

## 審査の結果の要旨

氏名 于 静

本研究は脂肪細胞分化における PPAR $\gamma$  プロモーター領域のヒストン H3 リジン 4 と リジン 27 のメチル化修飾の役割を明らかにするために、様々な脂肪細胞や幹細胞において H3K4me3(+), H3K27me3(+) という Bivalent 修飾による制御を解析するとともに、特に H3K27 ヒストン修飾酵素を中心に脂肪細胞分化を制御するメカニズムを検討し、下記の結果を得ている。

1. 様々な細胞の PPAR $\gamma$  1 のプロモーターのヒストン修飾を ChIP-qPCR を用いて検討したところ、マウス ES 細胞、胎児繊維芽細胞 MEF に、活性型の H3K4me3 と抑制型の H3K27me3 を同時に起こる Bivalent 修飾を認めた。脂肪系の cell line である C3H10T1/2、3T3-L1 細胞は活性型の H3K4me3 のみを認めた。一方、PPAR $\gamma$  2 プロモーターにおいては、H3K4me3、H3K27me3 のいずれも認められなかった。
2. 脂肪細胞分化における PPAR $\gamma$  プロモーターのヒストン修飾変化を検討した。MEF 細胞の脂肪分化に伴い、PPAR $\gamma$  1 プロモーターに抑制型の H3K27me3 が消失し、PPAR $\gamma$  1 遺伝子発現量は上昇した。この消失は分化刺激の DMI 処理に非依存的であった。PPAR $\gamma$  2 プロモーターにおいては、分化に伴い PPAR $\gamma$  2 を強く発現する F442A 細胞は、分化後に、H3K4me3 は de novo に出現した。
3. siRNA を用いて、H3K27 に特異的な脱メチル化酵素である Jmjd3 と Utx をノックダウンした。MEF 脂肪細胞分化過程で PPAR $\gamma$  1 プロモーターの H3K27me3 が維持され、脂肪細胞特異的な遺伝子発現が上昇せず、脂肪分化は抑制された。レトロウィルスを用いて、PPAR $\gamma$  を強制的に発現すると、Jmjd3,Utx のノックダウンで見られた脂肪細胞特異的な遺伝子発現や脂肪蓄積の抑制がレスキューされた。
4. 分化刺激前既に抑制型の H3K27me3 が消失し、活性型の H3K4me3 のみを認めた脂肪細胞 3T3-L1 細胞の PPAR $\gamma$  1 プロモーターにおいて、H3K27 メチル化を制御する PcG 複合体の Bmi1 をレトロウィルスを用いて、過剰発現した。3T3-L1 細胞の PPAR $\gamma$  1 プロモーターに H3K27me3 が出現し、Bivalent 修飾が誘導された。脂肪細胞特異的な遺伝子発現や脂肪細胞分化が抑制された。また、これらの抑制作用が PPAR $\gamma$  の強制発現により、レスキューされた。
5. Bmi1 の Ringfinger Domain deletion mutant を作成し、レトロウィルスを用いて、3T3-L1 細胞に発現させると、Bmi1 過剰発現による脂肪細胞特異的な遺伝子

発現及び脂肪細胞分化抑制が消失した。

以上、本論文は PPAR $\gamma$ 1 プロモーターの H3K4me3(+), H3K27me3(+)**Bivalent** 修飾は、ES 細胞や胎児線維芽細胞 (MEF) の未分化状態における PPAR $\gamma$ 1 の発現ポテンシャルを規定する可能性が示唆され、H3K27 メチル化・脱メチル化酵素による制御は脂肪細胞分化において重要な役割を果たす事を示した。本研究はエピジェネティックによる脂肪細胞分化を制御するメカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。