, Miyake K, Nagano G, Nakaki R, Suzuki K, Kobayashi H, Yamamoto S, Sun W, Aoyama T, Hirota Y, Ohno H, Oki K, Yoneda M, White AP, Tseng YH, Cypess AM, Larsen TJ, Jaspersen NZ, Scheele C, Tsutsumi S, Aburatani H, Yamauchi T, Kadowaki T	4. 巻 19(9)
2. 論文標題 NFIA co-localizes with PPAR and transcriptionally controls the brown fat gene program.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nature cell biology	6. 最初と最後の頁 1081-1092
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/ncb3590	査読の有無 有
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 該当する

1. 著者名 脇 裕典	4. 巻 35(2)
2. 論文標題 褐色脂肪組織と肥満症	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Medical Practice	6. 最初と最後の頁 269-272
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 Hiraike Y, Waki H, Miyake K, Wada T, Oguchi M, Saito K, Tsutsumi S, Aburatani H, Yamauchi T, Kadowaki T	4. 巻 16
2. 論文標題 NFIA differentially controls adipogenic and myogenic gene program through distinct pathways to ensure brown and beige adipocyte differentiation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS Genetics	6. 最初と最後の頁 e1009044
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pgen.1009044	査読の有無 有
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 該当する

1. 著者名 Hiraike Y, Tsutsumi S, Wada T, Oguchi M, Saito K, Nakamura M, Ota S, Koebis M, Nakao H, Aiba A, Nagano G, Ohno H, Oki K, Yoneda M, Kadowaki T, Aburatani H, Waki H, Yamauchi T.	4. 巻 25
2. 論文標題 NFIA determines the cis-effect of genetic variation on Ucp1 expression in murine thermogenic adipocytes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 104729
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2022.104729	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27件 (うち招待講演 16件 / うち国際学会 11件)

1. 発表者名 Hironori Waki
2. 発表標題 Transcriptional regulation of brown and beige adipocyte differentiation
3. 学会等名 APDO Symposium 2019, Asia-Pacific Diabetes and Obesity Study Group Annual Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hironori Waki
2. 発表標題 Transcriptional regulation of brown and beige adipocyte differentiation
3. 学会等名 2019 International Congress on Obesity and Metabolic Syndrome & Asia-Oceania Conference on Obesity (ICOMES & AOCO 2019) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 脇 裕典
2. 発表標題 褐色脂肪細胞のエピゲノム制御と肥満症における意義
3. 学会等名 第24回アディポサイエンス・シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 脇 裕典
2. 発表標題 肥満と健康の最新の話題 ~ 注目される褐色脂肪細胞とは
3. 学会等名 世界糖尿病デー記念事業 第7回 世界糖尿病デー in たじみ (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 脇 裕典
2. 発表標題 Nuclear Factor I-AI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40回 日本肥満学会 第37回 日本肥満症治療学会学術集会 シンポジウム17 肥満と脂肪組織リモデリング (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大口弥里、平池勇雄、脇裕典、和田孝人、山内敏正、門脇孝
2. 発表標題 NF1AはPRDM16と独立にかつ協調して褐色脂肪細胞分化を制御する
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 脇 裕典
2. 発表標題 シンポジウム1「褐色脂肪特異的な転写制御とゲノム・エピゲノム」
3. 学会等名 第36回日本肥満症治療学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大口弥里、平池勇雄、脇裕典、和田孝人、山内敏正、門脇孝
2. 発表標題 NF1AはPRDM16と独立にかつ協調して褐色脂肪細胞分化を制御する
3. 学会等名 第23回アディポサイエンス・シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大口弥里、平池勇雄、脇裕典、和田孝人、山内敏正、門脇孝
2. 発表標題 NF1AはPRDM16と独立にかつ協調して褐色脂肪細胞分化を制御する
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 脇裕典
2. 発表標題 褐色脂肪細胞のエピゲノム制御と肥満症における意義
3. 学会等名 第53回糖尿病学の進歩（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 脇裕典
2. 発表標題 褐色脂肪細胞のエピゲノム制御と全身の代謝
3. 学会等名 第33回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuta Hiraike, Hironori Waki, Shuichi Tsutsumi, Hiroyuki Aburatani, Toshimasa Yamauchi and Takashi Kadowaki
2. 発表標題 NFIA Co-Localizes with PPARgamma and Activates the Cell-Type-Specific Enhancers to Control the Brown Fat Gene Program.
3. 学会等名 American Diabetes Association's 78th Scientific Sessions（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hironori Waki
2. 発表標題 Transcriptional Regulation of Brown Adipocytes and Its Implication for Obesity in Humans.
3. 学会等名 APDO Symposium 2018, Asia-Pacific Diabetes and Obesity Study Group Joint with the 39th Annual Meeting of Japan Society for the Study of Obesity（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hironori Waki
2. 発表標題 Transcriptional Regulation of Brown Adipocytes and Its Implication for Humans
3. 学会等名 The 4th IMCR Symposium on Endocrine and Metabolism: At the Cutting Edge of Metabolic Regulation Research (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Misato Oguchi, Hironori Waki, Yuta Hiraike, Takahito Wada, Kaede Saito, Shin-ichi Tamaru, Masahiro Nakamura, Toshimasa Yamauchi, Takashi Kadowaki
2. 発表標題 Exploring and characterizing the novel target genes of NFIA in brown adipocytes.
3. 学会等名 International Symposium on Epigenome 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hironori Waki
2. 発表標題 Co-Localization of NFIA and PPAR Controls the Brown Fat Gene Program
3. 学会等名 Translational and Therapeutic Perspectives of Brown Adipose (Copenhagen, Denmark) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yuta Hiraike, Hironori Waki, Shuichi Tsutsumi, Hiroyuki Aburatani, Toshimasa Yamauchi, Takashi Kadowaki
2. 発表標題 Controls the Brown Fat Gene Program by Co-Localizing with PPARgamma at Cell-Type-Specific Enhancers
3. 学会等名 3rd Korea-Japan Diabetes Forum in conjunction with the 30th Spring Congress of Korean Diabetes Association (Busan, Korea, 2017.5) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yuta Hiraike, Hironori Waki, Shuichi Tsutsumi, Hiroyuki Aburatani, Toshimasa Yamauchi, Takashi Kadowaki
2. 発表標題 NFIA Controls the Brown Fat Gene Program by Co-Localizing with PPARgamma at Cell Type-Specific Enhancers
3. 学会等名 77th Scientific Sessions of the American Diabetes Association (San Diego, USA, 2017.6. 9-13) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yuta Hiraike, Hironori Waki, Shuichi Tsutsumi, Hiroyuki Aburatani, Toshimasa Yamauchi, Takashi Kadowaki:
2. 発表標題 NFIA Controls the Brown Fat Gene Program by Co-Localizing with PPARgamma at Cell Type-Specific Enhancers
3. 学会等名 The 9th Asia-Oceania Conference on Obesity (Adelaide, Australia, 2017.10) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yuta Hiraike, Hironori Waki, Shuichi Tsutsumi, Hiroyuki Aburatani, Toshimasa Yamauchi ¹ and Takashi Kadowaki
2. 発表標題 NFIA co-localizes with PPAR and transcriptionally controls the brown fat gene program.
3. 学会等名 Keystone Symposia, Bioenergetics and Metabolic Disease (J4) (Keystone, USA, 2018.1.21-25) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平池勇雄、脇裕典、于静、中村正裕、三宅加奈、鈴木顕、仲木竜、小林博文、和田孝人、孫威、青山倫久、廣田雄輔、長野学、大野晴也、沖健司、米田真康、堤修一、油谷浩幸、山内敏正、門脇孝
2. 発表標題 NFIAは褐色脂肪遺伝子エンハンサーにおいてPPAR と共局在することで褐色脂肪の遺伝子プログラムを制御する
3. 学会等名 第60回日本糖尿病学会年次学術集会 (2017年5月 名古屋)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 三宅加奈、脇裕典、平池勇雄、于静、孫威、青山倫久、山内敏正、門脇孝
2. 発表標題 転写因子NFIAの褐色脂肪分化と筋細胞分化の制御作用ドメインの解析
3. 学会等名 第60回日本糖尿病学会年次学術集会（2017年5月 名古屋）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 脇裕典
2. 発表標題 褐色脂肪細胞におけるエピゲノム制御の分子機構
3. 学会等名 第67回日本体質医学会総会（2017年9月松山）（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 平池勇雄、脇裕典、于静、中村正裕、三宅加奈、仲木竜、長野学、大野晴也、沖健司、米田真康、堤修一、油谷浩幸、山内敏正、門脇孝
2. 発表標題 NFIAは褐色脂肪遺伝子エンハンサーでPPAR と共局在し褐色脂肪細胞の遺伝子プログラムを制御する
3. 学会等名 第38回日本肥満学会（2017年10月 大阪）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 三宅加奈、脇裕典、平池勇雄、于静、青山倫久、山内敏正、門脇孝
2. 発表標題 転写因子NFIAの褐色脂肪分化と筋細胞分化の制御作用ドメインの解析
3. 学会等名 第38回日本肥満学会（2017年10月 大阪）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 脇裕典
2. 発表標題 シンポジウム：褐色脂肪細胞におけるエピゲノム制御の分子機構
3. 学会等名 第38回日本肥満学会（2017年10月 大阪）（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 脇裕典
2. 発表標題 臨床医が知っておくべき糖尿病の基礎～糖尿病とエピゲノム
3. 学会等名 第52回糖尿病学の進歩（2018年3月 福岡）（招待講演）
4. 発表年 2018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