

令和 3 年 8 月 23 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18000

研究課題名(和文) エストロゲンによるエピジェネティクスが糖尿病の発症を抑制する分子メカニズムの解明

研究課題名(英文) Molecular mechanisms of diabetes prevention by estrogen-induced epigenetic changes

研究代表者

辻本 和峰 (Tsujimoto, Kazutaka)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20801525

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)：雌性マウスにおけるPGC1 α の遺伝子発現上昇は、さまざまな条件下での褐色脂肪組織の機能向上と関連しており、PGC1 α によって制御される一部の熱産生遺伝子の発現変化がその機能獲得に寄与していると考えられた。エストロゲンシグナルは直接PGC1 α 遺伝子のDNAメチル化変化を生じておらず、PGC1 α を介してその標的遺伝子のDNAメチル化変化を生じている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

褐色脂肪組織のPGC1 α 遺伝子発現の性差が、熱産生機能向上を介して全身のエネルギー代謝に影響していると考えられた。本研究成果は、女性がいかんして男性よりも糖尿病発症から長期的に保護される体質をどのように獲得しているのか、その分子学的理解に貢献し、生活習慣病に対する新たな予防・治療戦略の基盤となることが期待された。

研究成果の概要(英文)：Elevated mRNA levels of PGC1 α in female mice are associated with brown adipose tissue (BAT) activity under various conditions, and changes in the expression of some thermogenic genes regulated by PGC1 α may contribute to the BAT activity. Estrogen signal did not directly affect DNA methylation of the Pgc1 α in brown adipose tissue, but may affect DNA methylation of PGC1 α -target genes via PGC1 α .

研究分野：内分泌代謝学

キーワード：性差 エネルギー代謝 エピジェネティクス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

閉経前の女性は男性と比較して糖尿病の発症率が低く、さらに閉経後にエストロゲンが男性と同程度にまで低下した状況においても女性の糖尿病発症率は男性と比較して有意に低い。このことは、エストロゲンシグナルを起点として DNA メチル化などのエピゲノム変化が生じ、それが長期に維持されている可能性を想起させる。本研究では、エストロゲンシグナルに着目し、PGC1 遺伝子の DNA メチル化に及ぼす影響、またそのメチル化変化が維持されることで閉経後の糖尿病発症の抑制に寄与するのかを検討する。

2. 研究の目的

性分化や生殖に関連する遺伝子については、エストロゲン受容体を介した DNA メチル化が生じることが報告されていることから、糖代謝に関連する遺伝子においてもエピゲノム変化が生じている可能性が考えられる。そこで、本研究では、糖代謝における性差の機序を、エストロゲンを起点とした「エピゲノム記憶」という新たな視点から解明することを目指す。

3. 研究の方法

(1) 褐色脂肪組織の PGC1 遺伝子発現の雌雄差の比較とその機能的意義解明

食餌誘導性肥満における褐色脂肪組織の PGC1 遺伝子発現の性差を確認するため、8 週齢の雌雄の野生型マウスにそれぞれ高脂肪食を 16 週間負荷した。また寒冷刺激下での PGC1 遺伝子発現の性差を確認するため、12 週齢の雌雄の野生型マウスに寒冷曝露 (10、7 日間) を行い、曝露前後で比較した。さらに、交感神経刺激が褐色脂肪組織の PGC1 遺伝子発現に与える影響を検討するため、β3 受容体アゴニストである CL316243 を 12 週齢の雌雄の野生型マウスにそれぞれ 5 日間投与した。

また、熱電対温度計 TC-2000 (Sable System 社) を用いて、ノルエピネフリン投与下における雌雄の野生型マウスの褐色脂肪組織温度の経時的変化を評価した。

(2) 褐色脂肪組織の PGC1 発現の雌雄差が、全身の糖・エネルギー代謝に及ぼす影響の解明

続いて、褐色脂肪組織の PGC1 発現の雌雄差が個体レベルの糖・エネルギー代謝に対してどのような影響を及ぼしているのか調べるため、Adiponectin-CreERT2^{+/+} マウスと Pgc1a-flox/flox マウスを交配して得られた仔マウスに 5 日間タモキシフェンを投与し、後天的・脂肪組織特異的 Pgc1 欠損マウスを作製した。作製した雌雄のマウスは 13 週齢において解剖した。耐糖能を評価するため 11 週齢において腹腔内グルコース負荷試験を行った。

(3) 褐色脂肪組織の PGC1 遺伝子の DNA メチル化変化の検討

褐色脂肪組織の PGC1 発現の雌雄差に DNA メチル化変化が生じているかどうかを確認するため、8 週齢の雌雄の野生型マウスに通常食および高脂肪食を 8 週間負荷し、褐色脂肪組織における PGC1 遺伝子の DNA メチル化状態を比較検討した。バイサルファイトシークエンス法を用いて、PGC1 遺伝子のプロモーター領域の DNA メチル化率を定量的に評価した。

(4) エストロゲン作用を介した Pgc1a 遺伝子および熱産生関連遺伝子の発現比較

エストロゲン作用が Pgc1a 遺伝子および熱産生関連遺伝子の発現に対してどのような影響を

及ぼしているのか調べるため、エストロゲン欠乏の代表的実験モデルである卵巢摘出マウスの褐色脂肪組織を用いた。10 週齢において卵巢摘出を行った雌性マウスと、偽手術を行った雌性マウスに対して通常食を与え、12 週齢において解析を行った。

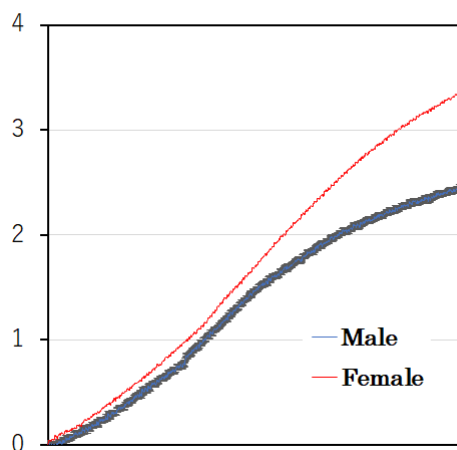
4. 研究成果

(1) 褐色脂肪組織の PGC1 遺伝子発現の雌雄差の比較とその機能的意義解明

雌雄の野生型マウスにそれぞれ高脂肪食を負荷し、食餌誘導性肥満の状態と比較したところ、雌で雄と比較して褐色脂肪細胞における PGC1 遺伝子の有意な発現増加が確認された。また熱産生関連遺伝子である *Ucp1* や *Prdm16* などの発現増加も併せて認められた。寒冷曝露下において、曝露前と比較して、雌雄共に有意な PGC1 遺伝子の発現増加が認められ、その増加は雌性マウスで雄性マウスと比較して顕著であった。さらに、CL316243 を雌雄の野生型マウスにそれぞれ投与すると、投与群は非投与群と比較して、有意な PGC1 遺伝子の発現増加が認められ、その増加は雌性マウスで雄性マウスと比較して顕著であった。これらから、肥満の病態や、寒冷刺激などの交感神経が活性化する状況において、褐色脂肪組織における PGC1 遺伝子の発現が雌有意に増加することが示された。

続いてノルエピネフリン投与下で褐色脂肪組織温度を測定した所、雌優位に投与後の温度上昇と熱産生関連遺伝子の発現上昇が認められ、雌性マウスの褐色脂肪組織は熱産生能が向上していることが確認された(図1)。

図1. 褐色脂肪組織における温度上昇 (°C)



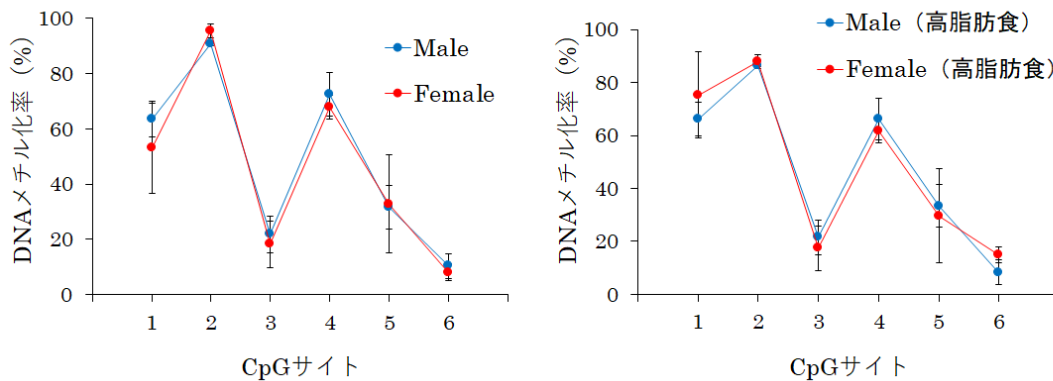
(2) 褐色脂肪組織の PGC1 発現の雌雄差が、全身の糖・エネルギー代謝に及ぼす影響の解明

後天的・脂肪組織特異的 PGC1 欠損マウスは対照群と比較して、体重、褐色脂肪組織、白色脂肪組織の重量に変化を認めなかった。またブドウ糖負荷試験において、PGC1 欠損マウスは対照群と比較して、血糖値および血清インスリン値に差は認められなかった。組織学的検討では、野生型マウスにおいて雌は雄と比較して褐色脂肪組織に特徴的な多房性の小脂肪滴が目立っていたが、PGC1 欠損マウスでは雌雄どちらも小脂肪滴の数が増加した。さらに寒冷刺激下で雌優位に発現上昇した熱産生関連遺伝子の一部は、PGC1 欠損マウスにおいてその発現の雌雄差がキャンセルされた。これらの結果から、雌性マウスで発現増加した褐色脂肪組織の PGC1 が熱産生能獲得に寄与しているものと考えられた。

(3) 褐色脂肪組織の PGC1 遺伝子の DNA メチル化変化の検討

雌雄の野生型マウスで DNA メチル化状態を比較検討した結果、通常食においても高脂肪食負荷においても Pgc1a 遺伝子のプロモーター領域の DNA メチル化率に性差は認められなかった(図2)。このことから、エストロゲン作用は直接 PGC1 遺伝子の DNA メチル化変化を生じておらず、エストロゲン作用は PGC1 を介して、その標的遺伝子である熱産生関連遺伝子の DNA メチル化変化を生じている可能性が推測された。

図2. 褐色脂肪組織における PGC1 α 遺伝子プロモーター領域の DNA メチル化変化



(4) エストロゲン作用を介した PGC1 遺伝子および熱産生関連遺伝子の比較

卵巣摘出マウスの褐色脂肪組織における PGC1 遺伝子の発現には差が見られなかったが、(2)で PGC1 によって制御される熱産生関連遺伝子の一部は、卵巣摘出マウスにおいても発現の有意な低下が認められた。このことから、エストロゲンシグナルと PGC1 が協調して熱産生関連遺伝子の発現を制御しているものと推測された。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Fukuda T., Bouchi R., Asakawa M., Takeuchi T., Shiba K., Tsujimoto K., Komiya C., Yoshimoto T., Ogawa Y., Yamada T.	4. 巻 37
2. 論文標題 Sarcopenic obesity is associated with a faster decline in renal function in people with type 2 diabetes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Diabetic Medicine	6. 最初と最後の頁 105 ~ 113
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/dme.14153	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 Nozomi, Hashimoto Koshi, Yuan Xunmei, Kawahori Kenichi, Tsujimoto Kazutaka, Hamaguchi Miho, Tanaka Toshiya, Nagaoka Yuya, Nishina Hiroshi, Morita Sumiyo, Hatada Izuhō, Yamada Tetsuya, Ogawa Yoshihiro	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 Scientific Reports	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） 10.1038/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1件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 辻本和峰
2. 発表標題 母体栄養環境による糖脂質代謝のエピゲノム制御
3. 学会等名 第92回日本内分泌学会学術総会シンポジウム（招待講演）
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
---------------------------	-----------------------	----

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