

平成27年度 学内研究助成金 研究報告書

研究種目	■奨励研究助成金	□研究成果刊行助成金
	□21世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	□21世紀教育開発奨励金 (教育推進研究助成金)
研究課題名	エピジェネティクスによるインスリン伝達経路メカニズムの解明	
研究者所属・氏名	研究代表者：医学部生化学教室・太田一成 国際共同研究者：Zhong Wang (ミシガン大学)	

1. 研究目的・内容

高齢者の増加及び生活習慣の変化に伴い、糖、脂質代謝の異常が大きな問題となっており、これら疾患発症の分子機序に根ざした予防、治療を行うことが求められている。近年、代謝制御とエピジェネティクスが密接に関与することが明らかとなっている。そこで本研究では、ヒストン脱メチル化酵素であるUTXの機能に着目し、ヒストンのメチル化制御が脂肪分化に関与するか否かを検証し、その標的遺伝子やシグナル伝達経路を明らかにして代謝異常の病態を解明することを目的とする。

2. 研究経過及び成果

1. UTX欠損胚性幹細胞(ES細胞)の作製

UTXがES細胞から脂肪細胞への分化に関与するか否かを検証するため、UTXを欠損するES細胞を作製した。ヒストンH3のリジン4、9、27、36番目のトリメチル化レベルは野生型と比べて変化を認めなかった。

2. UTX欠損ES細胞から脂肪細胞への分化

UTX欠損の胚性幹細胞(ES細胞)を作製し、脂肪細胞へ分化させた。ES細胞を胚様体へ分化させ、レチノイン酸を3日間、その後インスリンと甲状腺ホルモンT3を21日間添加することで、脂肪細胞へと分化させることができる。オイルレッド染色にて脂肪分化を定性・定量すると、UTX欠損ES細胞はコントロールと比べて分化した脂肪細胞の割合が有意に少なかった(図1)。

次に、どの段階で分化異常が生ずるのかを検証するため、胚様体、レチノイン酸処理後の遺伝子発現を比較した。これまでの報告(Wang et al, Proc Natl Acad Sci U S A 109:13004-9)と、我々のマイクロアレイ解析の結果とを合わせて、UTX欠損ES細胞はレチノイン酸誘導による中胚葉への分化の障害が起こることが明らかとなった。

野生型

UTX欠損

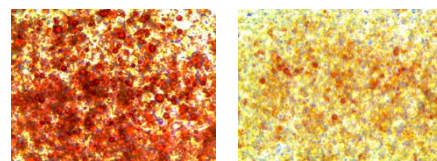


図1 脂肪分化後のオイルレッド染色

3. UTXを介した遺伝子ネットワークの解析

UTXはヒストンH3リジン27番目を脱メチル化して転写を活性化し、加えて多種の因子と相互作用することにより、遺伝子発現を制御する。そこでES細胞と脂肪分化後のRNAを抽出し、UTX欠損とコントロール細胞で遺伝子発現を解析した(図2)。この結果をもとにUTXの標的遺伝子群およびUTXを介したシグナル伝達経路を同定している。これらの結果を踏まえ、現在、UTX欠損マウスを用いて、UTXの個体レベルでの代謝制御機構を解析している。

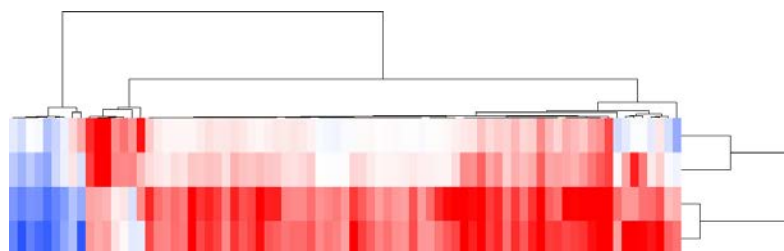


図2 遺伝子発現プロファイル

3. 本研究と関連した今後の研究計画

培養系を用いた実験により、UTXが脂肪分化やその機能制御に関与することが分かった。今後はUTXの生体内での機能を明らかにする必要がある。そこで、特定の細胞でのみCreリコンビナーゼが発現してUTX遺伝子を欠損させるマウスを用いて、生体内で組織特異的にUTXを欠損させる系を確立した。生体内におけるUTXの機能を検証し、臨床への応用を目指す。体重や血糖、生化学検査、組織、CTなどによりマウスの解析を進め、通常食や高脂肪食負荷での各臓器における遺伝子発現やヒストンのメチル化のプロファイルを行うことで、分子メカニズムを解明する。

4. 成果の発表等

発表機関名	種類（著書・雑誌・口頭）	発表年月日(予定を含む)
日本癌学会	口頭	2015年10月8日～10日
日本分子生物学会・日本生化学会	口頭	2015年12月1日～4日