



Fibroblast growth factor 21遺伝子特異的DNA脱メチル化の機能的意義

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 日本DOHaD研究会 公開日: 2019-01-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 榛澤, 望, 橋本, 貢士, 袁, 勲梅, 辻本, 和峰, 川堀, 健一, 濱口, 美穂, 畑田, 出穂, 小川, 佳宏, 山田, 哲也 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003490

Fibroblast growth factor 21 遺伝子特異的 DNA 脱メチル化の機能的意義
Functional significance in specific DNA demethylation of Fibroblast growth factor 21 gene

榛澤 望¹、橋本 貢士²、袁 勳梅³、辻本 和峰¹、川堀 健一¹、濱口 美穂³、
畑田 出穂⁴、小川 佳宏^{3,5}、山田 哲也¹

Nozomi Hanzawa¹, Koshi Hashimoto², Yuan Xunmei³, Kazutaka Tsujimoto¹, Kenichi Kawahori¹, Miho Hamaguchi³, Izuho Hatada⁴, Yoshihiro Ogawa^{3,5}, Tetsuya Yamada¹

¹東京医科歯科大学大学院 歯学総合研究科 分子内分泌代謝学分野、²同 メタボ先制医療講座、³

同 分子細胞代謝学分野、⁴群馬大学生体調節研究所附属生体情報ゲノムリソースセンター

ゲノム科学リソース分野、⁵九州大学大学院 医学研究院 病態制御内科学分野

¹Department of Molecular Endocrinology and Metabolism, ² Department of Preemptive Medicine and Metabolism, ³Department of Molecular and Cellular Metabolism, Tokyo Medical and Dental University, ⁴Laboratory of Genome Science, Biosignal Genome Resource Center, Institute for Molecular and Cellular Regulation, Gunma University, ⁵Department of Medicine and Bioregulatory Science, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University

【背景】

DOHaD 仮説の分子機構として DNA メチル化によるエピゲノム記憶が想定されている。我々は出生前後の栄養環境変化に伴いマウス肝臓において、核内受容体 PPAR α を介した β 酸化関連遺伝子の DNA 脱メチル化が誘導されること (*Diabetes* 2015)、また β 酸化関連遺伝子のうち糖脂質代謝の改善に寄与する Fibroblast growth factor (FGF) 21 遺伝子 (*Fgf21*) では、乳仔期までに確立された *Fgf21* の DNA メチル化状態が成獣期まで維持され、成獣期における肥満抑制に関与していることを明らかにした (*Nat. Commun* 2018)。一方 *Fgf21* 単独の DNA メチル化状態が成獣期の代謝表現型に直接影響しているかは不明である。

【目的】

FGF21 遺伝子特異的に DNA 脱メチル化を導入し、機能的意義を解明する。

【方法】

マウス肝細胞株 Hepa1-6 に、*Fgf21* 特異的なガイド RNA をもつ GFP 標識 CRISPR-dCas9-TET1CD 系 (*Nat. Biotechnol.* 2016) を導入した。FACS で GFP 陽性細胞を回収し、バイサルファイトシーケンス法で DNA メチル化状態を検討し、また *Fgf21* 特異的 DNA 脱メチル化による細胞内遺伝子発現変化を検討した。

【結果】

Hepa1-6 において CRISPR-dCas9-TET1CD により *Fgf21* 特異的に DNA 脱メチル化が導入された (DNA メチル化率 96%→62.7%)。いわゆる「オフターゲット効果」や *Fgf21* 以外の遺伝子発現変化は認めなかった。さらに DNA 脱メチル化誘導により定常状態における遺伝子発現増加は認めなかったが、PPAR α リガンドを添加すると *Fgf21* 発現は有意に増加した。

【考察と結語】

今回 CRISPR-dCas9-TET1CD 系を用いて、細胞における *Fgf21* 特異的 DNA 脱メチル化に成功した。細胞系での知見から DNA メチル化の程度は遺伝子の発現応答性を規定していると考えられ、遺伝子発現の「ボリューム」であることが示唆される。