

「エピゲノム研究に基づく診断・治療へ向けた新技術の創出」
平成25年度採択研究代表者

H25 年度 実績報告

山内 敏正

東京大学医学部附属病院 糖尿病・代謝内科
講師

2型糖尿病・肥満における代謝制御機構とその破綻のエピゲノム解析

§1. 研究実施体制

(1)「山内」グループ

- ① 研究代表者:山内 敏正 (東京大学医学部附属病院 糖尿病・代謝内科 講師)
- ② 研究項目
 - ・糖尿病ヒト・動物組織のエピゲノム解析
 - ・褐色・白色脂肪細胞の分化・リプログラミングを規定する因子とエピゲノム解析

(2)「堤」グループ

- ① 主たる共同研究者:堤 修一 (東京大学・先端科学技術研究センター 特任准教授)
- ② 研究項目
 - ・次世代シーケンス解析、および 4C-Seq, ChIA-Seq 法による Long-range interaction の解析法の開発

§2. 研究実施の概要

研究のねらいとこれまでの研究の背景

糖尿病は、膵β細胞からのインスリン分泌不全、インスリン標的臓器である脂肪組織・肝臓・骨格筋におけるインスリン抵抗性によって生じるインスリン作用不足により生じる。環境因子に伴い2型糖尿病や肥満など慢性的な代謝性変化が生じるメカニズムとしてエピゲノムの関与が示唆されている。2型糖尿病や肥満の病態や糖尿病・代謝関連臓器におけるエピゲノムを解析することにより、病態の鍵となる遺伝子の発現制御異常のメカニズムなどにどの様にエピゲノムが関与しているか、またゲノムワイド関連解析(GWAS)の進展でゲノム上に多く同定されている疾患感受性遺伝子や一塩基多型とエピゲノム情報との統合的解析により、その発症メカニズムの解明を試みる。糖尿病・肥満の病態形成や治療戦略上、脂肪細胞の分化・形質転換とその制御は重要な役割を果たす。特に肥満や糖尿病の治療の開発に有用と考えられる褐色脂肪細胞は熱産生の形でエネルギーを消費し、その分化メカニズムや細胞の系譜、ヒト成人での存在、特定条件下における白色脂肪細胞の褐色化などの現象が注目されている。褐色・白色脂肪細胞の分化やリプログラミングの制御における分子メカニズムを、クロマチン構造やエピゲノムの観点から明らかにする。糖尿病などにかかわる調節領域の同定には、FAIRE法などによるエンハンサー部位の解析に加え、「転写ブロック」を考慮に入れる必要があると考えられる。基盤技術として調節領域がどの領域とのinteractionがあるかを網羅的に検出するより簡便な方法を開発し、2型糖尿病や肥満の病態や糖尿病・代謝関連臓器におけるエピゲノム解析への応用を行う。本研究計画では、A. 糖尿病の病態のヒト・動物組織の網羅的なエピゲノム解析、B. 褐色・白色脂肪細胞の分化・リプログラミングのエピゲノム解析、C. メカニズム解明のためエピゲノム解析・機能解析技術の3つの柱を中心に研究を施行する。

研究の進捗状況

・山内グループ

A. 糖尿病の病態のヒト・動物組織の網羅的なエピゲノム解析

脂肪組織、膵島、肝臓、骨格筋など主要な糖脂質代謝関連臓器において、エピゲノムプロファイリングを行うための準備段階として、動物組織におけるエピゲノム解析プロトコルにおいて、脂質成分による特有の障害を認める脂肪組織のサンプル処理など、プロトコルの最適化により効率的・安定的な解析の施行が可能となった。

B. 白色・褐色脂肪細胞の分化・リプログラミングを規定する因子とエピゲノム解析

褐色脂肪細胞特異的な転写制御領域に含まれるDNAのモチーフ解析から同定された候補転写因子の中から、褐色脂肪細胞において強く発現し、筋芽細胞を褐色脂肪細胞に分化転換する作用を有する因子を見出した。Gain of function や loss of function などの in vitro 解析、遺伝子改変マウスによる in vivo 解析を通して、褐色脂肪細胞特異的な転写制御プログラムの促進作用、骨格筋細胞特異的な白色脂肪細胞特異的な転写制御プログラムの抑制作用があることを見出した。これらの実験系におけるゲノムワイド解析を施行予定である。

・堤グループ

C. メカニズム解明のためのエピゲノム解析・機能解析技術

・4C-Seq, ChIA-Seq 法による Long-range interaction の解析法の開発

全ゲノムでのクロマチン相互作用を解析法である H3K27ac ChIA-PET 法と Hi-C 法の条件検討と、確認実験としての 4C 法の検討を HCT116 細胞などのサンプルを用いて施行した。

H3K27ac ChIA-PET 法では Hiseq によるシーケンスを施行し相互作用を検出しているリードが得られた。Hi-C 法でも Hiseq によるシーケンスでマッピングされたリードを用いて解析を進めている。4C 法では HCT116 細胞の刺激前後でのクロマチン相互作用が検出でき、今後 ChIA-PET 法や Hi-C 法の確認実験として十分に使えると考えられた。

今後の見通し

A. 遺伝・環境因子の相互作用によって発症・増悪する2型糖尿病・肥満のヒト・動物組織の網羅的なエピゲノム解析や GWAS による候補 SNP などのゲノム情報との統合的解析を通して、疾患を規定する制御因子の同定、疾患鍵遺伝子の転写異常を引き起こすエピゲノム異常の同定を、B. 褐色・白色脂肪細胞の分化・リプログラミングのエピゲノム解析では、褐色脂肪細胞への分化転換作用におけるエピゲノム変動とメカニズム解明を、また、C. メカニズム解明のためエピゲノム解析・機能解析技術では、Long-range interaction の要素技術(4C-Seq ChIA-Seq 法)の開発と2型糖尿病・肥満のエピゲノム解析への応用を予定している。