

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成31年 4月16日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 岐阜薬科大学
職 名 教授
研究代表者 永澤 秀子

下記のとおり平成30年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 18006)

1. 共同研究課題名	細胞内鉄ホメオスタシス変動にともなうエピゲノム記憶変化の機構解明			
2. 共同研究目的	細胞内代謝物である二価鉄イオンが、ヒストン脱メチル化酵素(JmjCドメイン型)の活性に必須の因子であることに注目し、細胞内環境が二価鉄イオン濃度を介してエピゲノムに記憶され、脂肪細胞の分化や性質を制御する可能性とその機構解明を目指す。本研究の成果は、二価鉄による新規エピゲノム制御機構を提示するとともに、肥満症やメタボリックシンドロームの新規治療標的を提示することが期待される。			
3. 共同研究期間	平成30年 4月 1日 ~ 平成31年 3月31日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 永澤 秀子	岐阜薬科大学 創薬化学 大講座 薬化学研究室	教授	研究の総括	
(分担研究者) 平山 祐	岐阜薬科大学 創薬化学 大講座 薬化学研究室	准教授	二価鉄イオン測定に係る実験・解析	
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	代謝エピジェネティクス分野	氏 名	稲垣 毅

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

(課題番号:)

6. 共同研究計画

二価鉄イオンが JmJc ドメイン含有ヒストン脱メチル化酵素活性に必須の因子であることに注目し、細胞内環境が鉄濃度を介してエピゲノムに記憶される可能性とその機構の解明を目指す。細胞内鉄濃度が変化する環境刺激とそれに伴う継時的変化を明らかにし、細胞内鉄濃度の変化に伴うヒストン修飾の解析、標的遺伝子発現解析、責任ヒストン修飾酵素の同定と機構解明を行う。

詳細には、生体調節研究所の稲垣教授、柴田准教授による脂肪細胞分化系を用いて、申請者らが開発した二価鉄イオン蛍光プローブによる二価鉄測定を実施し、細胞内鉄濃度測定結果と比較して評価し、エピゲノム変化、脂肪細胞分化に与える影響を検討する。さらに、細胞内鉄イオン濃度変化条件下でのヒストン修飾解析を実施し、責任ヒストン修飾酵素の同定により機構解明を目指すとともに、標的遺伝子発現および表現型発現における鉄イオンの機能を解明する。

7. 共同研究の成果

二価鉄の濃度測定は、蛍光測定用プローブ SiRhoNox-1 による測定と原子吸光計を用いた測定を実施した。脂肪細胞分化に伴い細胞内総鉄量は増加した。一方 SiRhoNox-1 の蛍光は主に小胞体 (ER) に局在し、脂肪細胞分化に伴い ER の SiRhoNox-1 の蛍光は減弱したことから、二価鉄イオンの細胞内局在の変化が示唆された。脂肪細胞分化誘導刺激後 0 日後、2 日後もしくは 4 日後からそれぞれ 2 日間、一過性に細胞培養液中に 100 μ M Deferoxamine (DFO) を添加した条件下で脂肪細胞分化を誘導したところ、脂肪細胞分化の抑制を認めた。DFO は培養液中の鉄と結合する鉄キレート剤であり、その分化誘導抑制効果に濃度依存性を認めたため、一定濃度の鉄が脂肪細胞分化過程において必須であると考えられた。さらに、分化誘導後 0 日後および 2 日後に抗 H3K4me3、抗 H3K9me3、抗 H3K27me3 による免疫染色を実施するとともに、分化誘導後 8 日後に Oil Red O 染色を実施して脂肪細胞分化程度を検討した。分化刺激にともなっておこる細胞内のヒストンメチル化修飾 (H3K4me3、H3K9me3、H3K27me3) の変化が DFO 処理によって抑制されたことから、細胞内鉄濃度が脂肪細胞分化とヒストンメチル化修飾に影響を与えることが示された。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文, 又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお, 論文の場合は, 別刷りを1部提出してください。)

①本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

なし

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

なし