

熊本大学学術リポジトリ

Kumamoto University Repository System

Title	Lysine-specific demethylase-2 is distinctively involved in brown and beige adipogenic differentiatio...
Author(s)	高瀬, 隆太
Citation	
Issue date	2018-03-25
Type	Thesis or Dissertation
URL	http://hdl.handle.net/2298/42261
Right	

高瀬 隆太 氏の学位論文審査の要旨

論文題目: Lysine-specific demethylase-2 is distinctively involved in brown and beige adipogenic differentiation (リジン脱メチル化酵素 LSD2 は褐色脂肪及びベージュ脂肪細胞分化を調節する)

フラビン依存性のリジン特異的脱メチル化酵素であるLSD2は、主にヒストンH3の4番目のリシン(H3K4)の脱メチル化によって遺伝子発現を制御することが知られているが、LSD2の分子機能については不明な点が多い。哺乳類の脂肪組織には、エネルギー貯蔵に働く白色脂肪組織(WAT)と熱産生でエネルギー消費に働く褐色脂肪組織(BAT)があり、それぞれ系譜の異なる脂肪細胞がその機能を担っている。また、WATの中でBAT様の熱産生能を示すベージュ細胞が存在するが、これらの熱産生脂肪細胞の系譜制御の仕組みについては不明な点が多い。本研究では、褐色脂肪細胞とベージュ細胞の分化におけるLSD2の役割を明らかにすることを検討したものである。

申請者は、マウス褐色脂肪前駆細胞株(HB2)を用いて、Lsd2ノックダウン(KD)細胞を樹立した。BAT分化を評価する目的で、Oil red O染色による脂肪蓄積の観察、細胞外フラックスアナライザーを用いたミトコンドリア呼吸解析、定量RT-PCR法及びウエスタンブロット法による分化マーカーの発現解析を行った。また、RNA-sequence法による網羅的なトランスクリプトーム解析を行った。さらに、野生型及びLsd2欠損マウスの鼠径部WATおよび肩甲骨間BATから分離した間質血管細胞分画(SVF: stromal vascular fraction)を用いて分化誘導を行った。WAT由来SVFのベージュ化誘導には、Rosiglitazoneを用いた。これらの細胞を用いてRNA-sequence法及びRT-PCR法による発現解析を行った。その結果、HB2細胞の分化過程におけるLsd2-KDにより、脂肪蓄積及びミトコンドリア呼吸が抑制され、BAT特異的な遺伝子群の発現が低下した。異なるタイミングでLsd2-KDを誘導することにより、HB2細胞の分化初期においてLSD2が必要であることが分かった。トランスクリプトーム解析により、Lsd2-KD細胞では脂肪分化に関わる遺伝子群の発現低下の他に、多数の骨格筋関連遺伝子の発現が上昇していた。また、LSD2は脂肪分化関連遺伝子のプロモーター領域、および筋分化関連遺伝子座のエンハンサー領域の一部においてH3K4のメチル化を変化させていた。Lsd2-KOマウス由来のBAT-SVFでは、分化誘導によるBAT遺伝子の発現上昇が抑制されていた一方、Lsd2-KOマウス由来のベージュ化誘導WAT-SVFでは、BAT遺伝子の発現は野生型との間に差は無かったが、骨格筋遺伝子は顕著な発現上昇を来していた。このことから、LSD2は、褐色及びベージュ脂肪細胞において細胞系譜の維持に関わることが示唆された。

審査の過程においては、LSD2とLSD1の機能の違い、HB2細胞の由来とSVFとの表現型の違いの検討、H3K4以外のH3K9での検討、分化時期とLSD2の発現の時期の検討、LSD2と共役する他の分子の検討などについて、様々な応答が交わされ、申請者からは概ね適切な応答と考察がなされた。

本研究は、熱産生脂肪細胞形成においてLSD2が細胞の由来によって異なる機序により、褐色・ベージュ細胞分化プログラムをエピジェネティックに制御する新たなモデルを呈示した報告であり、学位の授与に値するものと評価した。

審査委員長 病態生化学担当教授

山縣 和也