

TECHNO CURRENT

エピジェネティクス—ポストゲノム時代の挑戦

中山潤一

DNA 配列の変化だけでは説明できない遺伝現象によって注目されてきた研究

エピジェネティクス(epigenetics)とは、遺伝学(genetics)に epi-(後の、後成の)という接頭語が着いてできた言葉である。この epigenetics という言葉の歴史は古く、遺伝子の実体が DNA である事が明らかにされるよりも以前の 1940 年代に、発生生物学者である Waddington がこの言葉を最初に用いたことが知られている。面白いことに、彼が最初にこの言葉を用いたとき、この言葉は「一個の受精卵が様々な組織から成る個体を作り上げるまでの発生の過程と、それを制御する様々な遺伝子の働きのネットワーク」という発生生物学的な意味で用いられており、後述するように現在の epigenetics の定義とは大きく異なるものであった。Waddington が epigenetics という言葉を用いてから約 50 年の間、一部の研究者が発生生物学との関連で用いることがあったが、この言葉が大きく注目されることは無かった。しかし、1980 年代後半から 1990 年

初頭にかけて、この epigenetics という言葉は、その定義の変遷と共に、広く分子生物学者の間で注目されるようになってきたのである。その背景には、多くの分子生物学者が遺伝子、つまり DNA の研究を進め、様々な生命現象が DNA 配列の変化として説明できるようになる一方、それ以上に、DNA 配列の変化だけでは説明できない遺伝現象の存在が顕著になってきたという事実がある。最も典型的な例として、ヒトの体は 200 種類以上の細胞で構成されていることが知られているが、個々の細胞が有する DNA は、免疫細胞等の特殊な例を除いて全く同じである。しかし、発生の過程で個々の細胞は特殊な細胞の形質を「確立」し、その後の細胞分裂を通じていったん確立した形質を「維持」しているのである。個々の細胞が同じように DNA を使い、同じような遺伝子のセットを使っていたのでは、このような細胞ごとの性質の違いを生み出すことはできない。つまり、DNA 配列の存在だけでは、細胞や個体の形質を規定する事は不可能であり、いか

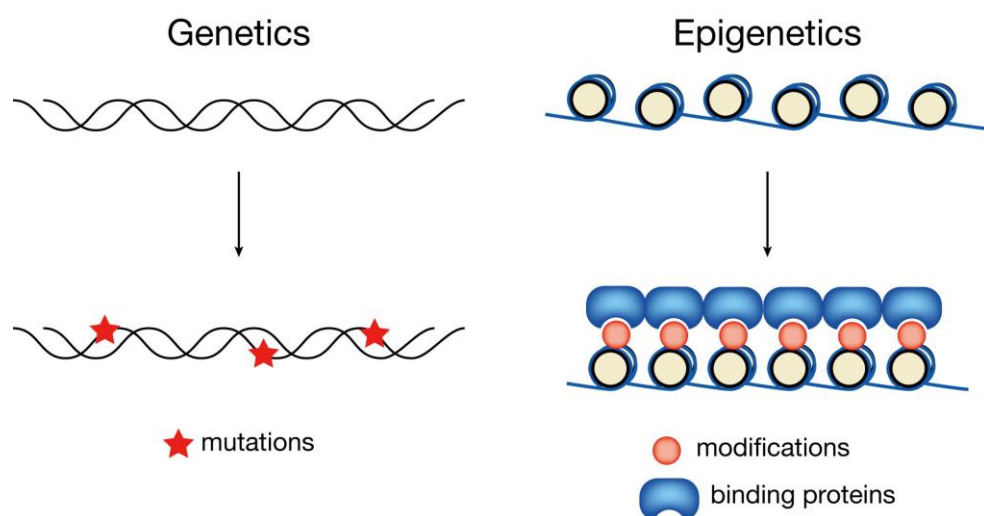


図1. Genetics と Epigenetics

Genetics (遺伝学) では、DNA 配列の変化 (mutations) が細胞間、あるいは世代を通じて伝播される。エピジェネティクスでは、DNA 自身の修飾 (modifications) や DNA を取り巻くクロマチン構造の変換によって遺伝子発現状態が調節され、その状態が細胞間、あるいは世代を通じて維持される。

に DNA 配列に書き込まれた遺伝子の発現の調節、つまりオンとオフの制御をするかという、一段階上の制御の関与が明らかになってきたのである。実際に多くの研究者が、DNA 配列の変化だけでは説明できない生命現象の解明に取り組み始めたとき、この epigenetics という概念が注目されてきた。現在この epigenetics という言葉は、「DNA 配列の変化では説明できない、有糸分裂 (mitosis)、あるいは減数分裂 (meiosis) を通じて伝えられる遺伝子機能の変化とその研究」と定義されている(図1)。一見するとこの定義の中に、Waddington が最初に意図した発生生物学的側面は薄れてしまったかのように見える。しかし、言葉の定義は時代と共に変遷するものであり、この現象の分子レベルの理解は、発生生物学全体の理解につながるものと考えられる。

エピジェネティクスが関与する生命現象1:発生

エピジェネティクスが関わる現象は、様々な生物種で観察されており、その分子メカニズムの理解に向けて、酵母、線虫、植物、ハエ、マウス等のモデル生物を通じて精力的に進められている。上述のように、個々の細胞が持つ特徴がいかに生み出されるのかは、大きなエピジェネティクスの課題であるが、これ以外にもエピジェネティクスが関与する、代表的な現象をいくつか紹介したい。まず、遺伝子が特別な染色体領域に置かれた場合、その遺伝子発現が抑制されるという現象が古くから知られている。酵母の「遺伝子サイレンシング」、またショウジョウバエの「位置効果」と呼ばれる現象である。これらの現象は、高度に凝縮した染色体構造が、遺伝子領域まで及ぶことによって起こる現象と考えられており、ヒトなど高等真核生物において、発生段階特異的な遺伝子の発現をオフにする際にも、同様の機構が働いていることが明らかにされてきている。また、ヒトなどの哺乳類動物細胞では、両親から受け継いだ1セットの遺伝子のうち、一方だけが発現し、もう一方が全く発現していない遺伝子座が多数存在している。この現象は、ゲノムインプリンティング(刷り込み)と呼ばれ、片方だけの発現が正常な発生に必要なことから、その分子メカニズムの解明は、エピジェネティクス研究の中心的な課題の一つとなっている。このような遺伝子レベルの現象に加えて、染色体全体におよぶエピジェネティックな現象も存在する。哺乳類では

雌雄の性が存在し、一組の性染色体が雌では XX、雄では XY となっている。面白いことに、細胞にとって大事な遺伝子のほとんどは X 染色体上に存在し、雌の細胞では発生の過程で2本ある X 染色体のうち、一方を高度に凝縮した不活性な状態に変えてしまう。この現象は「X 染色体不活性化」と呼ばれ、少なくとも哺乳類細胞では、不活性化される X 染色体はランダムに選択される。この現象については、不活性化の分子メカニズムだけでなく、どのように一方の染色体が選ばれるのか、その機構の詳細が精力的に研究されている。

エピジェネティクスが関与する生命現象2:がん化・老化・再生医療

これらの研究は、モデル生物を通じて正常な個体の発生までに関わるエピジェネティックな現象の解明を目指すものであるが、エピジェネティックな現象は我々ヒト細胞のがん化や老化、あるいは再生医療にも深く関与している。これまでのがんに対する多くの研究によって、細胞ががん化する際に重要な役割を果たす因子が数多く同定され、その遺伝子の変異ががん化の主たる要因であることが明らかにされてきた。しかし、細胞ががん化するまでの過程が、単純に一遺伝子の変異だけで説明できることは希であり、多くの場合、原因となる遺伝子の変異に加えて、DNA 配列の変化を伴わないエピジェネティックな変化の蓄積が、細胞の形質変化に大きな役割を果たすことが明らかにされてきている。また、ヒトの正常な細胞を取り出して培養を続けると、約50回の分裂の後にそれ以上増殖をしなくなることが知られている。この現象は「細胞老化」と呼ばれ、細胞のがん化を抑制する機構と深い関与が示唆されている。この細胞老化は、DNA 配列上の変化とは別の不可逆的な変化が蓄積することで起きる、やはり典型的なエピジェネティック現象と考えられている。さらに医療的な応用への期待から、近年胚性幹細胞(ES 細胞)や体細胞クローンの研究が盛んに進められている。これらの研究の推進する上で重要な問題が、未分化な細胞と分化した細胞でいったい何が異なっているのか、という疑問である。もちろん DNA 自体の配列に違いはなく、エピジェネティックな変化の蓄積が、両者の違いを生み出しており、その違いを理解することが、医療的な応用へのブレークスルーになることは間違いない

いであろう。

このように、エピジェネティクス研究の中心は、DNA 配列の変化を伴わない遺伝子発現の変化と細胞機能に関わるものであるが、もっと大きな個体レベルの変化にも深く関わる学問でもある。例えば一卵性双生児は受精卵の段階では全く同じ (identical な) 存在であるが、成長の過程で多くの違いが現れてくる。この違いの多くは遺伝子発現レベルの違いと言うよりはむしろ、環境的な獲得要因が大きな役割を占めると考えられる。しかし、個々の遺伝子発現を司るエピジェネティックな変化の蓄積が、細胞機能の小さな変化や多様性を生み出し、この変化の総体が個体レベルの差を生み出している事も十分考えられる。さらに広い観点から考えると、我々個体の生物学的な特徴ばかりでなく、個性という遺伝子発現からは大きく離れた表現型も、環境要因とエピジェネティックな変化とのバランスによって形成されていると考えることも出来るのではなかろうか。したがって、エピジェネティックな現象の理解を目指した研究は、様々な学問分野につながる可能性を秘めた学問と考えられる。

エピジェネティクスの分子メカニズム1:DNA のメチル化

近年の解析によって、エピジェネティックな現象の分子メカニズムが徐々に解明されてきた。この現象につながる重要な分子メカニズムの一つが、DNA 自身のメチル化修飾である(図2)。私達のゲノム DNA は、アデニン(A)、チミン(T)、シトシン(C)、グアニン(G)という4種類の塩基によって遺伝情報が記録されている。このうち一部のシトシンには、特徴的なメチル化修飾が存在し、特にヒト

など高等哺乳類の場合、CG という並びのシトシンがメチル化されている。重要な事として、このメチル化修飾は相補的なDNA 鎖にも存在し、細胞分裂に伴うDNA 複製においても正確に維持されるのである。つまり、シトシンのメチル化の有無は、ATCGという4つの塩基からなる遺伝情報を、いつどのように読み出すかを規定する付加的なコードになりうるという事実である。実際にこのメチル化修飾は遺伝子の上流に特徴的に存在し、多くの場合メチル化の存在は遺伝子発現を負に制御するマークとして機能している。またこのメチル化修飾は、先に述べたインプリンティングにおいても、雄と雌由来の遺伝子座の違いを規定する重要なマークとして働いている。このメチル化がどのように遺伝子発現を負に制御するかについて、近年その分子メカニズムの解明が進んでいる。代表的な機構としては、シトシンメチル化を認識する結合蛋白質が、後述するクロマチンの構造変換をもたらす因子を呼び寄せ、結果として遺伝子の発現を負に調節するというものである。

興味深いこととして、DNA のメチル化はヒトなど高等真核生物や植物には存在するが、酵母など単純な真核生物には存在しない。しかし、大腸菌などの原核生物はメチル化修飾を有しているものが多い。大腸菌など原核生物において、DNA のメチル化はホストのゲノム DNA と細胞外からの遺伝物質を見分ける、つまりホストゲノムを防御するための働きが主であり、遺伝子の発現調節には大きく寄与していないと考えられている。実際にヒトなどの高等真核細胞でも、外から侵入したウィルス DNA が特異的にメチル化される事が知られていることから、本来ゲノム DNA の防御機構として使われていた機構が、後に遺伝子発現を規定するマークとして用いられるようにな

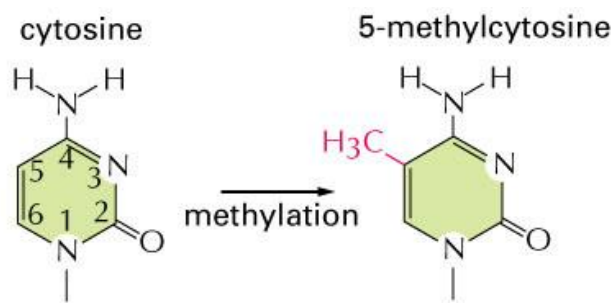


図2. シトシンのメチル化

DNA を構成する塩基のうち、シトシンは5位に特異的なメチル化修飾を受ける。この修飾は細胞分裂を通じて維持されるため、DNA 塩基配列だけでは規定されない、重要なエピジェネティックマークと考えられている(図は、Molecular Biology of the Cell, 4th Edition, Figure 7-80 からの転載)。

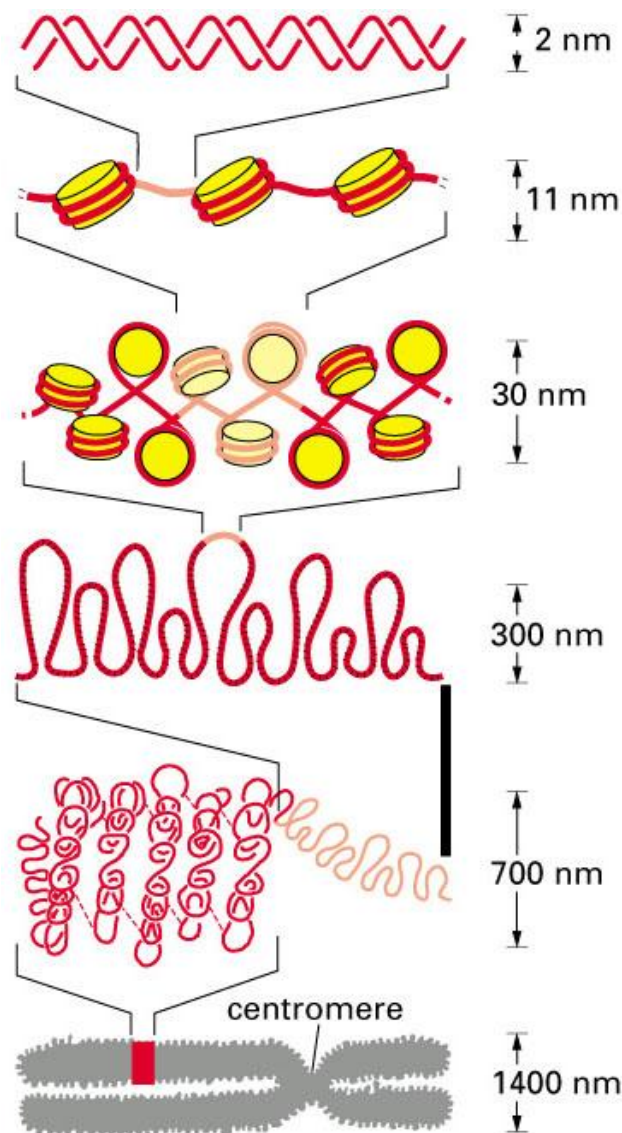


図3. DNA の段階的凝縮とヌクレオソーム構造

DNA はヒストンと呼ばれる塩基性のタンパク質の八量体に巻き取られ、ヌクレオソームと呼ばれる構造になる。このヌクレオソーム構造がさらに折りたたまれて、高度に凝縮したクロマチン構造、そして染色体が形成される(図は、Molecular Biology of the Cell, 4th Edition, Figure 4-55 からの転載)。

った、というのが現在高等真核生物で見られるメチル化ではないかと考えられている。

エピジェネティクスの分子メカニズム2:クロマチン構造とヒストン

エピジェネティクスの分子機構を理解するうえで、次に重要な点はゲノム DNA を取り巻く環境である。真核細胞のゲノム DNA は裸の状態で存在するのではなく、クロマチンと呼ばれる様々なタンパク質との複合体として存在している。このクロマチン構造の基本単位がヌクレオソーム

ムと呼ばれる構造であり、DNA はこのヌクレオソームというユニットに巻き付けられた状態で収納されている(図3)。このヌクレオソーム構造は、ゲノム DNA をコンパクトに収納するには非常に効率的な構造であるが、いざ遺伝子を発現する(オンにする)場合には、むしろ阻害的に働く構造である。したがって、このヌクレオソームを単位とするクロマチン構造を、強固に凝縮させれば遺伝子抑制状態を維持させることが可能であり、反対にこのクロマチン構造を弛緩させると、安定な遺伝子発現が維持されるのである。

それではいったいこのクロマチン構造の変換は、どの

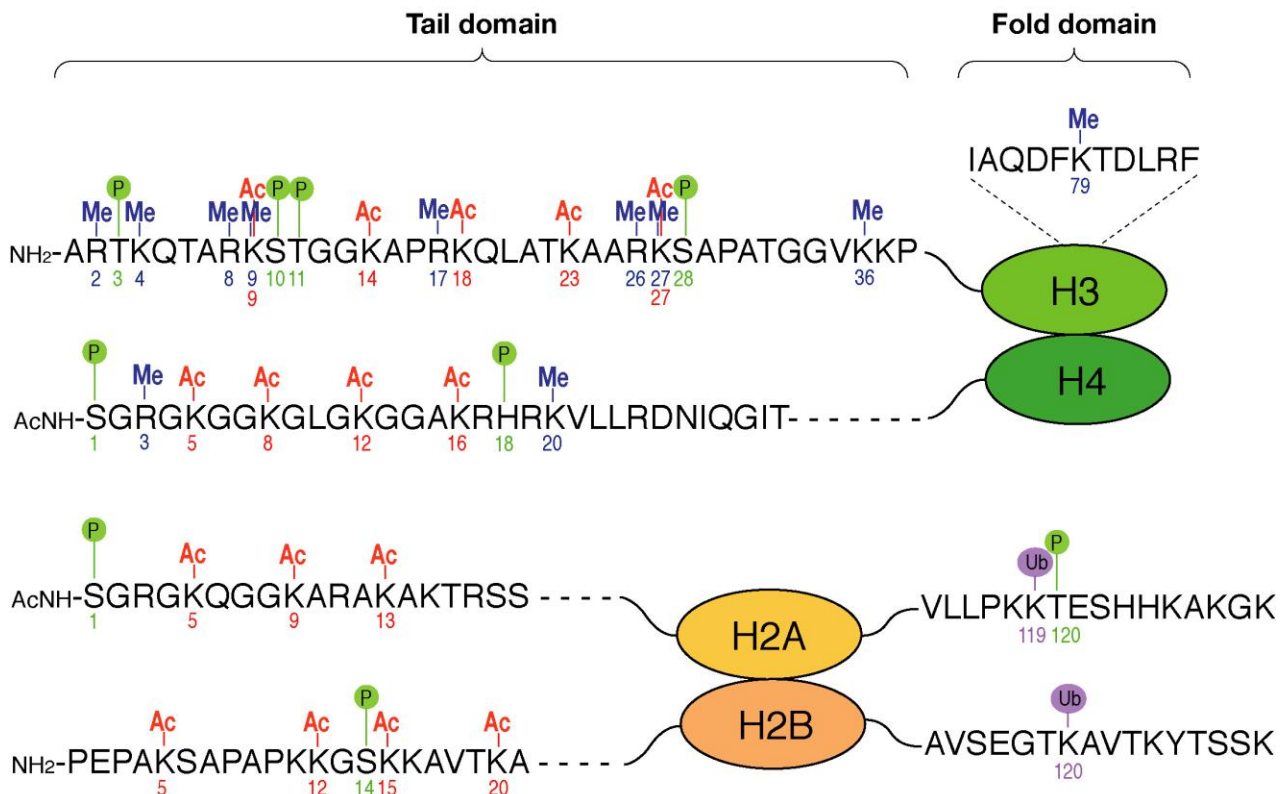


図4. 様々なヒストンの翻訳後修飾

ヌクレオソームを構成するヒストンは H2A, H2B, H3, H4 の4種類から構成され、それぞれ DNA を巻き付けるために必要なフォールドドメイン (fold domain) とそこから飛び出したテールドメイン (tail domain) から構成される。このテールドメインは、アセチル化 (Ac)、メチル化 (Me)、リン酸化 (P)、ユビキチン化 (Ub) 等様々な翻訳後修飾を受け、それぞれの修飾が異なるエピジェネティック情報のマークとして働いていると考えられている。

ような分子メカニズムで制御されているのか？その重要な鍵を握るのがヒストンと呼ばれるタンパク質の修飾と、その修飾を認識して結合するタンパク質の存在である (図1)。クロマチンの基本単位であるヌクレオソームは、H2A, H2B, H3, H4 と名付けられた4種類のヒストンが2個ずつ組み合わさった八量体によって形成され、DNA はこのヒストンの周囲に巻き付いた構造をとる。それぞれのヒストンには、DNA を巻き付けるために必要なドメインに加えて、DNA の巻き取りには寄与しない「テイル」と呼ばれる部分が存在し、このテイル部分のアミノ酸は、アセチル化、リン酸化、メチル化、ユビキチン化など、様々な翻訳後修飾を受けることが知られている (図4)。これらの修飾は、それ自体でテイル領域の電荷を変化させることで、テイル領域と DNA との相互作用の強める、あるいは反対に弱めるという機能を果たし、クロマチンの凝縮・弛緩を制御すると考えられている。またこのような修飾自体

の働きに加えて、それぞれの修飾が加わった場合に特異的に結合するタンパク質が存在し、このような結合蛋白質の働きによって、クロマチン構造全体のダイナミックな構造変換を引き起こし、その結果として遺伝子発現の調節が行われている (図1)。興味深いこととして、これら個々のヒストンの修飾はそれぞれ、遺伝子発現の活性化、あるいは不活性化状態と良く相関することから、遺伝情報がゲノム DNA にコードされているように、遺伝子の発現状態を規定するコードが、実は修飾のパターンとしてヒストンにコードされているとする概念、「ヒストンコード仮説」が提唱されている。確かに多くの実験結果はこの説を支持するものではあるが、どの程度このコードが厳密なものであり、また普遍的に機能するものかについては、今後の詳細な解析によって検証されることが考えられる。

先に述べた DNA のメチル化は、DNA 複製とカップルして細胞分裂を通じても維持されることが明らかにされて

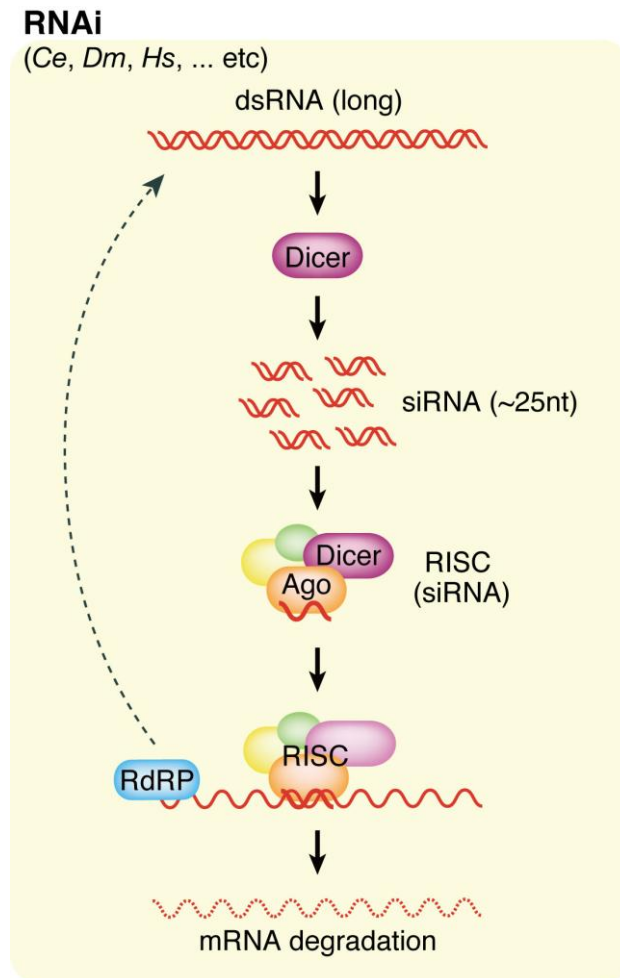


図5. RNA 干渉

細胞内に二本鎖の RNA (dsRNA) が存在すると、Dicer と呼ばれる酵素によって短い siRNA に分断され、このうちの一本鎖が Agonaute (Ago) と呼ばれる因子を含む RISC 複合体に取り込まれる。この siRNA を取り込んだ RISC 複合体は、siRNA と相補的な RNA の分解、あるいは翻訳抑制を行うことで、遺伝子の特異的な抑制を行う。一部の生物種では、このシグナルは RNA 依存 RNA ポリメラーゼ (RdRP) によって増強される。

いるが、ヒストンの修飾はどのように細胞分裂を通じていじされているのであろうか。DNA が複製されると、ヌクレオソームは半分になってしまうため、新規にヌクレオソームを形成するために新たに合成されたヒストンが取り込まれる。この新らしく取り込まれたヒストンに既存の修飾が入ることが、エピジェネティックな遺伝子発現の維持に必要な過程であるが、実際の分子機構の詳細はまだ明らかにされていない。これは今後明らかにされる重要な課題と考えられる。

エピジェネティクスの分子メカニズム3: RNA 干渉

これまで、エピジェネティックな現象を説明する分子機

構として、DNA のメチル化とクロマチンの構造変換を概説した。どちらも遺伝子の転写制御に関わる重要な機構であるが、近年このような遺伝子発現段階の制御ではなく、転写後の制御を介してエピジェネティックな現象を引き起こす、RNA 干渉 (RNAi) と呼ばれる機構が注目されている。RNAi は、二本鎖 RNA の導入によってその RNA と相補的な mRNA の分解、あるいは翻訳抑制が起こる現象である (図5)。植物では古くから観察されていた現象であり、1990 年代後半に線虫を用いた研究でその分子メカニズムの詳細が解明され、昨年 Fire、Mello 両博士がノーベル賞を受賞したことで有名な現象である。この RNAi が関与するエピジェネティックな遺伝子発現制御に関わる研究の多くは始まったばかりであり、今後様々

な生物の発生、分化との関連、またがん化や老化など様々な生命現象との関連が明らかにされるものと考えられている。また、ヒトのゲノム DNA から転写される RNA の網羅的な解析から、膨大な数のタンパク質をコードしない RNA、いわゆる、non-coding RNA が転写されている事が明らかにされている。これらの RNA がどのようにタンパク質をコードする RNA を制御しているのか、RNAi 機構との関与も含めて解明されるべき課題であろう。

上術のように、転写レベルでのエピジェネティックな調節には、DNA のメチル化とクロマチンの構造変換が深く関与している。しかし何がオンからオフへ、あるいはオフからオンへ遺伝子発現状態を変化させているのか、変換を導く機構については、まだまだ不明な点が数多く残されている。興味深いことに近年の研究から、細胞質の RNA をターゲットとして働くと考えられていた RNAi の機構が、核内の DNA メチル化やクロマチン構造変換にも深く関わる事が明らかにされつつある。実際に RNAi に関わる因子の機能を欠損させると、核内のクロマチン構造やメチル化が影響を受けるという結果が、様々な生物種を通じて集められてきている。DNA メチル化-クロマチン構造変換-RNAi、これらの機構がエピジェネティックな遺伝子発現制御にどのように関わってくるのか、現在最も注目されている研究分野であり、その医療的な応用も含めて産官学の協調した取り組みが、効率的な研究推

進につながると考えられる。

エピジェネティクス研究の展望

以上、エピジェネティクスの定義から、代表的な生命現象とその分子機構について概説した。エピジェネティックなメカニズムの解明は、ゲノム DNA 解読後の次の世代の大きな挑戦であろう。しかし、そのゴールに至るまでには、異なるモデル生物から得られた知見の有機的な統合、DNA の修飾やヒストンの修飾の動態を全ゲノムレベルで解析するための技術開発、基礎研究と応用研究に関わる研究者のネットワークと知識共有、そして分野全体を支える研究支援体制の整備など、様々な問題点や課題があるのも事実であろう。このような問題点を克服すべく、ヨーロッパではいち早く Epigenome NoE というプロジェクトが開始され、エピジェネティクス研究に関わる研究者の連携と、資金供与の体制が整えられつつある (<http://www.epigenome-noe.net/>)。また日本でもエピジェネティクスに関わる研究者のコミュニティとして、日本エピジェネティクス研究会が昨年発足した (<http://www.nig.ac.jp/labs/Project/jse/index.html>)。今後様々なネットワークを通じて、エピジェネティクス研究が推進されると期待される。