

総説

エピジェネティクス動態

—環境の変化や刺激に応答して変化する細胞記憶—

上田 潤¹⁾

¹⁾ 中部大学・実験動物教育研究センター

要 旨

遺伝情報そのものは変化させずに、細胞固有の形質を細胞分裂後も安定に維持させる現象をエピジェネティクスと呼ぶ。長年エピジェネティクスは安定なものであると考えられてきたが、近年の研究からエピジェネティクスが環境の変化や刺激に応答してダイナミックに変化し得ることが明らかとなってきた。本総説ではエピジェネティクス動態に関する最近の知見を概説する。

1. はじめに

我々の体を構成する細胞は同じ遺伝情報を保有するが、胚発生の過程で、全く異なる機能を持つ細胞へと分化する。この過程で遺伝情報そのものは変化させずに、個々の細胞にとって必要な遺伝子の転写の活性は維持され、不要な遺伝子の発現は抑制される。そして一旦確立あるいは刷り込まれた細胞固有の形質は、細胞分裂を越えて安定に維持される。この事象はエピジェネティクス(epigenetics)または細胞記憶と呼ばれ、DNA のメチル化修飾、ヒストンの化学修飾(メチル化、アセチル化など)が重要な役割を果たす。

エピジェネティクス研究が本格化した西暦 2000 年頃は、エピジェネティクスは極めて安定なものであると考えられてきた。ところが、近年の研究からエピジェネティクス及びクロマチン構造が環境の変化や刺激に応答してダイナミックに変化することが明らかとなっており、新たなリサーチ・トピックスとして大きな注目を集めている。本稿ではこの分野の最近の動向について概説する。

2. エピジェネティクスの実体

遺伝情報をコードする長大なゲノム DNA (ヒトの場合は約 1.8 メートル)はヒストンと呼ばれる塩基性の蛋白質に巻き付く形で、直径数十マイクロメートルの細胞核内に規則正しく折り畳まれ、収納されている。DNA とヒストン蛋白質などの複合体はクロマチンと呼ばれ、その最小単

位はヌクレオソームである。

受精卵、着床前の初期胚や多能性幹細胞と呼ばれる ES (embryonic stem : 胚性幹) 細胞や iPS (induced pluripotent stem : 人工多能性幹) 細胞の核は緩く、開いた構造(オープンクロマチンまたはユークロマチン)を持つことが知られており、どの遺伝子も使える状態にある(1)。ところが、これらの細胞が分化すると、ゲノムで使われない遺伝子を含む領域は凝縮し、ヘテロクロマチンと呼ばれる高次構造を形成する。そして一旦形成されたヘテロクロマチン構造は、細胞分裂後も維持される。

前述したヒストン蛋白質は様々な翻訳後修飾を受けることが知られており、これらがクロマチンの高次構造形成に影響を与えている。例えば、ヒストンのリジン残基のアセチル化修飾は正電荷を付与することによって、クロマチン構造を弛緩させ、ヒストンの特定のリジン残基のメチル化修飾はクロマチンの凝縮に寄与している(2)。

エピジェネティクスを司る酵素はその反応に代謝中間体や代謝産物を用いる。例えば、ヒストンアセチル化酵素はアセチル CoA を補酵素として使用し、ヒストンのリジンメチル化酵素や DNA のメチル化酵素は S-アデノシルメチオニンを使用する。このことから、代謝物の変化によってエピジェネティクスが変わることが予想されていたが、旧来の実験手法(ウェスタンブロットや免疫染色など)では、サンプルを固定したり、多数のサンプルの平均を扱ったりすることから、エピジェネティクスの動態を十分に

捉えることができていなかった。ところが、次世代シーケンサーやライブセルイメージング技術の急速な進展により、エピジェネティクスの変動過程を詳細に追跡できるようになってきた。

3. 低酸素とエピジェネティクス

我々を含む好氣的生物は、酸素を消費して生命活動を維持している。このため、これらの生物では環境中の酸素濃度の変化を敏感に感知するメカニズムを備えている。低酸素応答で中心的な役割を果たし、転写因子として機能する HIF1 α (hypoxia-inducible factor 1 α) は通常の酸素分圧ではユビキチン-プロテアソーム系によって速やかに分解されるが、環境中の酸素濃度が低下し、低酸素状態になると、HIF 蛋白質が安定化し、低酸素応答に必要な遺伝子群 (血管新生や解糖系など) の発現を上昇させる(3)。実は HIF の標的遺伝子の中に、エピジェネティクス制御に関わる因子が多数含まれていることが次世代シーケンサーとクロマチン免疫沈降法を組み合わせた「ChIP-seq 法」などによって明らかとなってきた(4)。その中にはヒストンのリジン残基の脱メチル化酵素があり、興味深いことにその酵素活性には α -ケトグルタル酸 (α -KG)、鉄イオン、酸素を必要とする。何故、酸素を必要とする酵素が低酸素時に活性化されるのか定かではないが、筆者を含めたいくつかのグループがヒストンリジン脱メチル化酵素の低酸素応答時での役割を明らかにし、これと HIF1 α とが協同して低酸素応答に必要な遺伝子群を調節していることが明らかとなった(5, 6)。再曝気 (reoxygenation) 後、低酸素時に形成されたエピジェネティックな変化が維持されているか否かは興味深いところであるが、今後の研究課題となるであろう。

4. 癌代謝物とエピジェネティクス

癌細胞は正常細胞とは異なる代謝経路を使うことが古くから知られており、有酸素下でもミトコンドリアの酸化的リン酸化ではなく、解糖系でアデノシン三リン酸 (ATP) を産生することでエネルギーを得る。これは Otto Warburg 博士が観察した現象で、Warburg 効果 (好氣的解糖) としてよく知られている。近年、癌の代謝が再び大きな注目を集めており、癌細胞特有の代謝物 (癌代謝物:

oncometabolite) がエピジェネティックな異常を引き起こしていることが明らかとなってきた。

代謝酵素であるイソクエン酸デヒドロゲナーゼ遺伝子 (IDH1 および IDH2) の変異がグリオーマ (神経膠腫) や急性骨髄性白血病 (AML) などの悪性腫瘍で見付かっている。IDH1/2 はイソクエン酸と α -KG を相互に変換するが、IDH1/2 の変異体では α -KG を 2-ヒドロキシグルタル酸 (2-HG) へと変換する(7)。2-HG は α -KG の構造的アナログであり、 α -KG を補酵素として利用する酵素の機能を阻害する。興味深いことに α -KG 依存的酵素には先述のヒストン脱メチル化酵素以外に、HIF をヒドロキシル化して分解あるいは不活化する PHD (prolyl hydroxylase) や FIH-1 (factor inhibiting HIF-1)、DNA の脱メチル化に関与する TET (Ten-Eleven Translocation) ファミリー蛋白質が含まれている。このことから 2-HG が産生されている癌細胞においては、HIF 蛋白質の発現が上昇しているのみならず、エピジェネティックな変化が誘導されていることが考えられ、既にそのような報告がなされている(8, 9)。

5. エピジェネティクスを可視化する試み

ChIP-seq 法の開発によって、エピジェネティクス研究は飛躍的に進展したが、エピジェネティクスを可視化して、生細胞でその変動過程を追跡する試みはまだ始まったばかりであり、今後重要な研究領域になるものと考えている。

東京工業大学の木村宏博士らのグループは、抗体の Fab 断片を蛍光ラベルした FabLEM 法によってヒストンの翻訳後修飾を生細胞で可視化することに成功している(10)。さらに同グループは、この Fab 領域を cDNA 化することに成功して、これによってヒストンの翻訳後修飾を生きた個体 (ショウジョウバエやゼブラフィッシュ) で長期間可視化することに成功した(11)。

一方、筆者と近畿大学の山縣一夫博士らはメチル化 DNA をマウスの全身で可視化することに成功した(12)。メチル化 DNA はヘテロクロマチンに集積しており、これを免疫染色する場合は、サンプルを固定した後に酸またはアルカリ処理によってクロマチンをほぐさなければならなかった。しかしこのマウスを用いると、今まで観察の難

しかったメチル化 DNA の変化を容易に追跡できる。我々はこのマウスより採取した細胞を用いて細胞分化過程のタイムラプスイメージングを行ったところ、分化に伴って、細胞分裂非依存的にヘテロクロマチン構造が形成されることを明らかにした(図 1)。

今後、これらのエピジェネティクス・レポーター・モデル生物を活用することで、発生・分化過程ひいては癌化などの病態進行過程のエピジェネティックの動態解析が可能となるものと考えている。

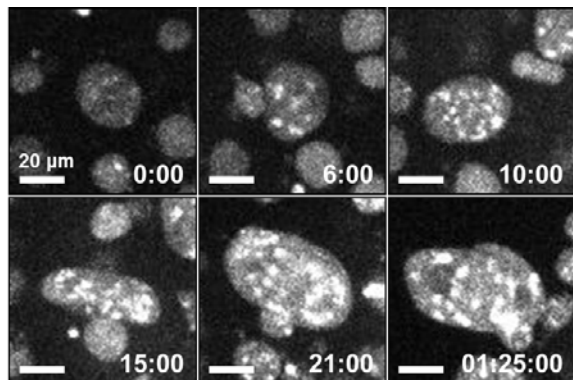


図 1. 細胞が分化する過程でのメチル化 DNA の変化を捉えた画像(文献(12)より改変)。

6. おわりに

エピジェネティクスが環境の変化や刺激に応答してダイナミックに変化し得ることが明らかになってきて、この分野の研究者コミュニティの間でもこのことが受容されるようになってきた。しかし、ここで一つの大きな疑問が生じる。それは、「エピジェネティクスがダイナミックに変化しては、細胞記憶として成り立つのか？」というものである。この点について筆者は、生殖細胞や幹細胞などの可塑性のある特定の細胞集団や胚発生のある特定の時期の細胞のエピジェネティクスはダイナミックに変化し得るが、大部分の細胞においては、エピジェネティクスは頑強(robust)であると考えている。特に、雄性生殖細胞は食餌によって性質が変わることが報告されていることから(13)、環境の変化を受けてエピジェネティクスが変わりやすいことが考えられる。今後はどのような細胞が環境や刺激の変化に対して応答し、エピジェネティクスを変化させるのが重要な研究課題となるものと考えられる。

引用文献

1. E. Meshorer *et al.*, Hyperdynamic plasticity of chromatin proteins in pluripotent embryonic stem cells. *Dev Cell* **10**, 105-116 (2006).
2. T. Jenuwein, C. D. Allis, Translating the histone code. *Science* **293**, 1074-1080 (2001).
3. U. Lendahl, K. L. Lee, H. Yang, L. Poellinger, Generating specificity and diversity in the transcriptional response to hypoxia. *Nat Rev Genet* **10**, 821-832 (2009).
4. X. Xia *et al.*, Integrative analysis of HIF binding and transactivation reveals its role in maintaining histone methylation homeostasis. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**, 4260-4265 (2009).
5. J. Ueda *et al.*, The hypoxia-inducible epigenetic regulators Jmjd1a and G9a provide a mechanistic link between angiogenesis and tumor growth. *Mol Cell Biol* **34**, 3702-3720 (2014).
6. I. Mimura *et al.*, Dynamic change of chromatin conformation in response to hypoxia enhances the expression of GLUT3 (SLC2A3) by cooperative interaction of hypoxia-inducible factor 1 and KDM3A. *Mol Cell Biol* **32**, 3018-3032 (2012).
7. L. Dang *et al.*, Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. *Nature* **462**, 739-744 (2009).
8. C. Lu *et al.*, IDH mutation impairs histone demethylation and results in a block to cell differentiation. *Nature* **483**, 474-478 (2012).
9. M. E. Figueroa *et al.*, Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation. *Cancer Cell* **18**, 553-567 (2010).
10. Y. Hayashi-Takanaka *et al.*, Tracking epigenetic histone modifications in single cells using Fab-based live endogenous modification labeling. *Nucleic Acids Res* **39**, 6475-6488 (2011).
11. Y. Sato *et al.*, Genetically encoded system to track histone modification in vivo. *Sci Rep* **3**, 2436 (2013).

12. J. Ueda *et al.*, Heterochromatin dynamics during the differentiation process revealed by the DNA methylation reporter mouse, MethylRO. *Stem Cell Reports* **2**, 910-924 (2014).
13. A. Ost *et al.*, Paternal diet defines offspring chromatin state and intergenerational obesity. *Cell* **159**, 1352-1364 (2014).

Title: Epigenetic dynamics: Cellular memories that respond dynamically to environmental changes and stimuli.

Author: Jun Ueda ¹⁾

Address: ¹⁾ Center for Education in Laboratory Animal Research, Chubu University, 1200 Matsumoto-cho, Kasugai, Aichi 487-8501, Japan.

Keywords: Epigenetic dynamics, Hypoxia, Heterochromatin, Oncometabolite