

特集 エピジェネティクス: DNA メチル化とクロマチンの相互作用

ゲノム情報を活用する高次の生物システム

中尾光善

エピジェネティクスは、遺伝子機能が選択的に活性化または不活性化される機構であり、DNAの塩基配列を超えた高次の遺伝情報を提供している。最近、DNAメチル化酵素、メチル化CpG結合タンパク質、ヒストン脱アセチル化酵素、クロマチン再構築因子などの新しい分子群や機能的な複合体が相次いで発見されたことで、転写、複製、染色体、ゲノムの安定性、変異と修復、発生分化、発癌、免疫システムなど多様な基本生命活動の分子論に貢献する時期にきた。エピジェネティクス研究は新しい生命観を創造することであろう。

はじめに

21世紀は生命科学の世紀であると標榜されており、ゲノムプロジェクトやデータベース、先端的な科学技術という大きな知的財産を次世代の研究に実質的に反映させるべき時期を迎えている。いくつかの生物種ではゲノムの全塩基配列がすでに決定されており、トランプゲームに例えると、どのような遺伝子というカードを持っているのかを一目瞭然に周知したことになる。

しかしながら、生物が手持ちのカードをどのように使い分けているのかが重要なポイントである。多細胞生物の1個体内の細胞は基本的に同一ゲノムを有しているのに、それぞれが固有の細胞機能を果たしている。これは、ゲノム上の遺伝子の活用方法、すなわちエピジェネティクス(epigenetics)が異なっているゆえんにほかならない。最近の2~3年の研究の趨勢を振り返ってみると、DNAメチル化、ヒスト

ンのアセチル化、クロマチンの形成、転写調節、ゲノムの動態など、従来は別枠で論じられることが多かった事象が相互に深く関連していること、しかも後述する多種多様な分子群や活性複合体が連携しながら働いていることが判明してきた。このような複雑な生体现象にアプローチするためには、エピジェネティクスの全体像に立脚しながら各々の現象論や分子論を展開していく柔軟な思考過程が求められている。本特集では、エピジェネティクスを“DNAメチル化とクロマチンの相互作用”と捉えて、現時点での生物・科学・医学情報を総合的に提供したい。

エピジェネティクス

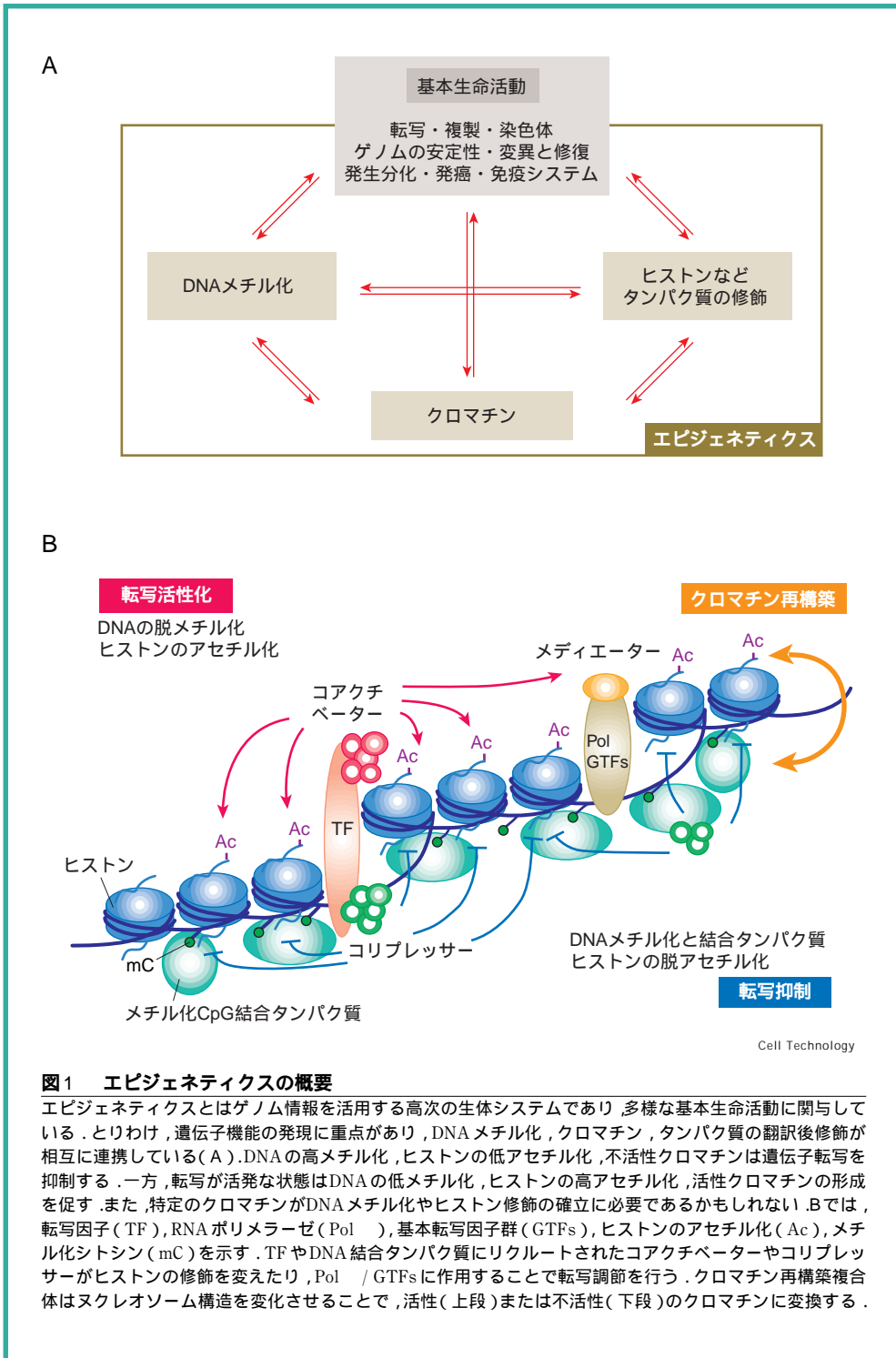
クロマチン領域をリードする研究者の一人であるAllan Wolffe博士が“エピジェネティクス”を“heritable changes in gene expression that occur without a change in DNA sequence”と表現している¹⁾。また、DNA-RNA-タンパク質という生体分子の変換に

Epigenetic Regulation through DNA Methylation and Chromatin

NAKAO Mitsuyoshi 熊本大学医学部腫瘍医学講座

中尾光善 E-mail: mnakao@gpo.kumamoto-u.ac.jp

1985年島根医科大学医学部卒業。1991年久留米大学大学院医学研究科修了、医学博士。1992年ペイラー医科大学およびハワードヒューズ医学研究所研究員。1995年現所属、助手。2000年より同講師。エピジェネティクス、DNAおよびタンパク質の修飾・制御システムの研究。



において、DNAの塩基配列から以降のすべての過程を含めて広義のエピジェネティクスと考えている。すなわち、DNAのメチル基修飾とクロマチンの形成、RNAの生合成と分解、タンパク質の生合成、翻訳後修飾と分解などを広く内含した概念である。ゲノムの塩基配列に集約された多様な遺伝情報はまさに生命のプログラムである一方、遺伝子が機能的な役割を演じるためにはDNA-RNA-タンパク質の各段階で制御されているのも事実である。しかし、広義のエピジェネティクスと言えども、遺伝子の転写機構に最も力点が置かれており、“regulation through repression”という副題からも、遺伝子発現の抑制を重要視していることは興味深い点である。実際に、1つの細胞を観察してみると、転写状態が活性な遺伝子よりも不活性な遺伝子の方が多いことが知られており、不要な遺伝子発現を抑制することが転写調節としての基本原理の1つであるかもしれない。このように、エピジェネティクスとは遺伝情報を選択的に活用するために、DNAのメチル基修飾、DNA・RNAやタンパク質の多分子間相互作用によって遺伝子が活性化または不活性化される巧妙な仕組みであると理解できる。分子レベルではDNAメチル化酵素、メチル化CpG結合タンパク質、ヒストンアセチル化酵素および脱アセチル化酵素、クロマチン再構築因子、転写調節因子、染色体タンパク質などが共同作業をしている(図1B)。さらに言及すれば、遺伝子機能に直結しなくとも、DNAを基幹とした染色体やクロマチン構造、セントロメアやキネトコア、テロメアの構築も含まれるであろう。転写される遺伝子が存在して活性な伸展構造をとるユークロマチン、転写状態が不活性で凝縮構造のヘテロクロマチンも、エピジェネティクスを形態学的に観察したものである。通常、DNA複製から細胞分裂の過程で親細胞の鋳型DNAのエピジェネティクスは娘細胞に同じ形で継承されなければならないので、DNAメチル化とクロマチンを再構築して維持することが重要なステップになっている(柴原氏の稿)。DNAの生物情報を臨機に活用して、しかも安定に保持するために、ゲノ

ムを修飾・制御するエピジェネティクスは変動している。

DNAメチル化のシステム

1. DNAのメチル化

脊椎動物のゲノムでは、5'-CpG-3'の2塩基配列のシトシンの5位炭素原子がメチル基修飾を受けている。この場合、塩基対を成す3'-GpC-5'のシトシンも同様に対称的にメチル化されており、この2つのメチル基は二本鎖DNAの主溝に突出した立体構造をとっている(白川氏の稿)。ゲノム上のすべてのCpG配列の60~90%がメチル化されており、非メチル化CpGは遺伝子のプロモーター領域のCpGアイランド(CpG island)に主に認められる²⁾。通常、コアのプロモーター部分と転写開始点はCpGアイランドの中の5'側に位置しており、この領域がメチル化されると遺伝子発現は強く抑制される。

DNAのメチル化は、遺伝子転写やクロマチンの形成を介してゲノム機能を可逆的に調節している(佐渡氏、角谷氏の稿)。発生過程でDNAメチル化が動的に変化して細胞の分化能が決定され、分化後の組織特異的な遺伝子発現にもメチル化は重要な働きをしている。ゲノムインプリンティングやX染色体不活性化はエピジェネティックな現象であり、メチル化の重要性が確実視されている。多くの腫瘍でメチル化の異常は癌抑制遺伝子を不活性化したり、ゲノムの不安定性を助長する(豊田氏の稿)。また、ゲノムのメチル化シトシンは脱アミノ化反応でチミンに変化しやすいので、この結果生じたT-G mismatchesが修復されないと遺伝病や癌の遺伝子変異の主要な原因になる。遺伝子治療・研究・産業用の外来遺伝子は宿主細胞内でメチル化を受けて不活性化される。これらの生命現象を解明するためには、以下に述べるDNAメチル化に関わるシステム分子が鍵となる³⁾。

2. DNAメチル化酵素と脱メチル化酵素

哺乳類のDNAメチル化酵素には、維持型メチル化酵素[maintenance methylase, DNA methyltrans-

特集 エピジェネティクス: DNA メチル化とクロマチンの相互作用

ferase (Dnmt1))と新規型メチル化酵素(*de novo* methylase)がある(岡野氏の稿).維持型メチル化酵素は、二本鎖DNAの片方鎖のみがメチル化状態にあるヘミメチル化DNAを基質とする活性が高いので、DNA複製において新規に合成された娘鎖に親鎖と同じパターンでのメチル化修飾を行う。このメチル化活性に加えて、Dnmt1はヒストン脱アセチル化酵素と共に転写を直接抑制することも報告された。一方、最近同定された新規型メチル化酵素(Dnmt3a, Dnmt3b)は、本来メチル化されていないCpG塩基対にメチル基を付加する活性を持っており、新たなメチル化CpGを創造することになる。これは、細胞の発生や分化、腫瘍化の過程でのDNAメチル化の獲得に関与していると考えられる。さらに、*Dnmt3b*が免疫不全、染色体のセントロメアの低メチル化と不安定性、顔貌異常で特徴付けられるICF(immunodeficiency in association with centromere instability of chromosomes 1, 9, and 16 and facial anomalies)症候群の原因遺伝子であることが報告された。

脱メチル化活性については、いまだに不明である⁴⁾。脱メチル化に至るプロセスとして2つの考え方があり、第1はDNA複製の際にメチル化を維持しないために脱メチル化状態に至るという受動的な機構、第2は未同定の脱メチル化酵素(DNA demethylase)で触媒される積極的な機構である。次項のMBD2が脱メチル化活性を持つという報告がなされたが、他の研究室でその結果を再現できてはいない。今後、DNAメチル化のパターンがどのように確立、維持、消去されるのかという根本的な問題が焦点になるであろう。

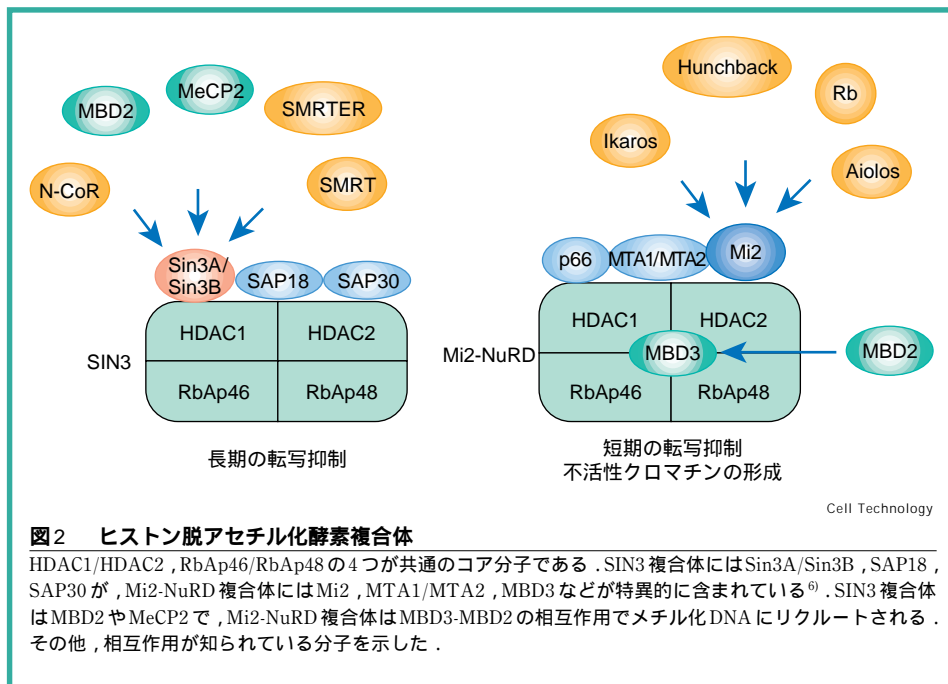
3. メチル化CpG結合タンパク質

DNAメチル化は、複製における鋳型鎖やゲノムインプリンティングにおける親由来を識別する印になったり、メチル化感受性転写因子(E2F, CREB, AP2, cMyc/Myn, NF- κ B, cMyb, ETS)のDNA結合を直接的に阻害することが知られている。一方、Sp1, CTF, YY1のメチル化非感受性転写因子による

転写を阻害するためには、遺伝子プロモーターのメチル化に加えてメチル化CpG結合タンパク質(methyl-CpG binding protein)が必要である。メチル化CpG結合タンパク質にはDNAメチル化のパターンというエピジェネティックな遺伝情報を解読する役割があり、DNAメチル化とヒストンの修飾・クロマチンの相互作用を仲介している(藤田氏、白川氏の稿)。現在、メチル化DNA結合ドメイン(methylated-DNA binding domain; MBD)を持つ5種類のメンバーが知られており、T-Gミスマッチに対するグリコシラーゼ活性でDNA修復に関与するMBD4を除いては、MeCP2, MBD1, MBD2, MBD3は転写抑制に働くと考えられている³⁾。Adrian Bird博士が最初に記載したMeCP1複合体はMBD2を含むことが明らかになり、その構成サブユニットは細胞種で若干異なるようである。ヒト疾患との関連性として、X染色体上に位置する*MeCP2*遺伝子の変異がRett症候群の患者で見い出された。本症候群は、女性の神経発達障害で最も頻度の高い疾患であり、出生後6~18カ月から言語の喪失、自閉症、失調、手揉み動作、発達遅滞が認められる。また、マイクロサテライト不安定性を持つ腫瘍で*MBD4*遺伝子の変異していることも判明した。

クロマチンの変換システム

細胞核内のDNAはタンパク質との複合体の形に折り畳まれており、クロマチン(chromatin)と総称されている。クロマチンの基本ユニットがヌクレオソーム(nucleosome)であり、複数のヒストンとともに構成されている。David Allis博士は、ヒストンのN末端領域の修飾(アセチル化、リン酸化、メチル化、ユビキチン化、ADPリボース化)の組み合わせが遺伝子発現、DNA複製、細胞分裂などのプロセスに影響を与えているという“ヒストンコード(histone code)”という概念を提案している⁵⁾。ヒストンH3の10番目のセリンのリン酸化は分裂期の染色体凝縮や分裂促進剤への初期反応に重要であり、このリン酸化がヒストンアセチル化酵素による近傍



のリジンのアセチル化を促すことも示唆されている。最近, H3特異的なメチル化酵素も同定されており, 9番目のリジンのメチル化はIpl-1/aurora キナーゼによる10番目のセリンのリン酸化を阻害することが判明した。同一ヒストンにおける異なる修飾が相互に関係することが理解できる。さらには, ショウジョウバエの基本転写因子TF Dの主なサブユニットであるTAF 250がヒストンH1のコピキチン化酵素であり, H1のコピキチン化が転写活性化に働くことが報告された。他に注目されることは, PMLボディ/ND10と呼ばれるユニークな核内構造がヒストンのアセチル化酵素や転写因子群に広く影響していることである(表紙の言葉を参照)。この核内ボディに関連した分子群がコピキチン様タンパク質SUMO-1/セントリンで修飾されることが知られている。タンパク質の翻訳後修飾について詳細な情報が得られつつあるが, ここでは, クロマチンの変換システムとしてヒストン脱アセチル化酵素とクロマチン再構築複合体を中心に取り上げる。

1. ヒストン脱アセチル化酵素

ヒストンH3-H4のアセチル化は遺伝子発現を活性化する方向に働いている(伊藤氏の稿)。p300/CBPやPCAFなどの転写コアクチベーターはヒストンアセチル化酵素(histone acetyltransferase; HAT)活性を持ち, 一方, ヒストン脱アセチル化酵素(histone deacetylase; HDAC)は転写コリプレッサー複合体の中で働いている。現在までに, HDAC1/HDAC2を構成分子とする複合体には, SIN3複合体とMi2-NuRD(nucleosome-remodelling histone deacetylase)複合体の2つが知られている^{6), 7)}(図2)。これらの複合体では, HDAC1/HDAC2, RbAp46/RbAp48の4つが共通のコア分子であることに加えて, SIN3複合体にはSin3A/Sin3B, SAP30, SAP18が, Mi2-NuRD複合体にはMi2, MTA1/MTA2, MBD3が特異的に含まれている。SIN3複合体は, 特定の塩基配列を標的とする転写因子やコリプレッサー(Mad-Max, リガンドと未結合の核内ホルモン受容体とN-CoR/SMRT), メチル化CpG結合タンパ

特集 エピジェネティクス：DNAメチル化とクロマチンの相互作用

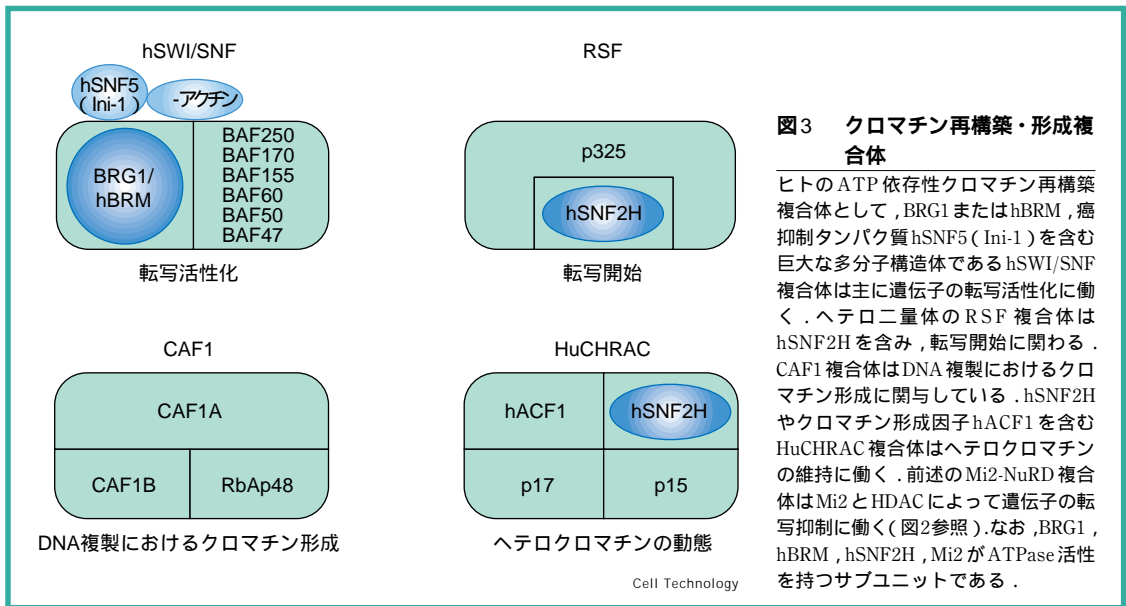


図3 クロマチン再構築・形成複合体

ヒトのATP依存性クロマチン再構築複合体として、BRG1またはhBRM、癌抑制タンパク質hSNF5 (Ini-1)を含む巨大な多分子構造体であるhSWI/SNF複合体は主に遺伝子の転写活性化に働く。ヘテロ二量体のRSF複合体はhSNF2Hを含み、転写開始に関わる。CAF1複合体はDNA複製におけるクロマチン形成に関与している。hSNF2Hやクロマチン形成因子hACF1を含むHuCHRAC複合体はヘテロクロマチンの維持に働く。前述のMi2-NuRD複合体はMi2とHDACによって遺伝子の転写抑制に働く(図2参照)。なお、BRG1、hBRM、hSNF2H、Mi2がATPase活性を持つサブユニットである。

ク質 (MeCP2およびMBD2) を介してクロマチンに作用している。一方、Mi2-NuRD複合体では、構成要素の1つであるMBD3がMBD様配列を有するものの、メチル化DNAへの結合が弱いことが知られている。MBDのNMR構造解析から考えると、MBDの中でメチル化CpG結合に重要なアミノ酸が置換しているためである(白川氏の稿)。MBD3はMBD2と相互作用することで、Mi2-NuRD複合体をメチル化DNAにリクルートすることが示唆されている。このように、DNAメチル化とヒストン脱アセチル化は協調的に転写抑制に関わっている。SIN3複合体が長期の転写抑制に、Mi2-NuRD複合体が短期の転写抑制に働くと言われているが、両者がどのように機能を分担しているのかは興味深い点である。現在、ヒトのヒストン脱アセチル化酵素は、クラス (HDAC1, HDAC2, HDAC3, HDAC8) およびクラス (HDAC4, HDAC5, HDAC6, HDAC7) に大別されており、構造上、酵母のRpd3およびHda1に対応している。新たなクラスとして、酵母Sir2がNAD依存性のヒストン脱アセチル化酵素であることが報告された。

2. クロマチン再構築・形成因子

転写、複製、修復、組換えなどはクロマチンレベルで動的に行われている。クロマチン再構築 (chromatin remodeling) とは、ヌクレオソームの位置やコンフォメーションが変化することで、クロマチンの形成および解除が行われることを意味している。酵母やショウジョウバエでATP依存性のクロマチン再構築複合体が数多く見い出されており、なかでもSWI/SNFファミリーとISWIファミリーが最もよく解析されている(伊藤氏の稿)^{(8), (9)}。ヒトのクロマチン再構築複合体のATPase活性を持つサブユニットとして、SWI/SNFにはBRG1, hBRM, ISWIにはhSNF2L/hSNF2Hが明らかになっている。クロマチン再構築複合体について整理すると(図3)、BRG1またはhBRM、癌抑制タンパク質hSNF5 (Ini-1)を含む巨大な多分子構造体であるhSWI/SNF複合体は主に遺伝子転写の活性化に(不活性化の報告もある)、hSNF2Hを含むヘテロ二量体のRSF複合体は転写開始に関わる。前述のMi2-NuRD複合体はMi2のATPase活性とHDACによって遺伝子の転写抑制に働くことが報告されている(図2)。これらに

表1 エピジェネティクスとヒト疾患・病態

遺伝子 / タンパク質	ヒト疾患および病態
DNAメチル化のシステム	
<i>MeCP2</i> の変異	Rett 症候群
MBD2	大腸癌抗原
<i>MBD4</i> の変異	マイクロサテライト不安定性の癌
<i>Dnmt3b</i> の変異	ICF 症候群
エピジェネティックに制御される遺伝子	
<i>FMR-1</i> の不活性化	脆弱X精神遅滞
<i>IGF2</i> の両アレル発現	Wilms 腫瘍
インプリンティング遺伝子の不活性化	Prader-Willi および Angelman 症候群, Beckwith-Wiedemann 症候群
癌抑制遺伝子の不活性化	多くの腫瘍
X不活性化センター (<i>Xist</i>) の不活性化	X連鎖性遺伝子の機能的ダイソミー
ヒストンのアセチル化酵素	
<i>CBP</i> の変異	Rubinstein-Taybi 症候群
<i>p300</i> の変異	胃癌, 大腸癌, 悪性脳腫瘍
<i>MOZ-CBP</i> 転座融合	急性骨髄性白血病
<i>MLL-CBP</i> 転座融合	いくつかの白血病
ヒストンの修飾	
ヒストンH3のリン酸化障害 (<i>RSK-2</i> の変異)	Coffin-Lowry 症候群
クロマチン再構築のシステム	
Mi2	皮膚筋炎の自己抗体の抗原
MTA1	癌の転移能
<i>hSNF5 (Ini-1)</i> の変異	Rhabdoid 腫瘍
<i>BRG1</i> の変異	腫瘍細胞
細胞の増殖分化因子	
<i>PML-RAR</i> 転座融合	急性前骨髄性白血病

加えて, hSNF2H やクロマチン形成因子の hACF1 を含む HuCHRAC 複合体はヘテロクロマチンの複製と維持に働いていると考えられる。これにトポイソメラーゼが含まれる可能性が指摘されている。DNA複製に連動したクロマチン形成複合体として CAF1 複合体がヌクレオソーム形成とクロマチンの維持に関与している(柴原氏の稿)。最近, シロイヌナズナの変異体の解析から, DDM1 と呼ばれるクロマチン再構築因子の遺伝子変異によってゲノムのメチル化が維持できないことが報告された。すなわち, DDM1 がDNAメチル化酵素の作用に必要であることを示唆している(角谷氏の稿)。

おわりに

遺伝情報という“ことば”は, クロマチンという“かたち”で支えられている。エピジェネティクスはゲノムに“動き”を与える生体内システムであり, DNAを場とした生命活動のすべてに関わると言っても過言ではない。体細胞では複製後のDNAは速やかにメチル基修飾を受けて, メチル化 CpG 結合タンパク質がそのパターンを認識する。そこには, ヒストン修飾酵素, クロマチン再構築因子, 転写調節因子, polycomb 群などの染色体タンパク質が多数参入することで, エピジェネティクスが維持されている。配

特集 エピジェネティクス: DNA メチル化とクロマチンの相互作用

偶子形成から初期発生においては、全ゲノム的に DNAメチル化とクロマチンをダイナミックに再建している。このようなグローバルな役割に加えて、1つの染色体、染色体上の機能ドメイン、特定の遺伝子を単位としたローカルなエピジェネティクスもまた重要な意義を持っている。本稿を終えるに当たって、DNAメチル化、クロマチン、ヒストンなどのタンパク質修飾、数多くの生命現象の相関性を1つずつ整理して、エピジェネティクスの全容を理解することが当面の課題であることを強調したい(図1A)。し

かも、エピジェネティクスに関連したヒトの疾患の報告が増えていることは、本特集で取り上げた分子群や複合体が新しい治療や薬剤開発の標的となりうることを示している(表1)。実際に、HDAC阻害剤は抗癌作用の有力な候補薬剤となっている。ポストゲノムとしてのエピジェネティクス研究は、生物の遺伝子活用についての基本原理を解明するという生命科学の重要な領域を担っている。その普遍性を鑑みると、領域を超えて多くの研究者を必ずや魅了できるであろうと期待する。

■ 文献 ■

- 1) Wolffe AP, et al: Science (1999) 286: 481-486
- 2) Ng HH, et al: Curr Opin Genet Dev (1999) 9: 158-163
- 3) Bird AP, et al: Cell (1999) 99: 451-454
- 4) Wolffe AP, et al: Proc Natl Acad Sci USA (1999) 96: 5894-5896
- 5) Strahl BD, et al: Nature (2000) 403: 41-45
- 6) Ahringer J: Trends Genet (2000) 16: 351-356
- 7) Knoepfler PS, et al: Cell (1999) 99: 447-450
- 8) Kingston RE, et al: Genes Dev (1999) 13: 2339-2352
- 9) Workman JL, et al: Annu Rev Biochem (1998) 67: 545-579

For Beginners

- “**Epigenetics: Regulation Through Repression**” Wolffe AP, et al: Science 286, 481-486 (1999)
- “**Methylation-Induced Repression-Belts, Braces, and Chromatin**” Bird AP, et al: Cell 99, 451-454 (1999)
- “**Signaling to Chromatin Through Histone Modifications**” Cheung P, et al: Cell 103, 263-271 (2000)
- “**ATP-dependent Remodeling and Acetylation as Regulators of Chromatin Fluidity**” Kingston RE, et al: Genes Dev 13, 2339-2352 (1999)