

エピジェネティクスの深淵

セミナー内容

エピジェネティクスはもはや新しい分野ではありません。胚発生から疾患まで、およそあらゆる局面で動物の生涯に関わっており、応用動物科学分野でも重要な研究領域です。本セミナーでは、クロマチン、ヒストン、DNAメチル化レベルなどの基礎研究からヒト疾患との関係の解析まで、最近の研究を紹介していただき、エピジェネティクスの世界にどっぷり漬かる機会を提供します。

1. はじめに (13:00-13:05)

塩田 邦郎 (東京大学大学院農学生命科学研究科・細胞生化学研究室)

2. ヒト精巣特異的クロマチンの構造と性質の解析 (13:05-13:55)

胡桃坂 仁志 (早稲田大学理工学術院・構造生物学研究室)

3. ヒストンの多種多様性を介したエピジェネティック制御 (13:55-14:45)

浦 聖恵 (大阪大学大学院医学系研究科・遺伝子治療学分野)

————— 休憩 (14:45-15:00) —————

4. DNAメチル化から見たマウス初期胚の細胞分化 (15:00-15:50)

田中 智 (東京大学大学院農学生命科学研究科・細胞生化学研究室)

5. 自閉症とエピジェネティクス (15:50-16:40)

堀家 慎一 (金沢大学学際科学実験センター・ゲノム機能解析分野)

6. ヒト発生異常のゲノム解析・エピゲノム解析 (16:40-17:30)

秦 健一郎 (国立成育医療研究センター研究所・周産期病態研究部)

7. 質疑応答・総合討論 (17:30-17:45)

ヒト精巣特異的クロマチンの構造と性質の解析

胡桃坂 仁志

早稲田大学理工学術院・構造生物学研究室・教授

精子形成の際、遺伝情報を担う巨大なゲノム DNA は、微小な精子頭部に収納される。そのためにはゲノム DNA の収納本体であるクロマチンの大規模な再編成がなされる。クロマチンの主要なタンパク質成分はヒストンであるが、この過程でクロマチンの大部分のヒストンがプロタミンに置き換わる。近年、ヒトの精子核において、通常クロマチンの基本構造単位であるヌクレオソームが4%保持されていることが報告され、その精子特異的なヌクレオソームの機能的意義が議論されている。ヌクレオソームは、ヒストン H2A, H2B, H3, H4 を二つずつ含むヒストン八量体と約 150 塩基対の DNA からなる構造体である。興味深いことに、高等真核生物では、H4 以外のヒストンにはバリエーションが存在する。特に、ヒトでは数種類の精巣特異的ヒストンバリエーションが報告され、それらを含むヌクレオソームの機能・構造が精子形成過程のクロマチン構造再編成において重要であると考えられている。代表的なヒトの精巣特異的ヒストンバリエーションとしては、H3 に関しては H3T (H3.4) および H3.5 が、H2B に関しては TSH2B が報告されている。これらの精巣特異的なヒストンバリエーションが形成するクロマチン構造およびその特性が、精子形成過程に重要な役割を果たすと考えられるが、これらのヒストンバリエーションを単離精製することができなかったため解析されていなかった。

我々は、独自に構築したリコンビナントによるヒストン精製系を用いて、試験管内再構成系を用いたヌクレオソームの生化学的および構造生物学的解析を行っている。今回、特に精巣特異的なヒストンバリエーションを用いた解析例を紹介し、最新のデータを踏まえ、精巣特異的ヒストンバリエーションによるクロマチン構造再編成のメカニズムについて議論したい。

ヒストンの多種多様性を介したエピジェネティック制御

浦 聖恵

大阪大学大学院医学系研究科・遺伝子治療学分野・准教授

科学技術振興機構 さきがけ(JST, PRESTO)

近年、ヒストン修飾やバリエーションの存在によるヒストンの多種多様性が、エピジェネティック制御の重要な分子基盤になると考えが定着しつつある。しかし、未だにヒストンの多種多様性が、遺伝子発現の多段階反応過程で、いかなる分子機能を担っているのか、その全体像は捉えられていない。この問いに答えるために、リンカーヒストン H1 とコアヒストン H3 の 36 番目のリジン残基のメチル化(H3K36me)に焦点を当ててクロマチン研究を進めている。

H3K36me は、ゲノム全体で進行中の転写活性領域をマークする分布を示すが、高等真核生物では転写との直接の繋がりが未だに判然としないヒストン修飾である。私達は再構成クロマチン鑄型および遺伝子欠損 ES 細胞やマウスを用いて、酵母の Set2 のマウス類自体の一つ、Wolf-Hirschhorn syndrome candidate 1 (*Whsc1*)がヒストン H3K36 特異的なメチル化酵素であり、様々な発生・分化を司る転写因子やクロマチン修飾因子、核構造体と結合して転写制御に関わり、発育不良や精神遅滞を特徴とした 4p-症候群の原因遺伝子であることをこれまでに突き止めた (Nimura and Ura et al. Nature 2009)。 *Whsc1* 欠損マウスは DNA 損傷に鋭敏な組織で特に著しい成長阻害を示して早老である。さらに核内で DNA 損傷応答因子と相互作用して DNA 損傷部位に集積することから、転写反応と DNA 損傷応答の両者を共役させた精巧なゲノム機能制御に機能する事が想像される。

現在、DNA 切断、組み換えを積極的に細胞分化のプログラムに組み込んだリンパ球系で、“転写反応自体を DNA 損傷誘発因子”として捉えて H3K36 メチル化酵素 *Whsc1* の機能解析を進めている。単純に転写活性化状態を正か否に 2 分する転写制御と次元の異なる、ヒストン修飾を介した転写制御について議論したい。

DNA メチル化から見たマウス初期胚の細胞分化

田中 智

東京大学大学院農学生命科学研究科・細胞生化学研究室・准教授

ほ乳類の2種類の細胞に注目して比較した場合に、一方の細胞種ではメチル化され、他方ではメチル化されていないようなゲノム領域 (T-DMR) が存在する。T-DMR はゲノム上に多数存在し、そのメチル化—非メチル化の組合せが細胞種に固有の「ゲノム DNA メチル化プロファイル」を成している。これはつまり、細胞が分化する際には、ゲノム全体のメチル化状態に変化が生じ、新たな DNA メチル化プロファイルが形成されることを意味する。

ほ乳類の初期胚は、胚盤胞を形成する際に、全ての体細胞と生殖細胞を派生する内部細胞塊 (ICM) と、ICM を取り囲む栄養外胚葉 (Trophectoderm; TE) の細胞とに分化する。TE の細胞は、着床後、胎盤の大部分と胎児を取り囲む膜の一部を派生するが、胚体形成に直接寄与することはない。はたして、この、ほ乳類胚発生で最初に起こる細胞分化も DNA メチル化プロファイルの変化を伴うのだろうか。この問いに答えるべく、われわれはまず ICM 由来の胚性幹細胞 (ES 細胞) と、TE に由来する栄養膜幹細胞 (TS 細胞) の比較から、栄養膜細胞系列—胚体細胞系列間で DNA メチル化状態の異なるゲノム領域 (TS-ES T-DMR) を同定した。本講義では、TS-ES T-DMR の同定から初期胚を用いた解析までの流れと、得られた結果を紹介し、着床前の胚における細胞分化と DNA メチル化プロファイルの形成との関係を考察する。

自閉症とエピジェネティクス

堀家 慎一

金沢大学学際科学実験センター・ゲノム機能解析分野・准教授

自閉症は、「言語発達の遅れ」「コミュニケーション能力の障害」「反復的で常同的な行動」を特徴とした広汎性神経発達障害である。自閉症の有病率は、150人に1人といわれ、その男女比は4:1とされる。社会・環境と遺伝的背景が発症に関与していると考えられているが、その原因遺伝子、発症メカニズムは未だ明確にされていない。

近年、マイクロアレイ技術の発展により、自閉症患者で特異的なゲノムコピー数多型 (CNVs)が様々な染色体領域で同定されるに至っている。しかしながら、自閉症の発症に直接結びつくような原因遺伝子の同定に成功した例は非常に希で、自閉症患者で認められるゲノムの欠失、重複により二次的に周辺の遺伝子の発現に影響を与えている可能性が示唆される。このことから、我々は自閉症やレット症候群、脆弱性 X 症候群などの広汎性神経発達障害の原因の一つに、染色体構造の大きな変化や、「染色体ペアリング」といったグローバルな発現制御機構がそれらの複雑な臨床症状に寄与しているのではないかと考えている。そこで、我々は自閉症患者で最も頻回に認められる CNVs である母方アレル特異的 15q11-q13 の重複に着目した。15q11-q13 領域は、代表的なゲノム刷り込み領域であり、この領域のゲノム刷り込み遺伝子の異常に関わる疾病として、プラダーウィリ症候群 (PWS)、アンジェルマン症候群 (AS) が知られている。程度の差はあるものの共に精神遅滞が認められ、特に AS は自閉症と共通の症状が認められることなどから、15q11-q13 領域の母性発現遺伝子 *UBE3A* の自閉症への関与が強く示唆される。また、一部の自閉症患者で *UBE3A* や *ATP10C*, *GABA* レセプター遺伝子群の発現量の低下などが報告されているが、いずれも自閉症患者で高頻度に認められる母方アレル特異的重複がいかに自閉症の発症機序に関わっているかを説明出来るものではない。これまでに我々は、15q11-q13 領域の「染色体ペアリング」と呼ばれるクロマチンダイナミクスに着目し、神経分化に伴い 15q11-q13 領域の核内配置が如何に制御されるかについて SH-SY5Y 細胞を用いた実験で明らかにした。本講義では、以上のような自閉症発症機序におけるクロマチンダイナミクスに関する最新の知見を紹介する。

ヒト発生異常のゲノム解析・エピゲノム解析

秦 健一郎

国立成育医療研究センター研究所・周産期病態研究部・部長

少子化の進む日本ではあるが、それでも毎年約 100 万人が出生する。100 万人の赤ちゃんは、妊娠中から学童期に至るまで、親や学校の先生が毎日の健康状態を観察し、あるいは医師による妊婦健診や学童検診など、さまざまな観点からスクリーニングが行われる。その結果として多数の母集団から見出された症例を詳細に解析すると、未知の生命現象、ヒト発生分化にかかわる重要な知見が見つかることは、決して稀ではない。

本講義では、哺乳類生殖と発生に関わるエピジェネティックな遺伝子発現制御を概説すると共に、我々が実際の症例（母体因子により絨毛発生異常を繰り返す症例、片親ゲノムしか持たないが出生に至った二倍体の症例、胎盤だけにエピゲノム異常を伴い発育不全を呈した症例、生殖補助医療による出生児と自然妊娠児のエピゲノム状態差異の有無、等々）を解析して得られた、ヒト生殖発生に関わる知見を紹介する。また、ヒトは遺伝的多様性を有するため、エピゲノム解析に加えてゲノム解析を並行して行うことが重要である。ヒト発生異常を対象にした、次世代シーケンサーや網羅的一塩基多型アレイを用いた変異解析についても概説する。講義で挙げる研究の実例は、モデル生物で得られた知識の応用が奏功したものもあれば、逆にモデル生物では解析できなかったものもあり、そのような試行錯誤も含め参考にしていただければ幸いである。