

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業  
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation
- 研究開発課題名： (日本語) 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  
(英語) Epigenetic analyses on the regulation and dysregulation of metabolism in type 2 diabetes and obesity
- 研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人東京大学医学部附属病院糖尿病・代謝内科・特任准教授・山内敏正
- 所属 役職 氏名： (英語) Department of Diabetes and Metabolic Diseases,  
The University of Tokyo Hospital, Associate Professor, Toshimasa Yamauchi
- 実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日
- 分担研究 (日本語) 糖尿病ヒト・動物組織および白色・褐色脂肪細胞分化の規定因子のエピゲノム解析
- 開発課題名： (英語) Epigenetic analyses of human and animal tissues in diabetes and factors regulating white and brown adipocyte differentiation
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東京大学医学部附属病院糖尿病・代謝内科・特任准教授・山内敏正
- 所属 役職 氏名： (英語) Department of Diabetes and Metabolic Diseases,  
The University of Tokyo Hospital, Associate Professor, Toshimasa Yamauchi
- 分担研究 (日本語) 次世代シーケンス解析、および4C - Seq, Capture Hi-C 法による Long - range interaction の解析法の開発
- 開発課題名： (英語) Development of analysis for genomic long - range interaction using 4C - Seq and Capture Hi-C.

研究開発分担者 (日本語) 東京大学先端科学技術研究センター 准教授 堤 修一

所属 役職 氏名: (英語) The University of Tokyo, Research Center for Advanced Science and Technology, Associate Professor, Shuichi Tsutsumi

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

### ・ 研究開発代表者による報告の場合

#### 研究概要

(1) 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を行い、その異常を見いだします。

(2) 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により、細胞の運命決定・形質転換におけるエピゲノム変動と新原理発見を試みます。

(3) クロマチン高次分子構造の三次元的変化による、遠く離れた DNA 配列の相互作用をゲノムワイドに解析する Chromatin Interaction Analysis (ChIA) に対し、簡便でより長い配列が得られる要素技術開発を行います。

得られたエピゲノム異常や新規メカニズムに基づいた2型糖尿病・肥満の予防・診断・治療戦略に資する医療基盤技術を創出します。

#### 本年度の研究実施状況

##### 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. 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ました。Gain of function や loss of function などの細胞における機能解析、欠損マウスや肥満・2型糖尿病のモデルマウスを用いた解析を通して、褐色脂肪細胞特異的な転写制御プログラムの促進作用、骨格筋細胞特異的または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認められ、褐色脂肪に特異的な転写制御プログラムに重要な因子であること、および病態形成に関与する可能性が示唆されました。ChIP-seq や FAIRE-seq を用いた網羅的解析から、他の褐色脂肪分化を制御する転写因子に先駆けて褐色脂肪のエンハンサーに結合し、協調して作用するメカニズムを明らかにしました。

C. メカニズム解明のためのエピゲノム解析・機能解析技術細胞株 HCT116 や脂肪細胞におけるゲノム領域間の相互作用について、HiSeq2500 を使用して CaptureHi-C 法をもちいたデータの取得および解析手法の開発を行いました。

## Research Outline

- (1) We aim to analyze human and animal tissues to discover epigenetic changes seen in type 2 diabetes—a disease caused by genetic and environmental factors.
- (2) We aim to analyze cell-type-specific epigenetic changes during differentiation and reprogramming of brown and white adipocytes and discover a novel principle that underlies determination and differentiation of the cells.
- (3) We aim to develop a useful method for detection of the long-range interaction between distal DNA elements in the genome that is formed by the three dimensional change of higher-order chromatin structure.

We collectively aim to generate base medical knowledge and technology that are ultimately applicable for prevention, diagnosis and treatment of type 2 diabetes and obesity.

### Progress of the year:

A. Epigenetic analysis of human and animal tissues in diabetes

B. Epigenetic analysis and regulatory factors of differentiation and reprogramming of white and brown adipocytes.

We conducted motif analysis of DNA sequence within brown-fat-specific regulatory regions in the genome and identified a regulatory factor that is expressed preferably in brown adipocytes and is capable to transdifferentiate myoblasts into brown adipocytes. In vitro gain-of-function and loss-of-function experiments, in vivo experiments using knockout mice suggested that this factor is a critical one for the brown-fat-specific gene program. Global analyses using ChIP-seq and FAIRE-seq suggested that this factor binds to the brown-fat-specific enhancers prior to differentiation and collaborate with other critical regulators of brown fat.

C. Development of fundamental technologies for epigenetic and functional analyses for the elucidation of underlying mechanisms

We sequenced the libraries and generated informatics data from the 4C-Seq, FAIRE-Seq and ChIP-Seq analyses of adipocytes. We also optimized the capture Hi-C technique and acquired data of the long-range interaction in HCT116 and adipocytes.

### III. 成果の外部への発表

#### (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 4件、国際誌 0件）

1. 脇裕典, 山内敏正, 門脇孝. 褐色脂肪細胞と生活習慣病. 内分泌・糖尿病・代謝内科. 2016, 42(5), 329-336.
2. 脇裕典, 山内敏正, 門脇孝. 【アディポサイエンス・フロンティア】 アディポサイエンス・ベーシック. エピジェネティクスのフロンティア. Diabetes Frontier. 2016, 27(3), 282-287.
3. 脇裕典, 山内敏正, 門脇孝. クレアチン無益回路はベージュ細胞のエネルギー消費と熱産生を制御する. 内分泌・糖尿病・代謝内科. 2016, 43(4), 338-342.
4. 浅原俊一郎, 木戸良明, 脇裕典, 山内敏正, 門脇孝. 糖尿病とエピジェネティクス. アンチ・エイジング医学. 2017, 012(6), 783-790.

#### (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Co-localization of NFIA and PPAR $\gamma$  controls the brown fat gene program, 口頭, Hironori Waki, 11th IDF-WPR Congress 2016/8th AASD Scientific Meeting (Symposium, The role of epigenetics in Diabetes and Its Complications), 2016/11, 国外.
2. 2型糖尿病の分子メカニズムと治療戦略, 口頭, 山内敏正, 第 53 回日本臨床分子医学会学術集会, 2016/4, 国内.
3. NFIA の褐色脂肪遺伝子エンハンサー選択的な PPAR $\gamma$  との共局在を介した褐色脂肪の遺伝子プログラムの制御, 口頭, 脇裕典, 第 89 回 日本内分泌学会学術総会, 2016/4, 国内.
4. NFIA は褐色脂肪遺伝子エンハンサーにおいて選択的に PPAR $\gamma$  と共局在することで褐色脂肪の遺伝子プログラムを制御する, 口頭, 脇裕典, 第 59 回 日本糖尿病学会/次学術集会 (シンポジウム 8 脂肪細胞 アディポバイオロジーと肥満), 2016/5, 国内.
5. 転写因子 NFIA の褐色脂肪分化と筋細胞分化の制御作用ドメインの解析, 口頭, 三宅加奈, 脇裕典, 平池勇雄, 于静, 鈴木頭, 孫威, 廣田雄輔, 青山倫久, 山内敏正, 門脇孝, 第 59 回 日本糖尿病学会/次学術集会, 2016/5, 国内.
6. 脂肪細胞におけるスーパーエンハンサーループの形成を介した PPAR $\gamma$  による C/EBP $\alpha$  遺伝子の転写制御, 口頭, 青山倫久, 脇裕典, 井上剛, 岡部篤史, 堤修一, 若林賢一, 中村正裕, 于静,

平池勇雄, 和田洋一郎, 酒井寿郎, 油谷浩幸, 山内敏正, 門脇孝, 第 21 回 アディポサイエンス・シンポジウム (セッション 2 『細胞機能制御のメカニズム』), 2016/8/20 日, 国内.

7. 転写因子 NFIA の褐色脂肪分化と筋細胞分化の制御作用ドメインの解析, ポスター, 三宅加奈, 脇裕典, 平池勇雄, 于静, 孫威, 青山倫久, 山内敏正, 門脇孝, 第 21 回 アディポサイエンス・シンポジウム, 2016/8/20 日, 国内.
8. 転写因子 NFIA の褐色脂肪分化と筋細胞分化の制御作用ドメインの解析, 口頭, □三宅加奈, 脇裕典, 平池勇雄, 于静, 孫威, 青山倫久, 山内敏正, 門脇孝, 第 37 回 日本肥満学会, 2016/10, 国内.
9. 褐色脂肪特異的な遺伝子プログラムの制御と NFIA と PPAR $\gamma$  の共局在, 口頭, □脇裕典, 第 39 回 日本分子生物学会/会 (シンポジウム 1AS8 熱産生能の分子生物学), 2016/11, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

特記すべきこと無し

(4) 特許出願

該当無し

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業ユニットタイプ  
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation

研究開発課題名： (日本語) 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  
(英語) Epigenetic analyses on the regulation and dysregulation of metabolism in type 2 diabetes and obesity

実施期間： 平成28年 4月 1日 ～ 平成29年 3月 31日

分担研究 (日本語) 次世代シーケンス解析、および4C-Seq, Capture Hi-C法によるLong-range interactionの解析法の開発  
開発課題名： (英語) Development of analysis for genomic long-range interaction using 4C-Seq and Capture Hi-C.

研究開発分担者 (日本語) 東京大学先端科学技術研究センター 准教授 堤 修一  
所属 役職 氏名： (英語) University of Tokyo, Research Center for Advanced Science and Technology, Associate Professor, Shuichi Tsutsumi

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者： 山内 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0件、国際誌 0件)

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. A bias-correcting Capture Hi-C analysis, ポスター, 堤 修一, 岡部篤史, 油谷浩幸, Gordon Research Conference Chromatin Structure and Function, 2016/5/28, 海外
2. A bias-correcting Capture Hi-C analysis revealed the interactions between p53 binding sites and the target genes, ポスター, 堤 修一, 岡部篤史, 仲木竜, 大木理恵子, 油谷浩幸, 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016/10/7, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願