

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 7 月 9 日現在

機関番号：82610

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：平成 22 年度～平成 23 年度

課題番号：22890244

研究課題名（和文）糖尿病の成因となるエピゲノム修飾の網羅的解析 - 栄養応答システムとの関連性の解明 -

研究課題名（英文）Analysis of epigenetic changes which cause diabetes mellitus. -Interaction between epigenetic changes and nutritional adaptation systems-

研究代表者

上番増 喬 (TAKASHI UEBANSO)

国立国際医療研究センター研究所・糖尿病研究センター・代謝疾患研究部・研究員

研究者番号：10581829

研究成果の概要（和文）：

糖尿病の成因となるエピゲノム修飾や、それらが栄養状態とどのように関係しているかは明らかでない。そこで、栄養状態に応じて、変化する栄養応答因子を探索した。さらに、明らかとなった栄養応答因子により、膵β細胞株でどのようなエピゲノム修飾の変化が起こるのか検討した。その結果、栄養応答因子である代謝産物によりエピゲノム修飾が変化することがわかった。さらに、この代謝産物を合成する酵素の発現異常が糖尿病モデルマウスで見られたことから、糖尿病や栄養状態の変化に応答する代謝経路およびエピゲノム修飾が明らかになった。

研究成果の概要（英文）：

Interactions among diabetes, nutritional status and epigenetic modification are mysterious. First we assessed nutritional adaptation factors. We next investigated which nutritional adaptation factors or diabetic conditions affect epigenetic modification in pancreatic beta-cells. A metabolite which is regulated by nutritional status regulates epigenetic modification. This metabolite is synthesis by an enzyme which expression was dysregulated in diabetic animals. These results suggest that nutritional or diabetic conditions affect metabolic changes and epigenetic modifications.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 22 年度	1,260,000	378,000	1,638,000
平成 23 年度	1,160,000	348,000	1,508,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,420,000	726,000	3,146,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：環境生理学（含体力医学・栄養生理学）

キーワード：栄養学 糖尿病

## 1. 研究開始当初の背景

栄養素を代謝することで得られるエネルギーは、生命活動の駆動力となる必須のもの

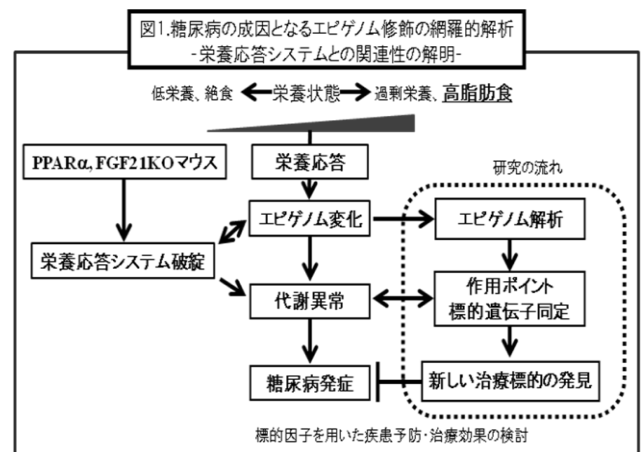
である。供給される栄養素は、量的・質的に均一でないため、摂取する栄養素に応じた代謝適応が重要となる。すなわち、生命活動を

維持するためには、様々に異なる栄養状態を感知し、生体の代謝を調節するシステムが必要である。このシステムの破綻は、代謝恒常性の破綻を意味し、糖尿病をはじめとする生活習慣病の発症に関与することが想定される。そのため、本システムを理解することは重要な課題である。

近年、グルコースを代謝する過程で産生されるアセチル CoA が、ヒストンのアセチル化修飾に用いられることが明らかとなり (Science 2009)、栄養代謝とエピゲノムに関する研究が脚光を浴びてきている。栄養代謝とエピゲノムの関連性における重要な発見は、成人病胎児期発症説に代表される、胎生期の栄養環境が成人期以降の疾病発症に影響を及ぼすことの発見である。興味深いことに、胎児期に低栄養状態に曝されたモデル動物では、出生後の PPARalpha の DNA メチル化や遺伝子発現が変動することが報告されている (J. Nutr., 2005)。また、PPARalpha はヒストン修飾酵素と複合体を形成し、共同して遺伝子転写に働くことが知られている。酪酸代謝産物はこの機構において、ヒストン脱アセチル化酵素を阻害し、PPARalpha 標的遺伝子発現を制御する。我々も、絶食時に産生されるケトン体の一つである beta-ヒドロキシ酪酸が、FGF21 を含む PPARalpha 標的遺伝子発現を変動させることを見出している (未発表データ)。このように、PPARalpha-FGF21 系を含む栄養応答システムはエピゲノム修飾と密接に関係し、糖尿病や代謝異常の発症リスク変動に寄与することが考えられる。しかしながら、生体内において栄養応答システムがエピゲノム修飾といつ、どこで、どのような関連を有しているか、さらにはどのようにして代謝異常の成因となるかは依然不明のままである。

## 2. 研究の目的

糖尿病の成立・進展には、遺伝因子と環境因子が複雑に影響し合っている。近年では、特に栄養状態を含めた環境の総体として、遺伝因子の様に「後に受け継がれる形」で表現系を決定するエピゲノム修飾が注目されている。エピゲノム修飾は、生まれながらに持つ遺伝子が、後天的に受ける修飾であり、糖尿病をはじめとする生活習慣病の発症リスクを規定すると考えられる。エピゲノム修飾は、生後の環境の影響を強く受けるため、栄養状態の変化や栄養環境と密接に関連していることが想定されている。しかしながら、実際にどのような栄養環境がどのようなエピゲノム修飾を制御しているかについては不明である。そこで本研究では、「糖尿病の成因としてのエピゲノム変化」に着目し、生体を取り巻く栄養環境の変化が、エピゲノム修飾に与える影響 (NutriEpigenomics) を動物実験と分子生物学的手法を利用し解析する。さらに、得られた科学的データを活用して、NutriEpigenomics の視点に立った糖尿病の予防法や治療法の開発を目指す。



### 3. 研究の方法

#### (1) 細胞モデル解析を用いた糖尿病エピゲノム解析

糖代謝を制御する重要な臓器として肝臓と膵臓（特に膵 beta 細胞）を標的として、細胞を高グルコースなどの栄養代謝異常シグナルで刺激し、エピゲノム修飾がどのように変化するかを検討した。これまでの検討で、マウス由来肝細胞とラット由来肝細胞ではグルコース応答性が異なることがわかっている（特にラット肝細胞でグルコース応答性が2-3倍程度高い）。そこで、マウス、ラットの初代培養肝細胞を用いて、FGF21を含むグルコース応答性遺伝子の mRNA 発現変動と DNA メチル化の定量、ヒストンアセチル化活性、脱アセチル化活性、ヒストンメチル化を定量し比較検討を行った。特にヒストン H3K9, H3K27 の部位のメチル化は DNA メチル化と同居することが知られており、重点的に検討した。

膵 beta 細胞株である INS-1 細胞を用いて、栄養代謝シグナルがエピゲノム修飾に関与するか検討した。膵 beta 細胞でエピゲノム修飾に関与する可能性のある遺伝子の Loss and gain of function study を行った。

- ①栄養状態に応じて変動し、代謝をコントロールできる因子を探索した。
- ②栄養状態に応じて、細胞内濃度が変化する代謝産物を用いて、エピゲノム修飾を解析した。
- ③糖尿病モデル動物を用いて、代謝を制御する酵素の発現を検討した。

### 4. 研究成果

我々は、栄養状態を反映する代謝産物であるケトン体に着目し実験を行った結果、初代培養肝細胞において、ケトン体の一つである beta ヒドロキシ酪酸が、FGF21 の遺伝子発現を制御することが明らかになった。さらに、beta-ヒドロキシ酪酸はヒストンのリジンメチル化を調節することを見出した。この beta-ヒドロキシ酪酸によるヒストン修飾の方向性は、beta-ヒドロキシ酪酸代謝酵素に依存する。すなわち、ミトコンドリアに局在する beta-ヒドロキシ酪酸デヒドロゲナーゼをノックダウンした細胞では、H3K9 のメチル化が増加し、反対に細胞質に局在する beta-ヒドロキシ酪酸デヒドロゲナーゼをノックダウンした細胞では、H3K9 のメチル化が減少した。さらに、肝細胞に

3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase 2(HMGCS2)を過剰発現すると、ケトン体の合成が高まり、この時産生されるアセトアセチル CoA が、ヒストン脱アセチル化酵素である SIRT1 を介して FGF21 の遺伝子発現を調節することが報告された(J Biol Chem 2011)。つまり、ケトン体の流れ(ketone body flux)を含むケトン体代謝の異常は、PPARα-FGF21 系を含む栄養応答システムやエピゲノム修飾に影響し、糖尿病や代謝異常の発症リスク変動に寄与することが想定される。実際に、日本人妊婦の BMI や新生児の出生時体重が年々低下するのに伴って、飢餓のマーカーである血中ケトン体濃度は上昇している。しかしながら、生体内において ketone body flux の変化や、それに伴って生じるエピゲノム修飾の変化が、各臓器においてどのような役割を有しているか、さらには代謝異常の成因となるかは不明であり、今後の研究課題である。

- ①栄養応答因子として FGF21 を同定した。さらに、FGF21 を制御する代謝産物 A を同定した。
- ②代謝産物 A がヒストン H3 のリジンのメチル化を制御することがわかった。
- ③代謝産物 A の細胞内濃度を調節する酵素の発現が糖尿病モデル動物で変動することがわかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 1 件）

Paradoxical Regulation of Human FGF21 by Both  
Fasting and Feeding Signals: Is FGF21 a  
Nutritional Adaptation Factor?

Uebanso T, Taketani Y and Takeda E

（他12名） PLoS One 2011 6(8) e22976

査読有り doi:10.1371/journal.pone.0022976

〔学会発表〕（計 1 件）

2012年 1月 14-15日 第15回日本病態栄養  
学会年次学術集会（京都）

膵β細胞における、ケトン体代謝酵素 BDH2  
の新規機能解析 上番増 喬 安田 和基  
他5名

6. 研究組織

(1)研究代表者

上番増 喬 (TAKASHI UEBANSO)

研究者番号：10581829