

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 27 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24710225

研究課題名(和文) 栄養環境に応答した代謝物によるエピゲノムのフィードバック制御

研究課題名(英文) Feedback regulation of epigenome by metabolism upon adaptation to nutrition environment

研究代表者

松村 欣宏 (MATSUMURA, YOSHIHIRO)

東京大学・先端科学技術研究センター・助教

研究者番号：20375257

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円、(間接経費) 1,080,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、細胞が栄養環境に適応する際に起こるエピゲノムによる代謝制御ならびに代謝物によるエピゲノムのフィードバック制御を明らかにすることを目的とした。次世代シーケンス解析により、ヒストンメチル化酵素SETDB1は脂肪細胞分化に伴う代謝を制御、ヒストン脱メチル化酵素JMJD1Aは褐色脂肪細胞におけるエネルギー消費を制御することを明らかにした。またメタボローム解析により、脂肪細胞分化過程においてTCAサイクルの代謝物である α -ケトグルタル酸がエピゲノムを制御する可能性を見出した。

研究成果の概要(英文)：Purpose of this study is to identify epigenetic regulation of cellular metabolism upon adaptation to nutrition environment and feedback regulation of epigenome by metabolism. Next generation sequence analysis revealed histone methyltransferase SETDB1 regulates metabolic switch during adipogenesis, and histone demethylases JMJD1A regulates energy expenditure in brown adipose tissue. Furthermore, metabolome analysis suggested the possibility of epigenome regulation by TCA cycle metabolite α -ketoglutarate during adipogenesis.

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ゲノム科学・システムゲノム科学

キーワード：代謝ネットワーク エピゲノム 生活習慣病

1. 研究開始当初の背景

メタボリックシンドロームなどの生活習慣病は多因子性疾患であり、その発症メカニズムの解明は先進国において大きな課題となっている。メタボリックシンドロームでは脂肪細胞の生理機能が破綻することが原因で糖尿病や動脈硬化が発症するメカニズムが注目されており、脂肪細胞の分化メカニズムならびにエネルギー代謝応答のメカニズムの解明が必須である。細胞の分化においては遺伝子発現や遺伝子配列だけでなく、ヒストンの化学修飾によるクロマチン構造変化が遺伝子発現を調節することが明らかになってきている。申請者の所属する研究室では脂肪細胞分化のマスターレギュレーターである PPAR γ がヒストン修飾酵素遺伝子の発現調節をすることにより脂肪細胞のエピゲノム・分化の制御を行い、ヒストン脱メチル化酵素欠損マウスは栄養環境に適応できず肥満を示すことを明らかにしてきている。一方で、ガン細胞においてトリカルボン酸 (TCA) 回路異常による代謝物の変化がエピゲノムに参与していることが示唆されている。これらの結果はエピゲノムが代謝を調節する一方で、代謝物がエピゲノムをフィードバック制御する可能性を示している。

2. 研究の目的

転写抑制のエピゲノムコードとして機能するヒストン H3 の 9 番目のリジン (H3K9) のメチル化修飾に焦点をおき、細胞が栄養環境に適応する際に起こるエピゲノムによる代謝制御、ならびに代謝物によるエピゲノムのフィードバック制御を明らかにすることを目的とする。具体的には栄養環境に応答した 1) 代謝関連遺伝子の発現、2) ATP 産生経路、3) ヒストン修飾酵素活性に必須な補酵素の細胞内レベル、4) ヒストン修飾酵素活性、5) エピゲノム変化の関連性を解明する。

3. 研究の方法

代謝物によるエピゲノムの制御機構を明らかにするために、マイクロアレイおよび ChIP-seq によってヒストン H3 の 9 番目のリジン (H3K9) のメチル化酵素ならびに脱メチル化酵素の標的代謝関連遺伝子群を同定する。脂肪細胞分化ならびに低グルコース刺激に伴う ATP 産生経路の変化をフラックスアナライザーにより解析する。また、ヒストン修飾酵素の補酵素となる S-アデノシルメチオニン (SAM) および α -ケトグルタル酸 (α -KG) の細胞内レベルの変動を質量分析法により定量する。栄養環境変化に伴う補酵素合成酵素の mRNA ならびにタンパク発現と活性の変化を解析する。SAM および α -KG の細胞内レベルの変動に伴うエピゲノム変化を ChIP-PCR により解析する。さらに、精製酵素を用いた in vitro 活性測定により、ヒストン修飾酵素活性の補酵素 SAM および α -KG 濃度依存性を明らかにする。

4. 研究成果

(1)細胞が栄養環境に適応する際に起こるエピゲノムによる代謝制御

脂肪細胞分化を抑制する H3K9 メチル化酵素 SETDB1 の標的遺伝子を同定するために、クロマチン免疫沈降-sequence (ChIP-seq) を行った。SETDB1 は前駆脂肪細胞において転写因子 *Cebpa* の gene body に結合し、H3K9me3 修飾を入れることを明らかにした。また SETDB1 は gene body のメチル化を認識することにより標的遺伝子に局在する可能性を見出した。前駆脂肪細胞では *Cebpa* の近位プロモーターは H3K4me3 修飾を受けているが H3K27me3 修飾は受けておらず、RNA ポリメラーゼ II は転写開始点に停止していた。脂肪細胞分化過程で、SETDB1 の発現低下とともに *Cebpa* の H3K9me3 修飾は減少した。SETDB1 のノックダウンに *Cebpa* の H3K9me3 修飾は消失し、RNA ポリメラーゼ II の停止が解除され、*Cebpa* mRNA とタンパク発現が誘導された。その結果、SETDB1 のノックダウン細胞では *Ppar γ* とトリアシルグリセロール生合成に関わる遺伝子の発現が上昇し、脂肪蓄積が見られた。以上より、SETDB1 は脂肪細胞分化に伴う代謝変動のゲートキーパーとして機能することを明らかにした (図 1)。

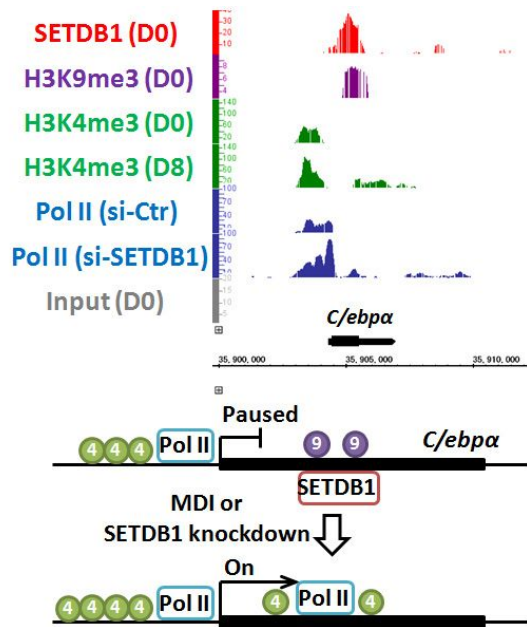


図1. SETDB1による*C/ebpa*発現制御

褐色脂肪細胞におけるマイクロアレイ解析、ChIP-seq 解析によりヒストン脱メチル化酵素 JMJD1A の標的遺伝子を探索し、熱産生に関与する遺伝子 *Adrb1*, *Ucp1* を同定した。さらに寒冷刺激により JMJD1A の Ser265 がプロテインキナーゼ A によりリン酸化されることを明らかにした。リン酸化 JMJD1A は *Adrb1* エンハンサー上でクロマチンリモデリング因子 SWI/SNF および PPAR γ と複合体を形成し、高次クロマチン

構造変化を引き起こすことにより *Adrb1* の転写を誘導することを明らかにした。

(2)代謝物によるエピゲノムのフィードバック制御

3T3-L1 脂肪細胞分化過程において細胞外フラックスアナライザーを用いた代謝解析を行ったところ、分化に伴う解糖系ならびにミトコンドリア酸素消費の亢進が認められた。更にメタボローム解析を行ったところ、脂肪細胞分化に伴う解糖系ならびに TCA サイクル代謝物の増加が見られた。注目すべきことに、JmJc ヒストン脱メチル化酵素の補酵素である α -KG のレベルが脂肪細胞分化過程において約 3 倍増加した。マイクロアレイ解析により、 α -KG 生合成を触媒するイソクエン酸デヒドロゲナーゼ *Idh3a*, *Idh3b*, *Idh3g* mRNA が α -KG の増加に伴って誘導された。脂肪細胞分化を抑制する *Wnt3a* 存在下では *Idh3a*, *Idh3b*, *Idh3g* mRNA の誘導は抑制された。*Idh3b* ノックダウン細胞では、脂肪細胞分化マーカー *Ppar γ* , *Fabp4*, *Adipoq* の発現が維持されているにも関わらず、解糖系遺伝子 *Slc2a4*, *Hk2* の発現誘導が著しく抑制された。これらの結果は脂肪細胞分化過程におけるエピゲノム・転写制御において IDH3 が重要な役割を持っていることを示唆している (図 2)。

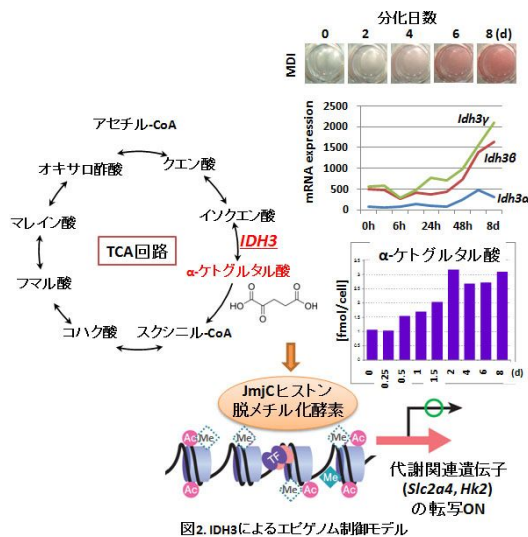


図2. IDH3によるエピゲノム制御モデル

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計1件)

Yoshihiro Matsumura, Juro Sakai, William R. Skach., Endoplasmic reticulum protein quality control is determined by cooperative interactions between Hsp/c70 protein and the CHIP E3 ligase. *J. Biol. Chem.*, 査読有, 2013, 288, 3109-31079.

[学会発表](計10件)

松村欣宏, 脂肪細胞分化におけるヒストン

メチル化酵素 *Setdb1* の役割 第9回 FAT DM 研究会, 2012.11.1

吉田文乃, 松村欣宏, 馬郡健太, 稲垣毅, 深見希代子, 酒井寿郎, ヒストンメチル化酵素 SETDB1 のモノクローナル抗体の作製と脂肪細胞分化における ChIP Seq 解析と翻訳後修飾解析 第35回日本分子生物学会年会, 2012.12.11-2012.12.14

稲垣毅, 岩崎聡, 川村猛, 田中十志也, 松村欣宏, 酒井寿郎, *Jhdm1b* による脂肪細胞分化制御. 第35回日本分子生物学会年会, 2012.12.11-2012.12.14

山崎あゆむ, 松村欣宏, 藤橋ひとみ, 野出孝一, 稲垣毅, 酒井寿郎, *SetdY* による間葉系細胞の分化制御. 第35回日本分子生物学会年会, 2012.12.11-2012.12.14

中村加奈子, 稲垣毅, 松村欣宏, 深見希代子, 酒井寿郎, ChIP sequence 法を用いた代謝関連 *Jmjd1a* 標的遺伝子の解析. 第35回日本分子生物学会年会, 2012.12.11-2012.12.14

岩崎聡, 松村欣宏, 川村猛, 田中十志也, 鶴谷悠也, 馬郡健太, 阿部陽平, 山崎あゆむ, 中村加奈子, 吉田文乃, 稲垣毅, 酒井寿郎, 脂肪細胞分化におけるヒストンユビキチン修飾と *Fbx10* の役割. 第1回生活習慣病の分子細胞病態学研究会, 2013.3.23

Yoshihiro Matsumura, Histone H3K9 methyltransferase SETDB1 regulates metabolic switch of preadipocytes to adipocytes through repression of *C/ebp α* . Cold Spring Harbor Asia Conference, Nuclear Receptors and Diseases, 2013.11.4-2013.11.8

松村欣宏, 吉田文乃, 仲木竜, 若林賢一, 稲垣毅, 深見希代子, 油谷浩幸, 酒井寿郎, SETDB1 結合サイトのゲノムワイド解析から明らかになった RNA ポリメラーゼ II の新たな停止機構. 第36回日本分子生物学会年会, 2013.12.3-2013.12.6

山崎あゆむ, 馬郡健太, 松村欣宏, 稲垣毅, 野出孝一, 酒井寿郎, 脂肪細胞分化および骨細胞分化における SETDY の機能解明. 第36回日本分子生物学会年会, 2013.12.3-2013.12.6

阿部陽平, Royhan Rozqie, 川村猛, 谷村恭子, 松村欣宏, 稲垣毅, 白石正, 酒井寿郎, ヒストン脱メチル化酵素 JMJD1A のリン酸化修飾とエネルギー消費との関連. 第36回日本分子生物学会年会, 2013.12.3-2013.12.6

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松村 欣宏 (MATSUMURA, Yoshihiro)
東京大学 先端科学技術研究センター
助教
研究者番号：20375257

(2) 研究分担者

該当なし ()

研究者番号：

(3) 連携研究者

該当なし ()

研究者番号：