

1. 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 14 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 熊本大学
職 名 教授
研究代表者 南 敬

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:22001)

1. 共同研究課題名	ダウン症・動脈硬化病態モデルを用いた <i>in vivo</i> 血管エピゲノム動態解析		
2. 共同研究目的	早期老化病態を呈す典型的な複合疾病であるダウン症は、血管系では逆に加齢生活習慣病に対し強い抵抗性を有する。申請者らはこれまで発生から老化までの表現型を模倣するダウン症モデルマウスをもとに、加齢時間軸での非線形的事象を解明してきた。本知見はダウン症以外の肥満・生活習慣病対策にも有用であるが、更に代謝病態学の観点からも本共同研究を通じ、クロマチン・エピゲノムレベルでのシステム解明が必須である。そこでこれら疾患モデルマウスを基に肝臓・循環器血管での内皮エピゲノム動態を、本研究所が独自に開発した CUT&Tag 技術を駆使して包括的に捉え、世界的にもユニークな <i>in vivo</i> マッピングを共同で進めることを目的とする。		
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	所属等	職名等	役 割 分 担
(研究代表者) 南 敬	生命資源研究支援センター	教授	研究の総括 連携責任者、社会発信
(分担研究者) 亀井 竣輔	大学院先導機構	助教	エピゲノム関連実験・解析
大口 裕人	エピゲノム関連実験・解析	准教授	システム管理、データ処理
宮村 優里	大学院生命科学研究部	大学院生(博士課程)	病態マウス樹立・維持
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	氏 名 稲垣 毅

次の6, 7, 8の項目は、枠を自由に変更できます(横幅は変更不可)。6, 7, 8の項目全体では2頁に収めてください。

6. 共同研究計画

生命資源研究支援センター（熊大 CARD）にてダウン症モデルマウス (Ts1Cje) と ApoE 欠損マウスを順次掛け合わせ、高脂肪食負荷における脂肪細胞と肝臓での表現型を WT コントロールと比較する。本マウスの肝臓毛細血管内皮、大動脈血管内皮でのクロマチン動態 (H3K4me3, H3K27me3, H3K27Ac) をこれらのヒストン特異的抗体と稲垣教授らが樹立した Cut& Tag 技術を用いて高感度にマッピングする。

次に熊大 CARD にて維持している Ptip 内皮特異的 Conditional ノックアウトマウスをもとに CUT&Tag シーケンスを行い、今度は肝臓・心臓血管内皮細胞におけるどの遺伝子群が Ptip 依存性の H3K4me3 濃縮に影響を与えるのか解析する。臓器内皮での mRNA 発現とエピゲノム修飾と比較する際、必要に応じ、10x Genomics 技術を基本とするシングルセルシーケンスを行う計画である。遺伝子改変モデルマウスでの解析や実験は基本的に熊大内で実施し、比較する WT コントロールでのデータ取得と全体的な CUT&Tag 技術を習得するために生体調節研究所に2回/年程度伺う計画である。

7. 共同研究の成果

本共同研究課題において、生体調節研究所との共同研究が貢献した内容についても具体的に記載してください。

CUT&Tag 手法において、稲垣研究室にて作られたプロトコール及び試薬に準じ、将来的なエピゲノム修飾酵素改変モデルマウスへの使用を考え、内皮細胞株である MS1 細胞を用いた。先ず Cut & Tag での成功例がある H3K27me3 酵素に対する抗体をもとに、既報での ChIP-seq 手法に比べ、細胞数をどの程度少なく in vivo 応用が可能か検討した。5x10⁴ 細胞数にて有意なシグナルが得られる結果となった。その後、本研究所にて NextSeq に供し、極めて特異的なピークを得ることが出来た。本結果を踏まえ、次に H3K4me3 抗体での CUT&Tag 手法を行うこと、臓器血管から分取した内皮にてシグナルが得られるか検討することなど、将来構想に基づいた解析への道筋が立てられた。

8. 共同研究成果に関連する学会発表・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できる限り

記載してください。なお、論文の場合は、PDFファイルを以下の研究所庶務係のメールアドレスまで報告書と併せてお送りください。) 研究所庶務係 e-mail : kk-msomu4@jimu.gunma-u.ac.jp

①本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

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)

1. 国際血管生物学会 (IVBM2022), 2022.10.16, Down syndrome and its trisomy gene set protect organ-specific vascular diseases with non-linearity

2. 日本生化学会、2022.11.11 ダウン症候群トリソミー因子による血管恒常性維持、加齢抵抗性の時空間的分子基盤解析

3. 日本薬学会シンポジウム「健康と疾患に関するグローバル&ケミカルエピジェネティクス」企画、発表 2023.3.28

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)

1, 日本薬学会にて稲垣先生と共同にて成果発表を行った。

2. 実際の実験を行うため、当研究所に2回訪問した。

3, Zoom 会議を2回行った。