

ベージュ脂肪細胞は慢性寒冷環境下、白色脂肪組織中に誘導される熱産生脂肪細胞で、糖や脂肪を活発に燃焼し、抗肥満の標的として注目されています。私たちは先行研究において、慢性寒冷下、ヒストン脱メチル化酵素である JMJD1A が 1st step としてリン酸化されることで寒冷シグナル感知し、その後、2nd step として、転写抑制性ヒストンマークを取り除くことで、ベージュ化、熱産生を誘導することを見出しました。

しかしながら、これまでに、エピゲノム酵素の活性化剤は開発されてきておらず、JMJD1A も例に漏れず活性化剤は開発されていませんでした。そのため JMJD1A を活性化し、エピゲノム書き換えを誘導することで、ベージュ化、熱産生を促進することは困難でした。そこでなんとか JMJD1A を活性化できないかと考え、仮説として、JMJD1A リン酸化の負の制御因子である脱リン酸化酵素を同定し、これを阻害することで 1st step リン酸化を安定化させることができれば、2nd step の脱メチル化を誘導、即ち JMJD1A を活性化できないか、これによりベージュ化を誘導し、肥満が改善されないかと考えました。そこで本研究では JMJD1A の脱リン酸化酵素を同定し、JMJD1A の脱リン酸化酵素の阻害が、ベージュ化や肥満に及ぼす影響を評価することを目的としました。

まず初めにプロテオミクス解析から JMJD1A の脱リン酸化酵素の同定を試みた所、JMJD1A の相互作用タンパク質として脱リン酸化酵素の調節サブユニット MYPT1 と触媒サブユニットである PP1 $\beta$  を同定いたしました。またリン酸化イムノブロット解析から、MYPT1 を KD することで JMJD1A リン酸化レベルが亢進することを見出し、JMJD1A の脱リン酸化酵素として MYPT/PP1 $\beta$  脱リン酸化酵素複合体を見出しました。また、ChIP-qPCR 解析及び、qPCR 解析から MYPT1 と PP1 $\beta$  のノックダウンにより、熱産生遺伝子領域の抑制性ヒストンメチル化マークの脱メチル化が亢進し、その結果熱産生遺伝子の発現が顕著に誘導されることを見出しました。以上から MYPT1-PP1 $\beta$  の阻害は、エピゲノム書き換えを促進し、ベージュ化を誘導することを見出しました。

それでは生理学的環境、寒冷環境では MYPT1-PP1 $\beta$  複合体は活性制御を受けるのでしょうか？これを調べる為寒冷刺激を模して非選択的  $\beta$  アゴニスト処理した細胞において、リン酸化プロテオミクス解析を行ったところ、 $\beta$ -アドレナリン受容体の刺激により MYPT1 がスレオニンの 694 番目でリン酸化を受けることを見出しました。更にリン酸化イムノブロット解析から、この MYPT1 のリン酸化が、MYPT1-PP1 $\beta$  の活性を負に制御することを見出しました。以上から寒冷環境下、 $\beta$ -アドレナリン受容体の活性化に伴い、MYPT1-PP1 $\beta$  は不活化されることで、JMJD1A の寒冷誘発性のリン酸化が増加し、ベージュ化が誘導されるという仕組みが明らかとなりました。

続いて、MYPT1 KD による熱産生遺伝子の誘導が当初の予想よりも顕著に見られたことから、MYPT が JMJD1A を介したエピジェネティックな経路以外にも他のシグナル経路を介することでベージュ化制御に関与している可能性を考えました。そこで、リン酸化プロテオミクス解析と RNA-seq 解析を行いました所、MYPT1/PP1 $\beta$  がミオシンの構成因子でありますミオシン調節軽鎖のリン酸化を制御することで、アクトミオシンの張力を介して、機械

刺激応答性の YAP/TAZ 転写コアクチベーターの核内活性を制御している可能性が示唆されました。実際に qPCR 解析から MYPT1 の阻害による熱産生遺伝子発現誘導には、ミオシン調節軽鎖のリン酸化、アクトミオシンの張力、YAP/TAZ 転写コアクチベーターが関与することを見出し、MYPT1 が JMJD1A を介した経路のみならず、ミオシン調節軽鎖のリン酸化、アクトミオシンの張力、YAP/TAZ 転写コアクチベーターからなる転写シグナル経路も調節することでベージュ化を制御していることが分かりました。

では、JMJD1A を介したエピジェネティックな経路と YAP/TAZ を介した転写シグナル経路はクロストークするのでしょうか？これを確かめるために、脱メチル化酵素活性を持たない JMJD1A の過剰発現細胞、即ち、JMJD1A を介したエピゲノム経路が阻害されている細胞を作製したところ、この細胞では、MYPT1 を KD しても熱産生遺伝子の誘導が起こらないことを見出しました。以上の結果から、MYPT1 阻害による熱産生遺伝子発現誘導には、JMJD1A による転写抑制性ヒストン修飾の除去が先行して必要であることが見出し、その後オープンになったクロマチンに YAP/TAZ 転写コアクチベーターがリクルートされ、熱産生遺伝子の転写が活性化されるという仕組みが示唆されました。最後に、JMJD1A の脱リン酸化酵素の阻害が、ベージュ化やエネルギー代謝に及ぼす影響をマウス個体レベルで評価しました。結果、脂肪組織特異的な MYPT1 の欠損により、ベージュ化が誘導され、食事誘導性肥満、耐糖能、インスリン感受性が改善されることを見出しました。

以上、本研究では JMJD1A の負の制御因子として、脱リン酸化酵素である MYPT1-PP1 $\beta$  脱リン酸化酵素複合体を同定し、これの阻害が、JMJD1A リン酸化の安定化を介して、エピゲノム書き換えが誘導、即ち JMJD1A が活性化されることでベージュ化が誘導され、肥満や糖代謝異常が改善することを見出しました。更に寒冷/ $\beta$  アドレナリン受容体シグナルにより、MYPT1-PP1 $\beta$  はリン酸化を介して不活化されることで寒冷センサーとして機能し、これに伴いリン酸化 JMJD1A を介したエピゲノムの書き換えが誘導され、続いて YAP/TAZ 転写コアクチベーターの核内活性が促進されることで、ベージュ化が誘導されるという仕組みが明らかになりました。