

学位論文抄録

LSD1 mediates metabolic reprogramming

by glucocorticoids during myogenic differentiation

(骨格筋分化において、LSD1 酵素はグルココルチコイドによる代謝プログラムを調節する)

阿南 浩太郎

指導教員

中村 公俊 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻小児科学

中尾 光善 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻細胞医学

Abstract of the Thesis

Background and Purpose: Metabolic properties of cells are influenced by environmental factors including nutrients and hormones, particularly in skeletal muscle. Although forming such metabolic properties is likely due to epigenetic mechanisms, it is not clear how epigenetic plasticity is regulated in myogenic progenitor cells. Previous reports demonstrated that lysine-specific demethylase-1 (LSD1) plays a pivotal role in regulating cellular metabolism. This study investigated the role of LSD1 in controlling cellular phenotypes during skeletal myogenesis and external factors that can control LSD1 function.

Methods: C2C12 mouse myoblasts were used as a model of myogenic differentiation, to identify the target genes of LSD1 by cDNA microarray in the cells treated with specific LSD1 inhibitors. Genome-wide chromatin immunoprecipitation-sequencing (ChIP-seq) analysis was then performed to identify the LSD1-accumulated regions, together with metabolic analysis with the Extracellular Flux Analyzer. To investigate how LSD1 is regulated by environmental factors, RNA and protein expression levels were assessed in skeletal muscle cells under glucocorticoid treatment and in muscles extracted from mice administered with glucocorticoid.

Results: LSD1 inhibition upregulated the expression of genes associated with oxidative metabolism and slow fiber myosins in C2C12 cells. Consistently, LSD1 inhibitor-treated cells exhibited increased oxygen consumption. ChIP-seq analysis revealed that LSD1 accumulates at promoter regions of oxidative metabolic genes and at enhancer regions of slow-twitch fiber associated genes, and demethylates the histone H3 at lysine 4 (H3K4) at these regions. Exposure to the glucocorticoid caused proteasomal degradation of LSD1 by inducing an E3 ubiquitin ligase JADE2, resulting in formation of oxidative slow myotubes.

Conclusions: LSD1 coordinately regulates metabolism and fiber type in the skeletal muscle lineage, under hormonal influence. These findings enhance understanding of how environmental factors can affect developmental programs during mammalian myogenesis.

学位論文抄録

【目的】 骨格筋は運動器であるとともに、エネルギーを産生・蓄積・消費する代謝臓器でもある。また、栄養環境に応じて、異化と同化のバランスを可塑的に切り替える。その過程では多くの遺伝子の発現が変化することが報告されているが、エピジェネティクス機構の関与については未解明の部分が多い。リジン特異的脱メチル化酵素 LSD1 はヒストン H3 の 4 番目リジン (H3K4) の脱メチル化反応を主に担っており、最近、脂肪細胞などのエネルギー代謝の調節に重要な役割を果たすことが判明した。本研究では、骨格筋細胞において、LSD1 による遺伝子制御および代謝調節の分子機構、さらに環境因子による LSD1 の機能制御機構を明らかにすることを目的とした。

【方法】 マウス筋芽細胞株 C2C12 を分化誘導し、特異的な LSD1 阻害剤 (S2101) の有無の条件下で、発現マイクロアレイ解析を用いて LSD1 標的遺伝子を探索した。クロマチン免疫沈降シーケンス (ChIP-seq) 解析を用いて、ゲノム DNA 上の LSD1 の集積部位および H3K4 のメチル化を網羅的に検討した。細胞外フラックスアナライザーを用いて、エネルギー代謝活性を計測した。さらに、環境因子との関連性を調べるため、筋芽細胞の分化誘導の過程で LSD1 阻害とホルモンの刺激を組み合わせることで検討するとともに、ホルモン刺激を受けたマウス骨格筋を用いて遺伝子発現および LSD1 タンパク質の発現を解析した。

【結果】 LSD1 阻害下の筋芽細胞では、対照と比べて、脂質代謝および好氣的代謝に関わる遺伝子群の発現が増加していた。さらに、LSD1 阻害によって、好氣的代謝活性および共役する遅筋線維の発現が増加した。LSD1 は代謝関連遺伝子のプロモーター領域、および筋線維関連遺伝子座のエンハンサー領域に集積しており、これらの領域にある H3K4 を脱メチル化することにより、遺伝子発現を抑制していた。また、LSD1 による代謝および筋線維遺伝子の発現制御は、異化ホルモンであるグルココルチコイドの作用と相反しており、このグルココルチコイド刺激によって、培養細胞およびマウス骨格筋における LSD1 タンパク質が減少することが分かった。

【考察】 LSD1 は H3K4 の脱メチル化活性を通して、骨格筋細胞の好氣的代謝および遅筋線維関連遺伝子群の発現を抑制し、骨格筋の表現型を速筋型に特徴づけると考えられた。また、LSD1 は、グルココルチコイドによる骨格筋表現型の変化を、エピゲノム変換により仲介している可能性が示唆された。

【結論】 LSD1 は、環境応答に働くホルモンにตอบสนองして骨格筋代謝および筋線維を統合的に制御していることが明らかになった。骨格筋のエピジェネティックな代謝リプログラミングの機序は、環境刺激が長期にわたって代謝変化を引き起こす「代謝メモリー」の分子基盤になる可能性が示唆された。