

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06607

研究課題名(和文)代謝調節におけるインプリント遺伝子の役割と進化的意義について

研究課題名(英文)The role of imprinted genes in metabolic regulation and their evolutionary significance.

研究代表者

森田 純代(Morita, Sumiyo)

群馬大学・生体調節研究所・助教

研究者番号：40589264

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)：哺乳類では父親由来・母親由来のゲノムは機能的に等価でない。これは父親由来・母親由来アレル特異的な発現を示すインプリント遺伝子が存在することによる。本研究では、肥満に関連する褐色脂肪細胞およびベージュ脂肪細胞におけるインプリント遺伝子の機能解析を行った。さらにインプリント遺伝子のひとつであるMeg3のコンディショナルノックアウトマウスを作製し、肥満または痩せに与えるかを調べた。このようにして褐色脂肪、およびベージュ脂肪細胞における代謝調節(熱産生)においてインプリント遺伝子がどのような役割をもつのかを明らかにし、ゲノムインプリンティングの生物学的・進化的意義について考察をすすめた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多くの哺乳類でみられる褐色脂肪細胞やベージュ脂肪細胞は全身のエネルギー代謝を制御していることが明らかとなってきた。これらの脂肪細胞は活発に熱を産生しエネルギーを消費することから、肥満や生活習慣病の治療標的として極めて注目されている。本研究ではこれらの脂肪細胞におけるインプリント遺伝子の役割を解析することでインプリント遺伝子の生物学的意義を解明するだけでなく、新たに熱産生機能に関与することが明らかとなったインプリント遺伝子は創薬の標的となる可能性をもち、肥満や生活習慣病の新たな治療戦略として活用できるのではないかと考える。

研究成果の概要(英文)：In mammals, paternally and maternally derived genomes are not functionally equivalent. This is due to the presence of imprinted genes that are expressed in a paternal- and maternal-derived allele-specific manner. In this study, we analysed the function of imprinted genes in obesity-associated brown and beige adipocytes. Furthermore, conditioned knockout mice of one of the imprinted genes, Meg3, were generated and examined for their involvement in obesity or emaciation. In this way, the role of imprinted genes in metabolic regulation (heat production) in brown and beige adipocytes was clarified and the biological and evolutionary significance of genomic imprinting was discussed.

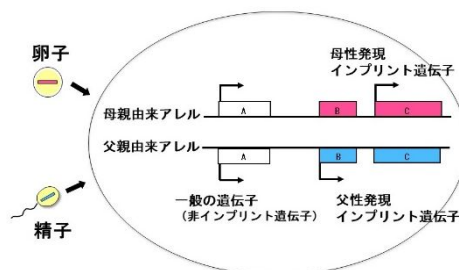
研究分野：分子生物学

キーワード：ゲノムインプリンティング 白色脂肪 褐色脂肪

1. 研究開始当初の背景

哺乳類において父親由来のゲノムと母親由来のゲノムは機能的に等価でない。これはゲノムインプリンティング(ゲノム刷り込み)が存在し、インプリント遺伝子という父親由来アレル特異的あるいは母親由来アレル特異的な発現を示す遺伝子が存在することによる(図1)。したがって父親由来アレルのみを持つ雄核発生胚や母親由来アレルのみをもつ単為発生胚はいずれも正常に発生することができない。ゲノムインプリンティングの生物学的意義については様々な仮説があるが、遺伝子の綱引き説(Moore T and Haig D, *Trends Genet*, 1991)が有力である。それは、胎生という生殖様式を示す動物では父親由来アレルと母親由来アレルは胎児の大きさについて利益が相反するため進化上の圧力がかかり、片親性発現になるというものである。これは利己的遺伝子に基づく概念であり、父性発現インプリント遺伝子は胎児の成育を促進し、母性発現インプリント遺伝子は胎児の成育を抑制すると予測するものである。実際に、これらのインプリント遺伝子は哺乳類の胎児の発達と成長において極めて重要な役割をもつことが明らかにされてきた。さらに綱引き説を提唱したHaigは、胎児期における成長のみならず誕生後の成長期において、父性発現インプリント遺伝子は肥満を抑制し(成長に投資する)、母性発現インプリント遺伝子は肥満を促進する遺伝子であることを予想している(Haig D and Wharton R, *Am. J. Hum. Biol.* 2003)。成体においてインプリント遺伝子の発現異常は体重や代謝に影響を与えることが報告されており、それらの発現異常によって引き起こされる疾患としてPrader-Willi症候群が知られている。これは肥満、体温調節能力の低下、筋緊張低下、自閉症様の行動様式などの症状を呈する。

図1 ゲノムインプリンティングとは？



応募者らはこれまでに食事誘導性肥満における白色脂肪組織でインプリント遺伝子の機能を解析してきた。食事誘導性肥満をおこしやすいC57BL/6J(B6)マウスとおこしにくいPWKマウスを交配したF1では、食事誘導性肥満は父性遺伝することを見出し、これはB6が父親のときのみ、父性発現インプリント遺伝子であるIgf2とPeg3の発現が減少することに起因する可能性を示した(Morita S et al, *PlosOne*, 2014)(図2)。さらに白色脂肪組織におけるRNA-seq解析を行ったところ、父性発現インプリント遺伝子の発現は体重と負の相関を示す傾向があり、母性発現インプリント遺伝子の発現は体重と正の相関を示す傾向があることが明らかとなった(Morita S et al, *Sci Rep.*, 2016)(図3)。つまり父性発現インプリント遺伝子は肥満を抑制し、母性発現インプリント遺伝子は肥満を促進することを示している。応募者が得た結果は上述のHaigの仮説にあてはまるものであり、脂肪蓄積とインプリンティングは哺乳類の進化において密接に関係していることを裏付けるものである。

図2 食事誘導性肥満は父性遺伝する

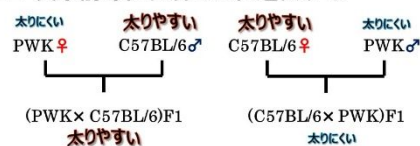
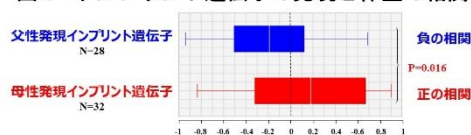


図3 インプリント遺伝子の発現と体重の相関



哺乳類には大きく分けて白色脂肪細胞と褐色脂肪細胞の2種類の脂肪細胞が存在する。褐色脂肪細胞は脂肪のエネルギーを熱に変換し、体温を維持するうえで重要な器官である。さらに近年、ベージュ脂肪細胞が注目を浴びている。これは寒冷刺激により白色脂肪組織から誘導される褐色脂肪類似の脂肪細胞で、褐色脂肪細胞とは異なる。成体における褐色脂肪細胞とベージュ脂肪細胞は熱を産生しエネルギーを消費することから、これらを活性化することでマウスの肥満や糖尿病を改善することが明らかとなっており、治療のターゲットとして期待されている。現在までに約100個のインプリント遺伝子が報告されているが、その多くは熱産生(体温調節)にどのように関与しているかは明らかでない。

2. 研究の目的

成体における褐色脂肪およびベージュ脂肪細胞における代謝調節(熱産生)において、インプリント遺伝子がどのような役割をもつのか、つまり、応募者が前述の白色脂肪細胞を用いた解析で得られた、「父性発現インプリント遺伝子は肥満を抑制し(熱産生促進・エネルギーを消費する)母性発現インプリント遺伝子は肥満を促進する」ことが褐色脂肪およびベージュ脂肪細胞においてもあてはまるのかを検討しようと考えた。そこで、褐色脂肪およびベージュ脂肪細胞において、熱産生におけるゲノムインプリンティングの生物学的意義を明らかにしようと考えた。

3. 研究の方法

高脂肪食、および寒冷刺激された褐色脂肪細胞の発現解析(平成31年度)

高脂肪食摂取したマウス、および寒冷刺激したマウスの褐色脂肪細胞を用いて次世代シーケンサーによる RNA-seq 解析を行う。それぞれ通常食摂取マウス、および通常気温飼育のマウスの褐色脂肪細胞と比較して父性発現・母性発現インプリント遺伝子がどのように発現変動しているかを解析する。寒冷刺激したマウスの褐色脂肪細胞において、父性発現インプリント遺伝子が肥満抑制の側面（熱産生促進・エネルギーを消費する）をもつなら、発現が上昇することが予測される。現在報告されているインプリント遺伝子は約 100 個あるが、成体の褐色脂肪細胞における機能はそのほとんどの遺伝子で明らかとなっていない。これらの解析により、熱産生における機能をもつことが新たに明らかとなるインプリント遺伝子が発見されたと考えている。

ベージュ脂肪細胞の誘導に関わるインプリント遺伝子の探索（平成 31、32 年度）

寒冷刺激によって白色脂肪組織からベージュ脂肪細胞が誘導され、熱産生を行うことが明らかとなっている。このベージュ脂肪細胞を用いて次世代シーケンサーによる RNA-seq 解析を行う。ベージュ脂肪細胞の分化に伴いインプリント遺伝子がどのように変動していくかを解析する。もし父性発現インプリント遺伝子が熱産生を促進するならば、積極的にベージュ脂肪細胞分化に関与しているのではないかと予測している。

コンディショナルノックアウトマウスを作製（平成 31、32、33 年度）

で注目したインプリント遺伝子についてコンディショナルノックアウトマウスを作製し、成体における機能を検証する。発現解析により熱産生（体温調節）に重要と考えられるインプリント遺伝子について、褐色脂肪特異的に遺伝子を欠失するノックアウトマウスを作製し、熱産生（体温調節）にどのように影響を与えるかを検討する。またベージュ脂肪細胞の誘導に重要と思われる遺伝子については脂肪特異的に欠失するノックアウトマウスを作製し、寒冷刺激においてベージュ脂肪細胞の分化にどのように影響を与えるかを解析する。応募者らはコンディショナルノックアウトマウスを 1 ヶ月で作製できる技術を開発している（Horii T et al, Sci Rep., 2017）。その方法により、UCP1(褐色脂肪特異的プロモーター)-Cre マウス、あるいは Adipo(脂肪特異的プロモーター)-Cre マウスの受精卵を用いてコンディショナルノックアウトマウスを短期間で作製することが可能である。研究分担者である堀居拓郎准教授の協力を得て、コンディショナルノックアウトマウスを作製する。

4. 研究成果

哺乳類において父親由来のゲノムと母親由来のゲノムは機能的に等価でない。これはゲノムインプリンティング（ゲノム刷り込み）が存在し、インプリント遺伝子という父親由来アレル特異的あるいは母親由来アレル特異的な発現を示す遺伝子が存在することによる。インプリント遺伝子の進化的意義については胎児の大きさをめぐる父方、母方アレルの間に利益相反があるという Haig の綱引き説が有力である。それは父親としては胎児の体が大きく成長するほうが有利であり、母親としては胎児が大きく成長しすぎると母体が不利益を被るというものである。私たちはこの説を「肥満と痩せ」にまで発展させ、白色脂肪におけるインプリント遺伝子の発現と体重の関係において、父性発現と母性発現インプリント遺伝子の役割の明らかな差を見出した。本研究ではこの説をさらに検証するために、エネルギーを消費し、肥満に関連する褐色脂肪細胞およびベージュ脂肪細胞におけるインプリント遺伝子の発現解析を行い体重との相関を検証した。さらにインプリント遺伝子のひとつである Meg3 のコンディショナルノックアウトマウスを作製し、肥満または痩せに関与するかを調べた。このようにして褐色脂肪、およびベージュ脂肪細胞における代謝調節（熱産生）においてインプリント遺伝子がどのような役割をもつかを明らかにし、ゲノムインプリンティングの生物学的・進化的意義について考察をすすめた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Horii Takuro, Kobayashi Ryosuke, Kimura Mika, Morita Sumiyo, Hatada Izuho	4. 巻 9
2. 論文標題 Calcium-Free and Cytochalasin B Treatment Inhibits Blastomere Fusion in 2-Cell Stage Embryos for the Generation of Floxed Mice via Sequential Electroporation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 1088 ~ 1088
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells9051088	査読の有無 有
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 Horii Takuro, Morita Sumiyo, Hino Shinjiro, Kimura Mika, Hino Yuko, Kogo Hiroshi, Nakao Mitsuyoshi, Hatada Izuho	4. 巻 21
2. 論文標題 Successful generation of epigenetic disease model mice by targeted demethylation of the epigenome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Genome Biology	6. 最初と最後の頁 1-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13059-020-01991-8	査読の有無 有
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 Watanabe M, Nakano K, Uchikura A, Matsunari H, Yashima S, Umeiyama K, Takayanagi S, Sakuma T, Yamamoto T, Morita S, Horii T, Hatada I, Nishinakamura R, Nakauchi H, Nagashima H.	4. 巻 9
2. 論文標題 Anephrogenic phenotype induced by SALL1 gene knockout in pigs.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 8016
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-44387-w.	査読の有無 有
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 Watanabe H, Higashimoto K, Miyake N, Morita S, Horii T, Kimura M, Suzuki T, Maeda T, Hidaka H, Aoki S, Yatsuki H, Okamoto N, Uemura T, Hatada I, Matsumoto N, Soejima H.	4. 巻 34
2. 論文標題 DNA methylation analysis of multiple imprinted DMRs in Sotos syndrome reveals IGF2-DMR0 as a DNA methylation-dependent, P0 promoter-specific enhancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FASEB J.	6. 最初と最後の頁 960-973
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.201901757R.	査読の有無 有
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 Morita S, Horii T, Kimura M, Hatada I.	4. 巻 21
2. 論文標題 Synergistic Upregulation of Target Genes by TET1 and VP64 in the dCas9-SunTag Platform.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 1574
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21051574.	査読の有無 有
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 Hanzawa N, Hashimoto K, Yuan X, Kawahori K, Tsujimoto K, Hamaguchi M, Tanaka T, Nagaoka Y, Nishina H, Morita S, Hatada I, Yamada T, Ogawa Y.	4. 巻 10
2. 論文標題 Targeted DNA demethylation of the Fgf21 promoter by CRISPR/dCas9-mediated epigenome editing.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 5181
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-62035-6.	査読の有無 有
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 -

[学会発表] 計4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 森田純代、堀居拓郎、木村美香、畑田出穂
2. 発表標題 生殖細胞におけるエピゲノム編集の可能性について
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森田純代、堀居拓郎、木村美香、畑田出穂
2. 発表標題 dCas9-SunTagシステムにおいてTET1とVP64を用いた特定遺伝子の相乗的発現誘導法の開発
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森田純代、堀居拓郎、木村美香、畑田出穂
2. 発表標題 CRISPR/Cas9ゲノム編集を応用したTET1とVP64による特定遺伝子の相乗的発現誘導法の開発
3. 学会等名 第14回 日本エピジェネティクス研究会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森田純代、堀居拓郎、木村美香、畑田出穂
2. 発表標題 エピゲノム編集：特定のDNAメチル化領域を効率よく操作する方法の開発
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019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
研究分担者	堀居 拓郎 (Horii Takuro) (00361387)	群馬大学・生体調節研究所・准教授 (12301)	

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
---------	---------