

脂肪細胞のエピゲノム制御と肥満 2 型糖尿病における意義

脇 裕典

秋田大学大学院医学系研究科 代謝・内分泌内科学講座

(accepted 8 February 2022)

The role of epigenetic regulation of adipocytes in obesity and type 2 diabetes

Hironori Waki

Department of Metabolism and Endocrinology, Akita University Graduate School of Medicine

Key words : adipocyte, epigenome, obesity, type 2 diabetes

脂肪細胞と全身の糖・脂質・エネルギー代謝

脂肪細胞は形態学的には細胞質の殆どを脂肪滴が占め、余剰なエネルギーをトリグリセリドの形で蓄え、必要なときに全身にエネルギーを供給するエネルギーの貯蔵庫の役割を果たしている一方、脂肪細胞はレプチンやアディポネクチンなどのホルモン（アディポカイン）を分泌し、全身の糖・脂質・エネルギー代謝を制御する司令塔としての役割が明らかとなっている^{1,2)}。脂肪萎縮症は先天的あるいは後天的に正常な脂肪組織が失われる稀少疾患であるが、肥満症と同様に、著しいインスリン抵抗性を伴う高血糖、高トリグリセリド血症、脂肪肝などの代謝異常を呈することから、正常な脂肪組織がアディポカインの分泌臓器やトリグリセリドの貯蔵臓器として全身の糖・脂質・エネルギー代謝と密接に関連することが明らかである¹⁾。肥満 2 型糖尿病のインスリン抵抗性改善薬として臨床で用いられるチアゾリジン薬は、核内受容体型転写因子である PPAR γ のアゴニストとしてアディポネクチンを含む標的遺伝子の転写活性化を介して、脂肪脂肪の分化を

促進し、肥満における肝臓や骨格筋の異所性脂肪蓄積を解消することによりインスリン抵抗性を改善させる³⁾。これらのことから、脂肪細胞の転写・分化制御は全身の糖・脂質・エネルギー代謝調節に重要な役割を果たすことが示唆される。

脂肪細胞分化の制御因子のスクリーニング

脂肪細胞の分化を制御する因子をスクリーニングすることにより、全身の糖・脂質・エネルギー代謝を調節する新たな経路や手段が見出せる可能性が想定されたため、脂肪細胞の分化をルシフェラーゼ活性でモニターできる細胞株を作成し、それを用いて低分子化合物ライブラリーおよび遺伝子発現ライブラリーのスクリーニングを行った。低分子化合物のスクリーニングでは予想以上に PPAR γ アゴニスト以外の化合物が非常に多く同定された⁴⁾。そのうちのひとつ植物アルカロイドである harmine は PPAR γ を直接活性化しないが、Wnt 経路の抑制を介して脂肪細胞の PPAR γ の発現量を増加させ、PPAR γ アゴニスト同様に肥満糖尿病を改善した⁴⁾。遺伝子スクリーニングでは、白色脂肪遺伝子特異的な転写スイッチとして作用する転写共役因子 TLE3 や、脂肪細胞特異的な RNA を核外輸送する RNA 結合蛋白 PSPC1 などが同定された^{5,6)}。これらのことから脂肪細胞分化の制御因子のスクリーニングが、脂肪細胞分化や全身代謝を調節する新たな経路や手段が見出せる有効な手段となりうることが示唆さ

Correspondence : Hironori Waki
Department of Metabolism and Endocrinology, Akita University Graduate School of Medicine 1-1-1 Hondo, Akita, 010-8543, Japan
Tel : +81-18-884-6768
Fax : +81-18-884-6449
E-mail : wakih@gipc.akita-u.ac.jp
令和 3 年 10 月 18 日 秋田医学会教授就任特別講演

(2)

脂肪細胞のエピゲノム制御と肥満 2 型糖尿病

れた。

脂肪細胞のエピゲノム解析

エピジェネティクスとは、DNA の塩基配列を変えなく細胞分裂においても継承される細胞の表現型とまとめられる。エピゲノムとはゲノム全体のエピジェネティクスの総体であるが、DNA の塩基やヒストンの翻訳後修飾（アセチル化、メチル化など）やそれに伴うクロマチン構造の変化により担われていると現在は考えられている。細胞の運命決定や分化のほか、癌や老化などあらゆる生命現象に重要な役割を果たしている。ゲノム上の遺伝子の転写を制御するエンハンサーやプロモーターなどの領域は特徴的なエピゲノムを呈する。エピゲノム解析には、ヒストンの修飾や転写因子、コファクターの結合においてはクロマチン免疫沈降（ChIP）を次世代シーケンサーと組み合わせた ChIP-seq、オープンクロマチン構造を検出する FAIRE-seq、ATAC-seq などが用いられる。ゲノム上の遺伝子の転写を制御するエンハンサーやプロモーターなどの領域はヒストンアセチル化（H3K27ac）やメチル化（H3K4me3 や H3K4me1）のほか、ヒストン蛋白を欠いたオープンクロマチン構造を取ることが知られる。

培養脂肪細胞の分化前後において FAIRE-seq を用いてオープンクロマチン解析を行ったところ、脂肪細胞分化に伴ってオープンクロマチン化する領域が多くの脂肪細胞特異的な遺伝子群の近傍に同定された⁷⁾。

脂肪細胞分化の制御因子 C/EBP α 遺伝子の領域では、遺伝子の 3' 側（下流）に複数の分化特異的にオープンクロマチン化する領域が同定され、分化依存的な転写調節における重要なエンハンサー群であると考えられた。実際に、ChIP-seq で検討すると、これらの領域は PPAR γ が分化依存的に結合し、ヒストンのアセチル化が認められた。既存のレポーター解析では遺伝子プロモーターの上流のわずかな領域を検討するのみであったが、エンハンサーがより広範な領域に存在することが明らかとなった。ゲノムワイドに解析すると、多くの遺伝子には多数のエンハンサーが集簇して存在し（クラスター形成）、エンハンサーの数が増えれば増えるほどその遺伝子の転写が誘導されることから、エンハンサーの「数」が遺伝子転写の重要な要素であることが明らかとなった⁷⁾。

褐色脂肪細胞と白色脂肪細胞

白色脂肪細胞が余剰なエネルギーをトリグリセリドとして蓄積する働きを担うのに対して、褐色脂肪細胞はミトコンドリアが豊富でミトコンドリア内膜上の脱共役タンパク uncoupling protein 1 (UCP-1) を介した熱産生により活発にエネルギーを消費することから、肥満治療の標的細胞として注目されている（図 1）。マウスを含む齧歯類やヒト新生児においては体温調節における重要性が古くから知られていたが、2009 年にがんの局在診断に用いられる FDG-PET で、ヒト成

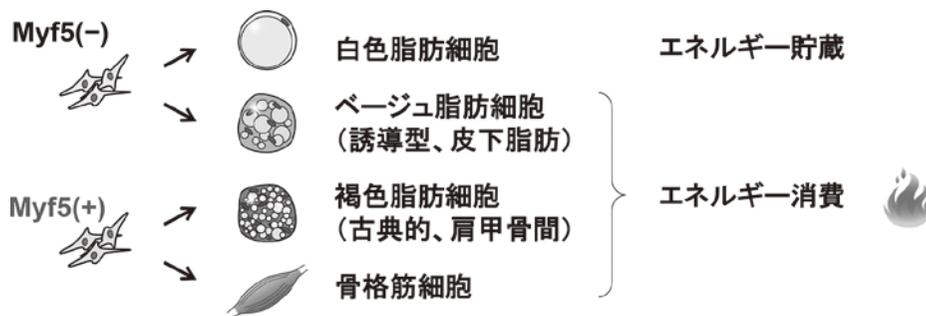


図 1 褐色脂肪細胞と白色脂肪細胞

白色脂肪細胞が余剰なエネルギーをトリグリセリドとして蓄積する働きを担うのに対して、褐色脂肪細胞はミトコンドリアが豊富でミトコンドリア内膜上の脱共役タンパク uncoupling protein 1 (UCP-1) を介した熱産生により活発にエネルギーを消費することから、肥満治療の標的細胞として注目されている。細胞系譜上、褐色脂肪細胞は筋細胞と共通の Myf5 陽性前駆細胞から分化するとされる。褐色脂肪細胞には常時存在する恒常型（古典的）褐色脂肪細胞と、寒冷などの環境により白色脂肪細胞の中の一部が、ミトコンドリアの増加、多胞性の脂肪滴、UCP-1 の発現などの褐色脂肪細胞の特徴を示す変化を示すことが知られ、ベージュ脂肪細胞と呼ばれる。

人にもこれまで考えていた以上に活性のある褐色脂肪組織が検出されることがあきらかとなった^{8,11)}。特に痩せた人は褐色脂肪が高く、加齢に伴い褐色脂肪活性が減少することが明らかとなり、肥満と褐色脂肪組織の関係性が示唆された。一方、同時期よりこれまで明らかでなかった褐色脂肪細胞特異的な転写制御のメカニズムが次第に明らかとなってきた。転写共役因子 PRDM16 は褐色脂肪特異的な転写メカニズムの主要な制御因子として注目された^{12,13)}。褐色脂肪細胞には常時存在する恒常型（古典的）褐色脂肪細胞と、寒冷などの環境により白色脂肪細胞の中の一部が、ミトコンドリアの増加、多胞性の脂肪滴、UCP-1 の発現などの褐色脂肪細胞の特徴を示す変化を示すことが知られ、ベージュ脂肪細胞と呼ばれる。これらのことから、ヒト成人においても褐色脂肪細胞の数や活性の増大が、肥満症やメタボリックシンドロームの治療につながる可能性が示唆された¹⁴⁾。

褐色脂肪細胞のエピゲノム解析と NFIA の同定

我々は褐色脂肪組織と白色脂肪組織を用いて

FAIRE-seq によるオープンクロマチン解析を施行した¹⁵⁾。ハウスキーピング遺伝子のプロモーターはいずれの組織でもオープンであるのに対して、UCP-1 や CIDEA といった褐色脂肪細胞特異的な遺伝子群の近傍には複数の褐色脂肪特異的なオープンクロマチン領域が認められ、この遺伝子群の転写制御に重要な領域と考えられた（図 2）。さらに、転写因子が特定の塩基配列を認識する性質を利用し、バイオインフォルマティクスの手法の一つであるモチーフ解析を行うと、これらの部位には C/EBP β や EBF2 などの既知因子に加えて、NF-1（エネエフワン）という転写因子の結合が予測された。実際に NF-1 ファミリーの一つ NFIA（エヌエフワンエー）は、白色脂肪や（褐色脂肪と起源を同一にする）筋芽細胞にレトロウイルスを用いて導入すると、褐色脂肪細胞に特徴的な遺伝子群の誘導、多胞性の脂肪滴、活発な酸素消費量を示した（図 3）。近年の転写因子のゲノムワイド解析では異なる転写因子が同じエンハンサー上に共局在（co-localize）する現象が知られるようになった。NFIA は白色・褐色脂肪細胞共通のマスター転写因子 PPAR γ と褐色脂肪特異的なエンハンサー上に共局在しており、PPAR γ のエン

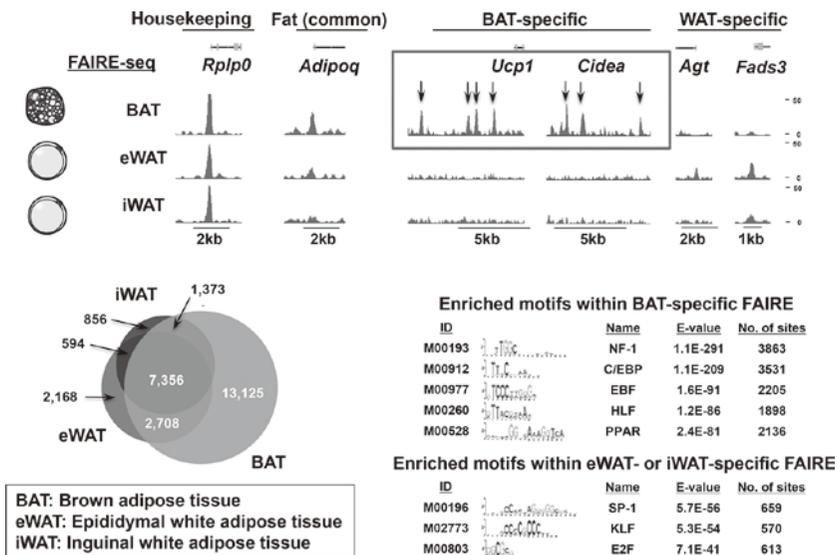


図 2 褐色脂肪組織と白色脂肪組織のオープンクロマチン解析

FAIRE-seq を用いた、マウス褐色脂肪組織（BAT）と白色脂肪組織（WAT）のオープンクロマチン解析。UCP-1 や CIDEA など褐色脂肪細胞特異的な遺伝子群の近傍には複数の褐色脂肪特異的なオープンクロマチン領域が認められた（上）。BAT と WAT のオープンクロマチン領域の重なり（左下、ベン図）。褐色脂肪特異的なオープンクロマチン領域のモチーフ解析（右下）（文献 15 Nat Cell Biol. 2017 Sep; 19(9) : 1081-1092. より引用改変）

(4)

脂肪細胞のエピゲノム制御と肥満 2 型糖尿病

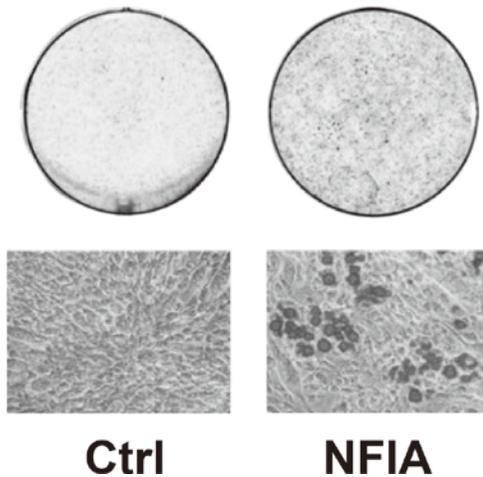


図3 褐色脂肪と起源を同一にする) 筋芽細胞にレトロウイルスを用いて NFIA を導入すると, 褐色脂肪細胞に特徴的な遺伝子群の誘導, 多胞性の脂肪滴, 活発な酸素消費量を示した. 本図は NFIA あるいはコントロールベクターを導入した C2C12 筋芽細胞の oil red O 脂肪染色. (文献 15 Nat Cell Biol. 2017 Sep; 19(9): 1081-1092. より引用改変)

ハンサーへのリクルートメント (結合) を促進するはたらきがあることも明らかとなった (図4). PPAR γ と NFIA の組合せが褐色脂肪細胞らしさを規定する仕組みとして重要であると考えられる.

NFIA は中枢神経系にも豊富に発現しており, アストロサイト分化のエピジェネティックな制御に重要な

役割を果たす. NFIA 欠損の全身マウスは脳梁の欠損や水頭症で生後すぐに死亡する. 出生直後のマウスの褐色脂肪組織の検討を行うと, ミトコンドリア関連を含む褐色脂肪遺伝子群の発現が減少しているのに対し, 異所性に筋遺伝子群の発現が上昇しており, NFIA の生理的な役割も示唆された. 現在, 脂肪細胞特異的な NFIA のトランスジェニックマウスとノックアウトマウスを解析中であり, 脂肪細胞における NFIA の発現量が全身の糖・脂質・エネルギー代謝に直結することが示唆されている.

ヒト脂肪組織の NFIA と肥満

ヒトとマウスなどのげっ歯類では褐色脂肪組織の生物学が異なる. ヒト成人の鎖骨上窩や深部頸部, 副腎周囲などから採取された褐色脂肪組織の貴重な検体について NFIA を解析したところ, 対象となる白色脂肪組織と比較して褐色脂肪組織では NFIA の発現量が高く, ヒト褐色脂肪細胞においても機能的な役割を持っていることが示唆された¹⁵⁾. ヒト脂肪組織の NFIA の役割は異なる角度からも示唆されている. エピゲノムワイド解析 (epigenome-wide association study, EWAS) とは, ゲノム上の網羅的なエピゲノム解析を多人数で行い, ゲノム上のエピゲノム状態と表現型との関連を解析する遺伝統計学の解析手法の一つである. Wahl らはヒト脂肪組織の DNA メチル化を網羅的に解析し, NFIA を含む 189 の遺伝子 CpG 領域がヒト肥満の発症

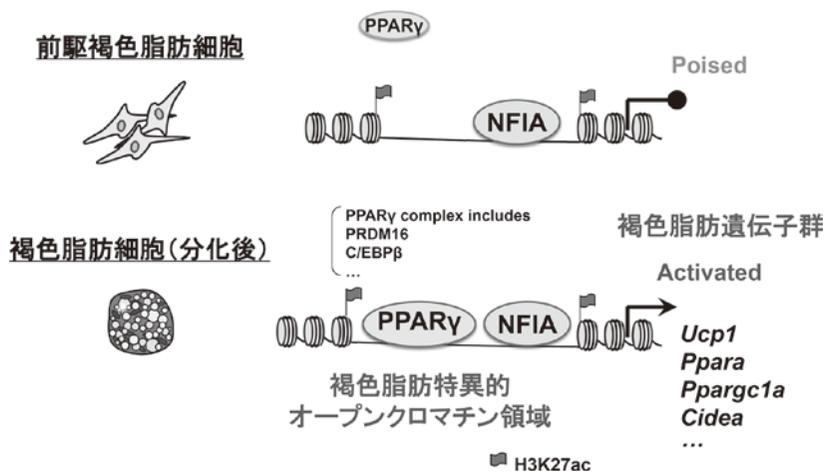


図4 NFIA は褐色脂肪遺伝子エンハンサー上で脂肪細胞分化のマスター因子 PPAR γ の結合を促進し, 転写を活性化させる (文献 15 Nat Cell Biol. 2017 Sep; 19(9): 1081-1092.)

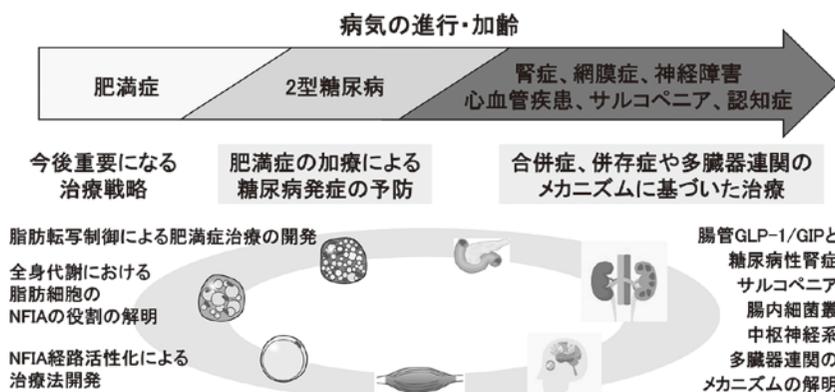


図5 褐色脂肪特異的転写制御と腸管インクレチンによる多臓器連関のメカニズムに基づいた2型糖尿病の治療戦略。今後、2型糖尿病の治療戦略として重要になる肥満症の加療による糖尿病発症の予防、合併症、併存症や多臓器連関のメカニズムに基づいた治療が重要になる

に有意な関連があることを示唆している¹⁶⁾。このことは脂肪組織のNFIA遺伝子が実際にヒトの肥満の発症に関わる可能性を意味し、詳細な解析が期待される。

おわりに

我々は脂肪細胞のエピゲノム解析を通してNFIAを同定した。全身代謝における脂肪細胞のNFIAの役割について今後もモデル動物やヒト脂肪組織での詳細な検証が期待される。NFIA発現を制御する経路や低分子化合物についても検討を重ねており、NFIA経路を活性化する肥満治療法の開発を目指している。2型糖尿病の治療はこの10数年で格段に進歩してきたが、2型糖尿病の上流に位置する肥満の治療法はまだ限られ、まだ多くを患者のセルフマネジメントに負っている。秋田大学代謝・内分泌内科学講座ではこれまで腸管インクレチンによるさまざまな代謝作用、特に糖尿病性腎症やサルコペニア、中枢神経系など様々な合併症の研究が進展してきた。今後、2型糖尿病の治療戦略として重要になる肥満症の加療による糖尿病発症の予防、合併症、併存症や多臓器連関のメカニズムに基づいた治療を両輪として研究を展開していきたいと考える(図5)。

謝辞

これらの研究成果は多くの先輩方、同僚や後輩の支えがあって実現してきた。研究開始時よりご指導いた

だいている門脇孝先生、山内敏正先生、留学中よりご指導いただいているPeter Tontonoz先生、帰国後よりエピゲノム解析をご指導いただいている油谷浩幸先生、堤修一先生方、秋田大学大学院医学系研究科代謝・内分泌内科学講座の皆様をはじめとして、多くの先生方にこの場を借りて深謝いたします。

文 献

- 1) Waki, H. and Tontonoz, P. (2007) Endocrine functions of adipose tissue. *Annu. Rev. Pathol.*, **2**, 31-56.
- 2) Yamauchi, T., Kamon, J., Waki, H., et al. (2001) The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nat. Med.*, **7**(8), 941-946.
- 3) Yamauchi, T., Kamon, J., Waki, H., et al. (2001) The Mechanisms by Which Both Heterozygous Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ (PPAR γ) Deficiency and PPAR γ Agonist Improve Insulin Resistance. *J. Biol. Chem.*, **276** (44), 41245-41254. <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.M103241200>
- 4) Waki, H., Park, K.W., Mitro, N., Pei, L., Damoiseaux, R., Wilpitz, D.C., Reue, K., Saez, E. and Tontonoz, P. (2007) The Small Molecule Harmine Is an Antidiabetic Cell-Type-Specific Regulator of PPAR γ Expression. *Cell Metab.*, **5**(5) 357-370.
- 5) Villanueva, C.J., Waki, H., Godio, C., et al. (2011) TLE3 is a dual-function transcriptional coregulator

(6)

脂肪細胞のエピゲノム制御と肥満 2 型糖尿病

- of adipogenesis. *Cell Metab.*, **13**(4), 413-427.
- 6) Wang, J., Rajbhandari, P., Damianov, A. et al. (2017) RNA-binding protein PSPC1 promotes the differentiation-dependent nuclear export of adipocyte RNAs. *J. Clin. Invest.*, **127**(3), 987-1004. <https://www.jci.org/articles/view/89484>
 - 7) Waki, H., Nakamura, M., Yamauchi, T., et al. (2011) Global Mapping of Cell Type-Specific Open Chromatin by FAIRE-seq Reveals the Regulatory Role of the NFI Family in Adipocyte Differentiation. *PLoS Genet.*, **7**(10), e1002311.
 - 8) Saito, M., Okamatsu-Ogura, Y., Matsushita, M., et al. (2009) High Incidence of Metabolically Active Brown Adipose Tissue in Healthy Adult Humans : Effects of Cold Exposure and Adiposity. *Diabetes*, **58**(7), 1526-1531.
 - 9) Cypess, A.M., Lehman, S., Williams, G., et al. (2009) Identification and Importance of Brown Adipose Tissue in Adult Humans. *N. Engl. J. Med.*, **360**(15), 1509-17.
 - 10) van Marken Lichtenbelt, W.D., Vanhomerig, J.W., Smulders, N.M., Drossaerts, J.M.A.F.L., Kemerink, G.J., Bouvy, N.D., Schrauwen, P. and Teule, G.J.J (2009) Cold-activated brown adipose tissue in healthy men. *N. Engl. J. Med.*, **360**(15), 1500-1508.
 - 11) Virtanen, K.A., Lidell, M.E., Orava, J., et al. (2009) Functional brown adipose tissue in healthy adults. *N. Engl. J. Med.*, **360**(15), 1518-1525.
 - 12) Seale, P., Kajimura, S., Yang, W., Chin, S., Rohas, L., Uldry, M., Tavernier, G., Langin, D. and Spiegelman, B.M. (2007) Transcriptional control of brown fat determination by PRDM16. *Cell Metab.*, **6**(1), 38-54.
 - 13) Seale, P., Bjork, B., Yang, W., et al. (2011) PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature* **454**(7207), 961-967.
 - 14) Kajimura, S. and Saito, M. (2013) A New Era in Brown Adipose Tissue Biology : Molecular Control of Brown Fat Development and Energy Homeostasis. *Annu. Rev. Physiol.*, **76**(1), 225-249.
 - 15) Hiraike, Y., Waki, H., Yu, J., et al. (2017) NFIA co-localizes with PPAR γ and transcriptionally controls the brown fat gene program. *Nat. Cell Biol.*, **19**(9), 1081-1092.
 - 16) Wahl, S., Drong, A., Lehne, B., et al. (2017) Epigenome-wide association study of body mass index and the adverse outcomes of adiposity. *Nature* **541**(7635), 81-86.