

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

令和 5 年 4 月 17 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 九州大学大学院医学研究院 病態制御内科学
職 名 教授
研究代表者 小川 佳宏

下記のとおり令和 4 年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 20021)

1. 共同研究課題名	エピゲノム記憶の担い手としての DNA メチル化の病態生理学的意義と医学応用			
2. 共同研究目的	胎生期～新生児期の栄養環境は DNA 塩基配列を変化させることなくゲノム上に記憶され(エピゲノム記憶)、成人期における生活習慣病の発症や進展と関連する。本研究ではマウスモデルを用いて出生後の肝臓の代謝機能の成熟過程における DNA メチル化の関与を明らかにする。またエピゲノム編集技術を用いて細胞・個体レベルにおける DNA メチル化の機能的意義を明らかにする。			
3. 共同研究期間	令和 4 年 4 月 1 日 ~ 令和 5 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) 小川 佳宏	九州大学大学院医学研究院 病態制御内科学	教授	研究計画の立案と総括	
(分担研究者) 佐藤 直市	九州大学大学院医学研究院 病態制御内科学	助教	研究計画に係る立案と 実験・解析・論文作成	
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	ゲノム科学リソース分野	氏 名	畑田 出穂

※ 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。

6. 共同研究計画

・**出生前後の DNA メチル化を制御する転写因子の機能的意義の解析**

出生前後の DNA メチル化の変化に関連する制御因子として同定した HNF4 α 、PPAR α やその共役因子である PGC1 α の機能的意義を生体レベルにて解析する。乳仔期に DNA 脱メチル化される遺伝子の制御因子として最上位の有意な遺伝子となった HNF4 α についてはタモキシフェン投与により時期特異的に肝臓での HNF4 α を欠損させることができるマウスを既に作製している。このマウスを用いて出生前後の HNF4 α の欠損が乳仔期以降の糖脂質代謝遺伝子の DNA メチル化と肝臓の糖脂質代謝機能の成熟に及ぼす影響を解析する。また他の転写因子、共役因子についても同様のマウスを作成しており、解析を進める。

・**個体レベルにおける肝臓でのエピゲノム記憶遺伝子の病態生理学的意義の解明**

HEK293 細胞においてエピゲノム編集に必要なコンポーネント(dCAS9-GFP-TET1CD システム)のプロモーターの直下流に2つの loxP で挟んだターミネーター配列 (polyA cassette) を挿入したコンポーネントを過剰発現する安定発現細胞株を作製し、AAV による Cre の導入により dCAS9-GFP-TET1CD システムの過剰発現を確認した。本コンポーネントを肝臓に過剰発現するマウスを piggyBac トランスポゾン法にて作製する。作成したマウスを用いて DNA メチル化の意義を生体レベルで解析する。

7. 共同研究の成果

① **出生前後の DNA メチル化を制御する転写因子の機能的意義の解析**

出生前後の代謝臓器としての肝臓の機能成熟について解析するため、トランスクリプトーム解析とメチローム解析を行なった。乳仔期においては劇的な DNA メチル化の変化と協調した遺伝子発現の変化を生じることを見出し、これらの統合解析により出生前後の肝臓の機能成熟に必要な経路が時期・遺伝子特異的に DNA 脱メチル化を介し機能成熟することを明らかにした。In silico 解析により DNA メチル化の変化に関与する複数の制御因子を同定し、蛋白-蛋白相互作用の解析によりそれらの制御因子が協調して肝臓の機能成熟に関与することを明らかにした。HNF4 α は乳仔期の肝臓の DNA メチル化の変化において中心的な役割を果たす転写因子となったが、ER-Cre システムより時期特異的に肝臓での HNF4 α を欠損させることができるマウスを用い、出生前後における HNF4 α の DNA メチル化における意義や代謝表現型に及ぼす影響について生体レベルでの解析を進めている。

② **個体肝臓レベルにおけるエピゲノム記憶遺伝子の病態生理学的意義の解明**

作製した細胞を用いて dCAS9-GFP-TET1CD システムにより細胞レベルで遺伝子特異的に DNA 脱メチル化を誘導できることを確認した。現在マウスの作製にむけて研究を進めている。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換 (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

1. X. Yuan, K. Tsujimoto, K. Hashimoto, K. Kawahori, N. Hanzawa, M. Hamaguchi, T. Seki, M. Nawa, T. Ehara, Y. Kitamura, I. Hatada, M. Konishi, N. Itoh, Y. Nakagawa, H. Shim-ano, T. Takai-Igarashi, Y. Kamei, Y. Ogawa. Epigenetic modulation of Fgf21 in the perinatal mouse liver ameliorates diet-induced obesity in adulthood. Nat. Commun. 9: e636, 2018.

2. Hanzawa N, Hashimoto K, Yuan X, Kawahori K, Tsujimoto K, Hamaguchi M, Tanaka T, Nagaoka Y, Nishina H, Morita S, Hatada I, Yamada T, Ogawa Y. Targeted DNA demethylation of the Fgf21 promoter by CRISPR/dCas9-mediated epigenome editing. Sci Rep. 10(1):5181,2020

② この共同研究に基づくとの記載のある論文

上記 2

③ 学会発表を行った主なもの3件以内(学会名、開催日、演題)

該当なし

④ 本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)

- ・実験試料の供与だけでなく、技術的なアドバイス
- ・研究進捗に関わる情報の提供、今後の研究の方向性の相談など