

平成27年11月16日

報道関係者各位

国立大学法人 筑波大学
国立研究開発法人 国立成育医療研究センター

ゲノム刷り込みを読み解く

～ゲノム刷り込みが維持される仕組みに迫る～

研究成果のポイント

1. これまで覆い隠されていたゲノム刷り込みのメカニズムの一端を、遺伝子改変マウスを用いて明らかにしました。
2. *Igf2/H19* 遺伝子座^{注1}のゲノム刷り込みの維持には、受精後の *de novo* DNA メチル化^{注2} 活性が必須であることがわかりました。
3. 幹細胞におけるエピゲノムの再プログラム化過程を明らかにする手がかりとなることが期待されます。

国立大学法人筑波大学 生命環境系の谷本啓司教授、松崎仁美助教(TARAセンター)、国立成育医療研究センター研究所周産期病態研究部の秦健一郎部長らの研究グループは、哺乳動物における遺伝子発現のエピジェネティック制御^{注3}の一つ、ゲノム刷り込みの分子メカニズムの一端を明らかにしました。

哺乳動物は父親と母親から1セットずつのゲノムを受け継ぎ、両親由来の遺伝子が等しく発現します。しかし、一部の遺伝子は父親、あるいは母親から受け継がれたときにのみ発現することから、ゲノムは己が由来する親の性を記憶していると考えられています。この記憶の本体はDNAのメチル化であり、両親の精子や卵が形成される過程でゲノムに付加され、受精後、おとなになるまで維持されます。

受精後初期の胚では、その再プログラム化に伴って、ゲノム全体でDNAの脱メチル化が起こります。ところが、両親由来の記憶を担うDNAメチル化だけはこの過程から除外され、そのメカニズムがわかっていませんでした。本研究では、受精後刷り込みメチル化に必須のDNA配列を欠損するマウスを作製することで、少なくとも、精子でメチル化される制御配列 *H19* ICRIにおける両親由来の記憶は、受精後刷り込みメチル化活性によって、初期胚における再プログラム化から保護されていることがわかりました。これは、今後、遺伝子発現のエピジェネティック制御の仕組みを解明していく上で有益な知見です。

本研究の成果は、2015年11月17日（日本時間21時30分）に公開される「Development」誌142巻22号に、注目すべき論文として掲載されます。

*本研究は、中島記念国際交流財団、倉田記念日立科学技術財団、科学研究費若手研究（B）（以上、松崎）、上原記念生命科学財団、科学研究費基盤研究（B）、新学術領域研究（生殖細胞のエピゲノムダイナミクスとその制御）（以上、谷本）が助成する研究費によって実施されました。

研究の背景

哺乳動物は、父親と母親から1セットずつのゲノムを受け継ぎ、両親由来の遺伝子が子で発現します。しかし、一部の遺伝子については、どちらか一方の親から由来したときのみ、片方のアリル(対立遺伝子)だけで発現する「ゲノム刷り込み(ゲノムインプリンティング; genomic imprinting)」と呼ばれる現象が知られています(図1)。刷り込み制御を受ける遺伝子のほとんどは個体の発生や成長に重要な役割を持っており、その片アリル性の発現が破綻すると発生異常やヒトの疾患の原因となることから、哺乳類で必須の遺伝子発現制御といえます。

刷り込み遺伝子の片アリル性発現は、遺伝子座内の *cis* 制御配列^{注4}である imprinting control region(ICR)が、母親由来か父親由来かによって、異なるエピジェネティック修飾(特に「DNAメチル化」)を受けていることにより引き起こされます(図2A)。ICRのDNAメチル化レベルの差は、精子と卵子の間ですでに検出されています。したがって、親世代の配偶子で「確立」されたDNAメチル化状態の違いが、受精後も、子世代の細胞のアリル間で「維持」されることで、遺伝子発現を制御すると考えられています(図2B)。しかしながら、特定のICR配列がなぜ精子のみ、あるいは卵子のみでメチル化され、その後も維持されるのか、そのメカニズムに関してはよくわかっていません。

研究内容と成果

本研究グループは以前、精子でメチル化される *H19* ICR と呼ばれる DNA 配列が、トランスジェニック・マウスにおいては精子でメチル化されず、受精後に、父親から受け継がれた時にのみメチル化されることを発見しました。(Tanimoto et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005)。本研究では、内在 *H19* ICR 配列を改変して、その精子でのDNAメチル化を低下させることで、父親由来の同配列が受精後すぐに、*de novo* DNAメチル化酵素によりメチル化されることを明らかにしました(図3)。さらに、この受精後のDNAメチル化に必要な *H19* ICR 内の配列を決定し、これをマウス内在の *H19* ICR から欠失させました。すると、この変異型 *H19* ICR は、精子では正しくDNAメチル化されるものの、受精後にそのメチル化が失われていくことが分かりました。これに伴って、子では *Igf2* 遺伝子、*H19* 遺伝子の発現量がそれぞれ変化し、体が異常に小さくなることも観察しました(図4)。

これらの結果は、「ICRは一方の配偶子でメチル化されてしまえば、受精後もその状態は維持される」というこれまでの考え方を改めるきっかけとなりました。つまり、少なくとも *H19* ICR は、精子でメチル化されるだけでは不十分であり、受精後ただちに、父由来アリルを特異的に認識してメチル化する仕組みによって、刷り込みメチル化、片アリル性遺伝子発現や、正常発生が保証されていると考えられます。

受精後初期胚では、DNA配列のほとんどがゲノムワイドに脱メチル化されます。ところが、ICR配列だけは片アリルのみでDNAメチル化状態が維持されることが、ゲノム刷り込み現象における大きな謎の一つになっています。今回、本研究グループが *H19* ICR で見つけた「受精後アリル特異的なDNAメチル化活性」が、この謎に対する答えになるかもしれません。

今後の展開

今後、どのような因子が *H19* ICR に結合して受精後DNAメチル化を引き起こしているのか、どのようなエピゲノム情報が親から子へと伝わっているのか、などを明らかにしていくことで、エピジェネティックな遺伝子発現制御の仕組みの理解がさらに進むと考えられます。さらに、これらの知見は、幹細胞におけるエピゲノムの再プログラム化過程を明らかにする手がかりとなることも期待されます。

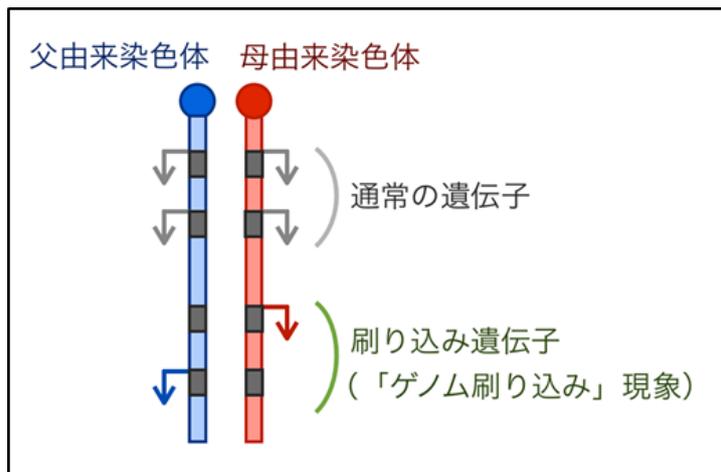


図 1. 哺乳動物の遺伝子発現制御

マウスやヒトなどの哺乳動物では、ほとんどの遺伝子は両親由来の染色体から発現するが、一部の遺伝子(刷り込み遺伝子)は、片方の親由来の染色体からしか発現しない(「ゲノム刷り込み」現象)。

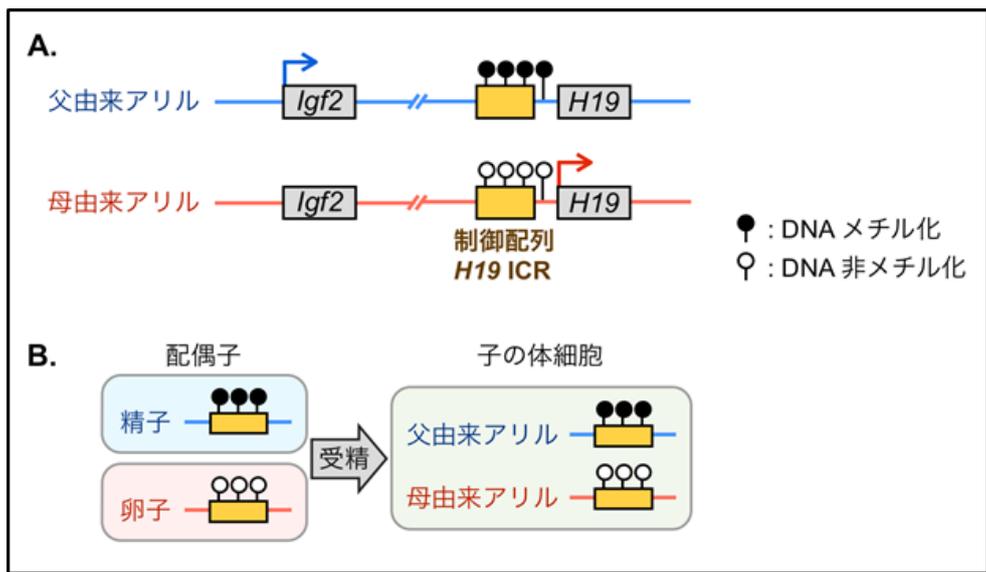


図 2. ゲノム刷り込み遺伝子発現制御には、DNAの「メチル化」修飾が重要である

A. 転写を制御する ICR (imprinting control region) 配列が、一方の親由来のアリルでのみ DNA メチル化される結果、刷り込み遺伝子が片方のアリルでのみ転写されるようになる。図は、*Igf2/H19* 刷り込み遺伝子座の例。同遺伝子座の ICR (*H19* ICR) は、父由来アリルでのみメチル化される。

B. ICR の DNA メチル化の程度は、配偶子の段階ですでに差がある。*H19* ICR は、精子ではメチル化されるが、卵子ではされない。

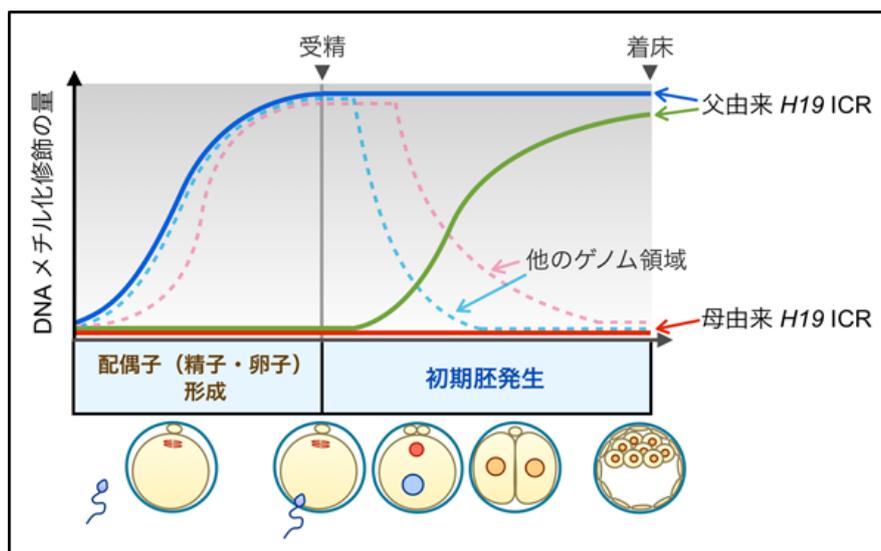


図 3. 受精直後の胚には、精子由来の *H19* ICR を選択的に DNA メチル化するメカニズムが存在する。受精直後の胚では、全能性を獲得するために、ゲノムのほとんどの部分で DNA の脱メチル化が起こる（水色破線、ピンク破線）。そのような状況であっても、精子でメチル化された *H19* ICR 配列は、受精後も父由来アリルのみでメチル化され続けることが知られており（青実線）、このメカニズムがよくわかっていない。本研究グループは、*H19* ICR 配列が、精子でメチル化されなくても、受精直後の胚でその由来（精子 or 卵子）が識別され、父由来アリルで選択的にメチル化されることを見いだした（緑実線）。この受精後 DNA メチル化活性が、刷り込みメチル化状態の保護に重要であると考えられる。



図 4. *H19* ICR の受精後 DNA メチル化に必要な領域を欠損したマウスは、成長が遅延する。受精後 DNA メチル化に必要な *H19* ICR の一部配列を欠損したマウスでは、*H19* ICR の DNA メチル化量が低下することで刷り込み遺伝子発現が異常となり、野生型のマウスと比較して体が小さくなった（写真は生後 7 日の同腹のマウス）。

用語解説

注1) *Igf2/H19* 遺伝子座 : 父親由来アリルで発現する *Igf2* (*Insulin-like growth factor-2*) 遺伝子と、母親由来アリルで発現する *H19* 遺伝子が含まれる。これらの片アリル性遺伝子発現は両遺伝子の間に位置する *H19* ICR (*imprinting control region*) 配列により制御される。同配列は、精子でのみメチル化され、卵子ではされない刷り込み制御配列の代表例である。

注2) DNA メチル化: DNA の一部がメチル基の付加により化学修飾されること。哺乳動物では、DNA に含まれる 4 種類の塩基のうち、シトシンとグアニンが連続してあらわれる場合、シトシンが酵素によりメチル化されることがある。代表的なエピジェネティック修飾のひとつで、遺伝子の発現調節などに関わる。非メチル化状態の

DNA を新規にメチル化する反応を *de novo*メチル化と呼び、2 本鎖 DNA のうち片鎖がメチル化されている状態を、両鎖がメチル化された状態にする反応を維持メチル化と呼ぶ。

注3) エピジェネティック制御:DNA 配列を変化させずに、ゲノムに新たな情報を加えることによる制御で、その実体はDNAメチル化やヒストン修飾が中心。妊婦の食事と成人病との関わりが最近注目されているが、これも胎児期におけるエピゲノムの変化が、後に表現型として顕在化するエピジェネティック制御の一例である。

注4) *cis* 制御配列: DNA上で遺伝子の発現を調節する領域。

参考文献

Tanimoto K, Shimotsuna M, Matsuzaki H, Omori A, Bungert J, Engel JD, Fukamizu A.: Genomic imprinting recapitulated in the human beta-globin locus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 102(29):10250–10255 (2005)

掲載論文

【題名】 *De novo* DNA methylation through the 5'-segment of the *H19* ICR maintains its imprint during early embryogenesis

(邦題: *H19* ICR 配列の 5' 領域を介した新規 DNA メチル化活性が、初期胚発生過程におけるその刷り込みメチル化状態の維持に関与する)

【著者名】 Hitomi Matsuzaki¹, Eiichi Okamura¹, Takuya Takahashi¹, Aki Ushiki¹, Toshinobu Nakamura², Toru Nakano³, Kenichiro Hata⁴, Akiyoshi Fukamizu¹, Keiji Tanimoto¹

1 筑波大学、2 長浜バイオ大学、3 大阪大学、4 国立成育医療研究センター

【掲載誌】 *Development* (Vol. 142, Issue 22)

DOI:10.1242/dev.126003

問い合わせ先

谷本 啓司 (たにもと けいじ)

筑波大学 生命環境系 教授 (生物機能科学専攻)

〒305-8572 茨城県つくば市天王台 1-1-1

国立成育医療研究センター 総務部総務課広報係

〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1