

特集 転写修飾の舞台演出家たち:メチル化, リン酸化, ユビキチン化, アセチル化

ヒストンのメチル化修飾によるクロマチン構造の変化

中山潤一

ヒストンのアセチル化修飾がもたらす転写への影響は、アセチル化転移酵素、脱アセチル化酵素の発見から広く認められるようになった。最近、ヒストンにメチル化修飾を導入する酵素が発見され、アセチル化だけでなくメチル化もクロマチン構造の変化に重要な働きをしていることが明らかにされた。本稿では、最近のメチル化に関する一連の成果について概説し、転写調節に及ぼす可能性について述べる。

Key words

ヒストン, メチル化, クロモドメイン, SETドメイン, Rb, PRMT

はじめに

生物の個体を構成する細胞は、全て同じ遺伝情報を保持しているが、その性質や役割は様々である。このような多様性を生み出すために、細胞はその発生段階において、特定のセットの遺伝子をオン、あるいはオフにして、その状態をその後の細胞分裂を通じて維持する必要がある。このような遺伝子の発現調節を説明する機構の一つとして、DNAの一次配列の変化を伴わないエピジェネティクスと呼ばれる現象が注目されている。この現象に伴う分子の変化としては、DNAのメチル化、ヒストンの修飾、短い二本鎖RNAによる転写後調節(RNAi)などが代表的なものとして挙げられる。これらの中で特にヒストンの修飾に関しては、ここ数年で転写調節との直接の関連を示す成果が蓄積され、大きく進展したように思われる。

ヒストンのアミノ末端側の残基が、種々の翻訳後修飾を受けていることは古くから知られ、主にアセチル化、リン酸化、メチル化に加え、ユビキチン化やADPリボシル化などが挙げられる。これまで、これらの修飾のもつ分子的な役割は長い間不明であったが、アセチル基転移酵素(HAT)と脱アセチル化酵素

(HDAC)の発見によって、アセチル化修飾が転写の活性化と直接関係していることが明らかにされた。アセチル化修飾に関わる酵素の単離に加えて、アセチル化されたヒストンを認識するドメインも同定され、アセチル化修飾の役割の解明が進む一方で、メチル化修飾の役割については、最近まで不明のままであった。しかし、実際にメチル修飾を導入する酵素が発見されるに至って、アセチル化同様、クロマチンの構造変化、転写調節に重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。

I. ヒストン H3-Lys9 メチル基転移酵素: SUV39H1 の発見

ショウジョウバエを用いた古典的な研究で、ある遺伝子が染色体の構造変化等によってセントロメアなどのヘテロクロマチンの近傍におかれた場合、その発現がある細胞ではオンに、またある細胞ではオフになる、モザイク状の発現パターン(variegation)が観察される。この現象は位置効果(PEV: position effect variegation)と言われ、ヘテロクロマチンのクロマチン構造が、近接した遺伝子上にも及ぶことで起きる現象と考えられている。このPEVという現象を指標に、増強(E: enhance)あるいは抑圧(Su: suppress)する変

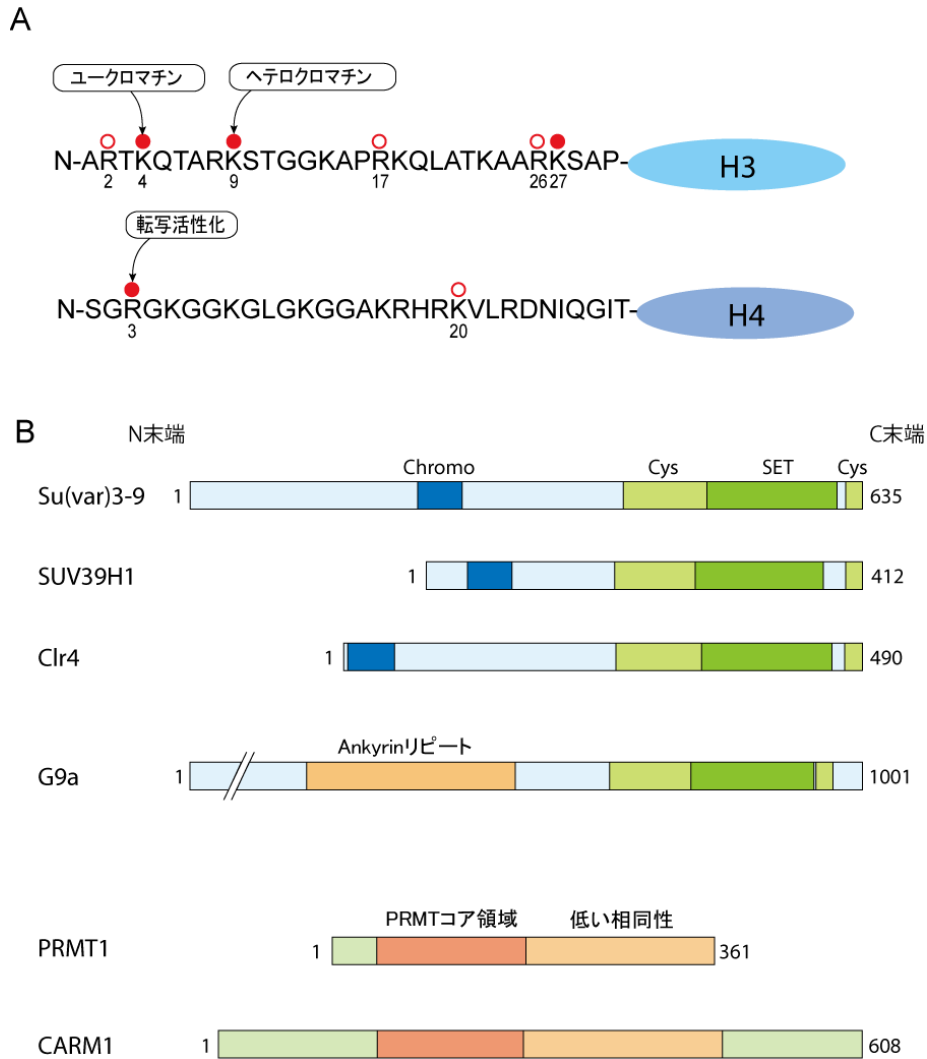


図 1. ヒストンのメチル化修飾とメチル基転移酵素

A:メチル化修飾を受けるヒストン H3、H4 の N 末側アミノ酸部位を赤い丸印で表している。中塗りの丸は、特に修飾酵素との関係が明らかになった部位を示し、またその修飾の持つ役割を併せて示してある。

B:これまでにヒストンに対して活性が明らかにされた、メチル基転移酵素の構造を示す模式図。それぞれ、Su9var)3-9(ショウジョウバエ)、SUV39H1(ヒト)、Clr4(分裂酵母)、G9a(ヒト)、PRMT1(ヒト)、CARM1(マウス)を表す。Chromo、クロモドメイン；Cys、システインリッチ領域；SET、SETドメイン。

異のスクリーニングが行われ、一連の変異体[E(var)、Su(var)]が単離されている。この中の Su(var)遺伝子群一つ、Su(var)3-9の変異は、PEV に対して特にドミナントな抑圧効果を示すことが知られていた。この遺伝子産物は、N 末端側にヘテロクロマチン蛋白質 HP-1 や Polycomb 蛋白質に共通して見られるクロモドメインを持つほか¹⁾、C 末端側には進化的に良く保存された SET ドメイン(SET: Su(var)3-9, E(Z), trithorax)を持つことが明らかにされた²⁾。この Su(var)3-9 の相同蛋白質は、哺乳類動物細胞、また分裂酵母でも見いだされ、この蛋白質の種間での機能

的な保存性を示唆している(図 1)。ヒトの相同蛋白質 SUV39H1 は、主にヘテロクロマチン近傍に局在し、ヘテロクロマチン蛋白質 HP-1 と相互作用することが報告されている³⁾。また、分裂酵母の相同遺伝子である clr4 を破壊した細胞株では、分裂酵母の HP-1 に相当する Swi6 の局在が変化する事が明らかにされているが⁴⁾、これらの蛋白質の実際の機能については不明であった。一昨年に Thomas Jenuwein 等のグループは、この SET ドメインが、植物で同定された rubisco large-subunit に対するメチル基転移酵素と、二次構造上の類似性があることに気づき、クロマチンとの関

表1 ヒストンメチル基転移酵素とそのターゲット

名前	生物種	ドメイン	基質	残基	役割
SUV39H1	ヒト	SET	H3	Lys9	ヘテロクロマチン
Suv39h1	マウス	SET	H3	Lys9	ヘテロクロマチン
Suv39h2	マウス	SET	H3	Lys9	ヘテロクロマチン 減数分裂
Su(var)3-9	ショウジョウバエ	SET	H3	?	ヘテロクロマチン
Clr4	分裂酵母	SET	H3	Lys9	ヘテロクロマチン
G9a	ヒト	SET	H3	Lys9, Lys27	?
PRMT1	ヒト	PRMT	H4	Arg4	転写活性化
CARM1	ヒト	PRMT	H3	?	転写活性化?

連からヒストンを基質とした活性を検証することで、SUV39H1 が実際にヒストン H3 の9番目のリジン(H3-Lys9)に特異的な、メチル基転移酵素(HMTase)であることを発見した⁵⁾。同様な H3-Lys9 に対する活性がショウジョウバエの Su(var)3-9、また分裂酵母の Clr4 でも確認され、種間を通じて保存された活性であることが明らかにされた。実際の活性部位は、保存された SET ドメインと、それを挟むように存在するシステインに富んだ領域にマップされた。この Su(var)3-9 のファミリーの他に SET ドメインを持つ蛋白質は多数存在するが、それらがすべて同様な酵素活性を持つのかどうかは明らかにされていない。Su(var)3-9 ファミリー以外で SET ドメインを持つ蛋白質の中では、唯一ヒトの MHC クラス III 領域に存在する遺伝子として同定された G9a の産物が、同様に H3 に対する HMTase 活性を持つことが報告されている⁶⁾ (表1)。しかし、他の SET ドメインについては、ヒストン以外の基質を持つ可能性もあり、その役割については今後解明されるべき課題と考えられる。

II. SUV39H1 とヘテロクロマチン蛋白質

SUV39H1 のメチル基転移活性が報告されたが、実際 H3-Lys9 のメチル化は染色体の機能上どのような役割を果たしているのであろうか。ショウジョウバエで単離された経緯やヒト細胞における局在、および分裂酵母での表現型から、この H3-Lys9 のメチル化修飾は、ヘテロクロマチンの構造維持に重要な役割を果たしていると推測される。実際に、Jenuwein、Kouzarides の両グループは、ヘテロクロマチン蛋白質である HP-1 とヒストンとの相互作用を詳細に解

析し、HP-1 のクロモドメインが、修飾の入っていない H3 に比べて、Lys9 がメチル化された H3 を特異的に認識して結合することを報告した^{7),8)}。また、筆者等のグループは、Lys9 がメチル化されたヒストン H3 に特異的な抗体を利用することで、この修飾が実際に分裂酵母のヘテロクロマチン領域に存在すること、また Clr4 の破壊株ではメチル修飾の消失とともに Swi6 の局在も変化することを示した⁹⁾。これらの結果より、SUV39H1 はヘテロクロマチン領域の H3-Lys9 にメチル化修飾を導入し、ヘテロクロマチン蛋白質がその修飾を認識して結合することで、ヘテロクロマチンに特徴的な高次のクロマチン構造を形成しているものと考えられる (図2)。興味深いことに、分裂酵母の Clr4 の活性と Swi6 の局在には、ヒストン H3-Lys14 特異的な脱アセチル化酵素の活性が必須であることが分かり⁹⁾、ヘテロクロマチン構造の形成・維持には、複数の修飾酵素の協調的な作用が働いていることが明らかにされた (図2)。また、SET ドメイン同様にクロモドメインも数多くの蛋白質中に見いだされるが、これらが全て修飾を受けたヒストンを認識して結合するのか、あるいはおのおの別の役割をもっているのかどうかは不明である。しかし、ショウジョウバエの発生に重要な働きをする Polycomb 蛋白質群の中には、クロモドメインを持つ Pc に加えて、SET ドメインを持つ E(z)が含まれており、SUV39H1 と HP1 で見られるようなメチル化修飾を介する機構が存在するかどうかは、今後明らかにされるものと期待される。

III. ヒストン H3-Lys4 のメチル化修飾

SUV39H1 と HP-1 の関係の解明によって、ヒストン

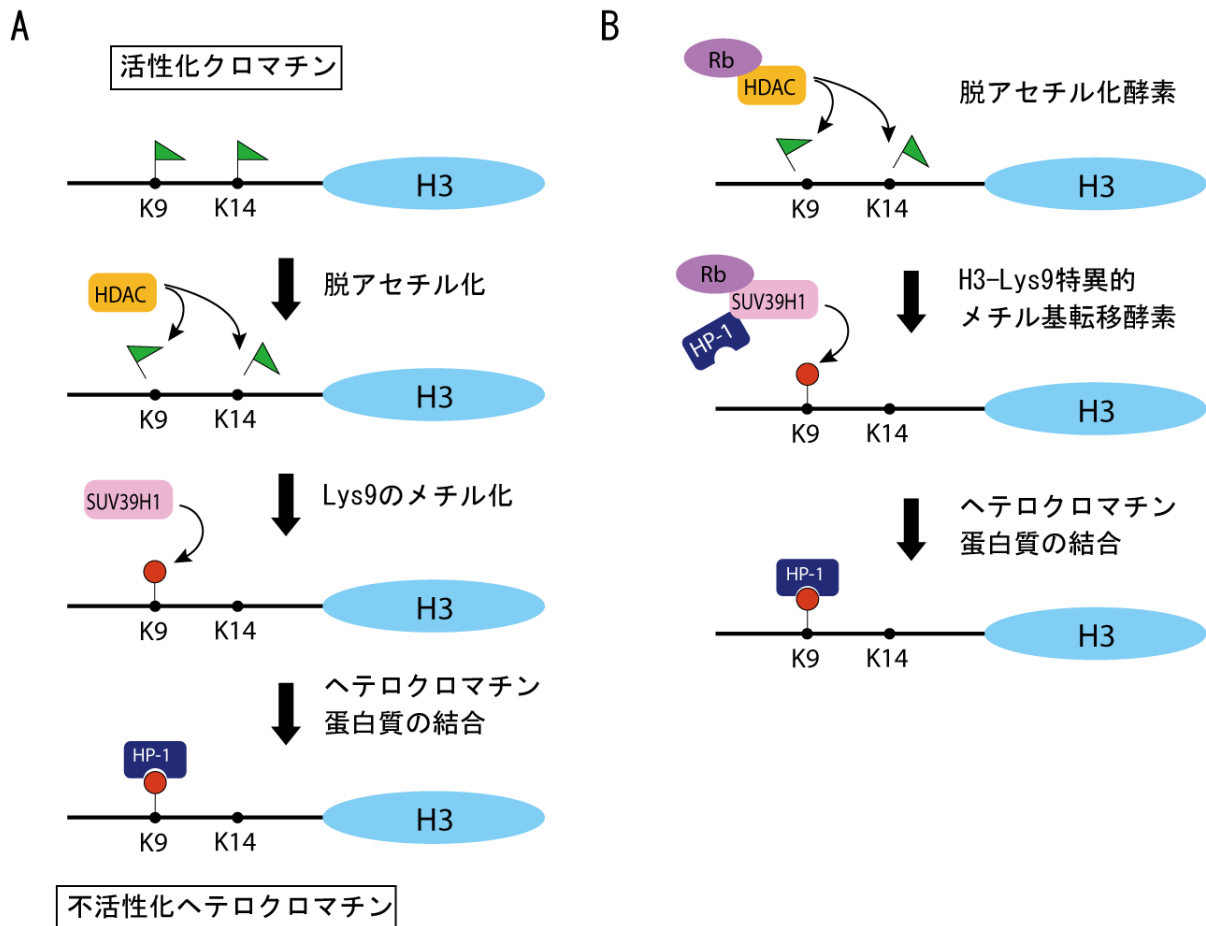


図2. ヒストンのメチル化修飾と転写の制御

A: ヘテロクロマチン構造確立への段階的な構造変化のモデル。分裂酵母での解析から、Lys9(K9)のメチル化とヘテロクロマチンタンパク質の結合には、脱アセチル化酵素の反応が必要なことから、複数の酵素が関与した段階的な変化が示唆される。Nakayama J, et al.: Science (2001) 292 : 110-113 より改編。

B: Rb タンパク質によるターゲット遺伝子の転写抑制には脱アセチル化酵素だけでなくメチル基転移酵素、およびヘテロクロマチンタンパク質が関与していることが示されている。

H3-Lys9 のメチル化が、通常遺伝子の転写が不活性化ヘテロクロマチン領域に存在することが明らかにされたが、メチル修飾は必ずしも不活性化状態を規定するわけではない。例えば、ヒストン H3 の4番目のリジン(Lys4)にメチル修飾を導入する酵素活性は、テトラヒメナに存在する二つの核(大核、小核)のうち、転写の活発な大核のみで検出され、遺伝子の活性化状態との関連が指摘されている¹⁰⁾(図1)。また、H3-Lys9 の場合と同様に、Lys4がメチル化されたヒストンH3特異的な抗体を用いて、ヘテロクロマチンを含む広い染色体領域における Lys4 と Lys9 のメチル化の分布が、ニワトリの細胞、及び分裂酵母を用いて詳細に解析された。その結果、H3-Lys4 のメチル化修飾は、主に遺伝子に富むユークロマチンに局在し、逆にヘテロクロマチン領域には存在せず、ちょうど Lys9 のメチル化と相補的な分布をしている事が明らかにされた^{11), 12)}。これらの結果より、H3-Lys4 と H3-Lys9 の

メチル化修飾は、それぞれユークロマチン、ヘテロクロマチン領域を分ける、重要なマークになっていると考えられる。しかし、もしこれら2カ所の修飾が同じヒストン上の側鎖に存在しないとすれば、どのような機構でそれらが拮抗的に制御されているのか、また HP-1 が H3-Lys9 のメチル修飾を認識して結合するように、H3-Lys4 を積極的に認識し、クロマチンの構造を活性化状態に変化させる因子が存在するのかについては、まだ明らかにされていない。

IV. H3-Lys9 のメチル化と転写調節

上述のように、ヒストン H3 の4番目と9番目のリジンのメチル化修飾が、それぞれユークロマチン、ヘテロクロマチンに分布していることが明らかになったが、これらの修飾は通常の遺伝子発現の調節にどのように関わっているのか。最近 H3-Lys9 の修飾

が、ダイナミックな遺伝子発現の制御に関わるという、興味深い報告がされている。Nielsen と Vandell 等のグループは独立に、細胞周期の監視役として働く転写抑制因子である Rb を特異抗体で免疫沈降させると、ヒストン H3-Lys9 に対する HMTase 活性が同時に沈降されることを明らかにした^{13), 14)}。さらに Nielsen 等は、SUV39H1 が Rb による転写抑制に対して、コリプレッサーとして働いており、実際に Rb の下流にあるサイクリン E のプロモーター上で、ヒストン H3-Lys9 のメチル化とともに、HP-1 蛋白質がリクルートされていることを報告した¹³⁾。以上の結果は、H3-Lys9 の修飾がダイナミックに制御されており、HP-1 の結合と合わせて遺伝子発現の制御に関わっていることを強く示唆する結果であると言えよう (図 2)。この HP-1 の結合は、プロモーターのあるヌクレオソームで確認され、すぐ上流のヌクレオソームでは確認されていない。恒常的なヘテロクロマチンの形成には、HP-1 のカルボキシル末端側のクロモシャドウドメインを介した、多量体形成が必要と考えられており、限局的な HP-1 の結合がどのように転写の制御に関わっているのかは興味深い。また、Rb の転写抑制は細胞周期とカップルしており、SUV39H1 の活性がどのように細胞周期依存的に制御されているかも、今後解明されるべき課題と考えられる。

V. アルギニンメチル基転移酵素: PRMT

ヒストン H3 のリジンに対する修飾酵素とは別に、ヒストンのアルギニンにメチル基を導入する酵素が同定されている。PRMT (protein arginine methyltransferase) と名付けられた一連の蛋白質は、触媒に関わる領域に高い相同性有し、SET ドメインを持つ SUV39H1 とは異なる構造を持つ (図 1)。この PRMT ファミリーの多くは、ヒストン以外の蛋白質を基質として、核—細胞質間輸送、RNA 代謝、シグナル伝達等に関わっていると考えられているが、そのうち幾つかは直接ヒストンを修飾していることが明らかにされている。PRMT1 は、もともと細胞増殖に関わる因子 (TIS21、BTG21) に結合する蛋白質として同定され、ヒストンだけでなく RNA 結合蛋白質なども基質として *in vitro* の活性を持つことが知られていたが、最近ヒストン H4 にメチル化修飾を導入する活性を指標にした、生化学的な精製からも単離されている¹⁵⁾ (表 1)。PRMT1 は特にヒストン H4 の 3 番目のアルギニン (H4-Arg3) にメチル基を転移することが *in vitro* で確認されている。実際に PRMT1 を欠損させた ES 細胞では、この修飾が検出できなくなることから、*in vivo* で H4-Arg3 を基質としていることが分かる。面白いことに、PRMT1 はアセチル化され

ていない H4 を基質として良く認識し、また Arg3 がメチル化された H4 は、p300/CBP によるアセチル化反応を促進することが報告されている。さらに、過剰発現させた PRMT1 が、p300/CBP によるコアクチベーター活性を *in vivo* で増強することから、PRMT1 の活性は不活化状態のクロマチンを活性化状態にする最初のステップに関与していると考えられる。

転写のコアクチベーターである、p160 と結合する因子として同定された CARM1/PRMT4 は、PRMT1 とは異なり *in vitro* でヒストン H3 を基質として良く認識する (表 1)。CARM1 の触媒部位と考えられる領域に変異を入れると、ヒストンに対するメチル化活性の消失とともに、p160 のコアクチベーター活性も抑えることから¹⁶⁾、CARM1 の活性が p160 による転写活性化に重要な働きをしていることが分かる。しかし、CARM1 が *in vivo* でヒストンを基質としていのかについては詳細に検討されておらず、どのような機構でコアクチベーターと関わっているのかは、今後検討されるべき問題と考えられる。

VI. おわりに

以上、最近の約 2 年間の間に報告された、ヒストンのメチル修飾に関する進展を簡単にまとめたが、メチル修飾に関しての研究は始まったばかりであり、まだまだ解決されるべき問題が数多く残されているように思われる。例えば、メチル化修飾がダイナミックな変化を受けるとしたら、細胞はこの修飾を除去してリセットする機構を有しているはずであるが、そのような酵素活性はまだ見いだされていない。また、ヒストンのアセチル化修飾に関わる酵素と、その修飾を認識して結合するドメインの発見から、「異なるヒストンのアミノ末端側の修飾は、それぞれを認識する蛋白質因子によって読み出され、クロマチンの構造変化につながっている」という説が提唱されている¹⁷⁾。SUV39H1 によるメチル化と HP-1 の関係は、この仮説を支持する結果の一つと考えられる。しかし、メチル化の修飾が、どのように他のアセチル化やリン酸化などの修飾と相互に関係しているのかについては、ほとんど明らかにされていない。また、ヒストンのメチル基転移酵素が、どのような機構で染色体の特別な領域に修飾を導入しているのかも分かっておらず、これらは今後解明されるべき興味深い課題と考えられる。

文献

- 1) Jones DO, et al: BioEssay (2000) 22: 124-137
- 2) Tschiersch B, et al: EMBO J (1994) 13: 3822-3831
- 3) Aagaard L, et al: EMBO J (1999) 18: 1923-1938
- 4) Ekwall K, et al: JCS (1996) 109: 2637-2648
- 5) Rea S, et al: Nature (2000) 406: 593-599
- 6) Tachibana M, et al: JBC (2001) 276: 25309-25317
- 7) Lachner M, et al: Nature (2001) 410: 116-120
- 8) Bannister AJ, et al: Nature (2001) 410: 120-124
- 9) Nakayama J, et al: Science (2001) 292: 110-113
- 10) Strahl BD, et al: PNAS (1999) 96: 14967-14972
- 11) Noma K, et al: Science (2001) 293: 1150-1155
- 12) Litt MD, et al: Science (2001) 293: 2453-2455
- 13) Nielsen SJ, et al: Nature (2001) 412: 561-565
- 14) Vandel L, et al: MCB (2001) 21: 6484-6494
- 15) Wang H, et al: Science (2001) 293: 853-857
- 16) Chen D, et al: Science (1999) 284: 2174-2177
- 17) Strahl B, et al: Nature (2000) 403: 41-45

For Beginners

「ヒストン H3 のメチル化とヘテロクロマチン形成」
水野重樹：実験医学 19, 2179-2185 (2001)