

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790244

研究課題名(和文)「ケトン体代謝により制御されるエピゲノム修飾と糖尿病の関連性の解明」

研究課題名(英文) Relationship between diabetes and epigenetic modification regulated by ketone body metabolism

研究代表者

上番増 喬 (UEBANSO, Takashi)

徳島大学・ヘルスバイオサイエンス研究部・助教

研究者番号：10581829

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：「ケトン体代謝により制御されるエピゲノム修飾」に着目し、各組織における組織特異的なケトン体代謝の流れによるエピゲノム修飾の変化と糖尿病の関連性を明らかにすることを目的とした。ケトン体代謝の流れの方向を定める2つの代謝酵素に着目しエピゲノム修飾への影響を検討結果、ケトン体が代謝される方向により、ヒストン3のメチル化修飾が制御されることがわかった。また、この代謝酵素の発現の変化は、膵細胞のストレス抵抗性に関与することが明らかとなった。これらの検討結果から、ケトン体そのものに加え、「代謝の流れ<Metabolic flux>」がエピゲノム修飾や表現型の決定に関与することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：I studied relationship between diabetes and epigenome modification regulated by ketone body metabolism. Knock down of one of two enzyme which metabolise ketone body affect methylation of histone H3. Moreover, disruption of ketone body metabolism affect stress induced cytotoxicity in pancreatic beta cells. These results suggest that ketone body metabolism link epigenome modification and cellular function.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・環境生理学(含体力医学・栄養生理学)

キーワード：糖尿病 エピゲノム ケトン体

1. 研究開始当初の背景

これまでの研究において、**Fibroblast Growth Factor21(FGF21)** が様々な栄養素の摂取により、さらには異なる栄養状態により、直接的または間接的に制御されることを明らかにしてきた。FGF21 は、長期絶食や高脂肪食(ケトジェニック食)摂取時に転写因子 PPAR α により誘導され、脂肪細胞での脂肪分解を、肝臓での脂肪酸酸化、ケトン体産生(Cell Metab, 2007)、さらに、マウスの冬眠状態(Torpor)を惹起するほか、成長ホルモンシグナルを抑制するなど、全身エネルギー代謝を制御する(Cell Metab, 2008)。すなわち、FGF21 は、栄養状態の変動を敏感に感知し、代謝を適応させる《因子》の一つであると考えられる。

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。すなわち、胎生期に低栄養状態に曝されることにより、何らかのエピジェネティックな変化を生じ、後天的に糖尿病などの生活習慣病の発症リスクを増大させることが想定されているが、その分子基盤は不明である。

エピゲノム修飾の変化は、栄養代謝と密接に関連することから、我々はケトン体に着目した。ケトン体は、飢餓や長期間の絶食により、細胞内グルコースが枯渇した場合に、肝臓で合成され、脳や神経細胞等で代替エネルギーとして利用される代謝産物である。さらに、ケトン体は、ヒストン修飾や細胞分化調節作用を有する β -酪酸と構造が類似しており、ケトン体も同様の作用を持つことが予想される。

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、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。しかしながら、どのような栄養状態がどのような形でエピゲノム修飾を変化させ得るかは明らかでない。

ケトン体は、飢餓や長期間の絶食により、細胞内グルコースが枯渇した場合に、肝臓で合成され、脳や神経細胞等で代替エネルギーとして利用される代謝産物である。さらに近年の解析により、ケトン体はヒストン修飾や細胞分化調節作用を有すること、G タンパク共役受容体を介して細胞内シグナルを調節することなど多様な機能が明らかとなってきた。ケトン体は、飢餓時や低栄養状態で産生が増加することから、エネルギー枯渇シグナルとして、全身代謝を制御する因子である可能性がある。近年、エネルギー状態の違いにより変動する血中因子が、全身組織で代謝変動を引き起こすとともに、ヒストン修飾も変化させている。そこで、本研究では、生体を取り巻く栄養環境がエピゲノム修飾に与える影響(NutriEpigenomics)の中で、ケトン体代謝により制御されるエピゲノム修飾に着目し、糖尿病や代謝疾患との関連性を検討する。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

本研究では、ケトン体代謝により制御されるエピゲノム修飾と代謝疾患との関わりを明らかにするために、まず *in vivo* モデルとして、糖尿病モデル動物を用い、生体内で ketone body flux が正常に働かない動物におけるエピゲノム修飾の変化と、耐糖能やインスリン抵抗性、インスリン分泌能などの糖尿病に關与する表現型との関連を検討した。さらに、糖尿病モデル動物である db/db マウスや、肥満モデル動物である高脂肪食摂取マウスの膵島を単離し、膵島におけるケトン体代謝遺伝子の発現を検討した。同様に、マウスの膵臓組織切片を用いて、ケトン体代謝酵素のタンパク質を免疫組織染色し、発現変動を検討した。また、糖尿病モデル動物や高脂肪食摂取マウスの肝臓のケトン体代謝に關わる遺伝子の発現を検討した。

次に *in vitro* のモデル解析系として、初代培養肝細胞および膵臓細胞株を用いて、糖尿病発症時を想定した高グルコース刺激や、細胞ストレス刺激を行い、ケトン体代謝に關連する遺伝子やタンパク質の発現量を検討した。さらに、各細胞にけるケトン体代謝關連遺伝子の役割を検討するために、ケトン体代謝關連遺伝子を過剰発現またはノックダウンし、細胞機能やストレス耐性を検討した。加えて、ケトン体代謝關連遺伝子ノックダウン細胞における代謝産物の変化をメタボライト解析により行った。さらに、この時のエピゲノム修飾の変化、特にヒストン修飾の変化について検討した。

4. 研究成果

糖尿病モデル動物の肝臓ではケトン体代謝關連遺伝子の発現量は大きく変動しなかったのに対して、膵島では遺伝子発現が増減した。同様の変化は高脂肪食摂取マウスにおいても見られることから、代謝異常を生じた場合の膵島でのケトン体代謝には何らかの変化が起こると考えられる。さらに、膵島の組織染色を行った結果、ケトン体代謝關連遺伝子のいくつかは膵島に発現していた。糖尿病モデルマウスの解析より、糖尿病が進行した膵島では細胞量が減少しているが、この時のケトン体代謝關連遺伝子の発現量は著しく低下しており、糖尿病の発症における膵細胞異常とケトン体代謝との關連性が示唆された。

この關連をより詳しく検討するために、膵細胞株を用いて、高グルコースやストレス刺激を行った結果、ケトン体代謝關連遺伝子の発現が上昇した。さらにこの遺伝子の発現量を RNA 干渉により低下させると、高グルコースやストレス刺激による細胞死が增強された。

また、初代培養肝細胞において、ケトン体が代謝される方向を変化させるため、ケトン体代謝酵素を RNA 干渉によりノックダウンし、ヒストン 3 のメチル化修飾を測定した結果、ケトン体代謝の方向によって、ヒストンのメチル化が制御されることがわかった。この変化は、時間により振動し増減することから、ケトン体の代謝される経路と、代謝する細胞側の日内変動のような時間依存的に変化する状態の相互作用により、ヒストン修飾の変化やそれに伴う遺伝子の発現変動、細胞の状態の変化に關与することが考えられる。さらに、この代謝酵素の発現の変化は、膵細胞のストレス抵抗性に關与することが明らかとなった。これらの検討結果から、代謝産物そのものに加え、「代謝の流れ<Metabolic flux>」がエピゲノム修飾や表現型の決定に關与する可能性がある。

5．主な発表論文等

〔学会発表〕(計1件)

2012年 5月17-19日 第55回日本糖尿病
学会年次学術集会 パシフィコ横浜(神奈
川県)

膵 細胞における、ケトン体代謝酵素 BDH2
の新規機能の解析 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 (UEBANSO Takashi)

徳島大学・ヘルスバイオサイエンス研究部・
助教

研究者番号：10581829