

解説

哺乳類において、エピジェネティックな情報は遺伝するか？

高橋 悠太

Key words : 世代間エピジェネティック継承, DNA メチル化, DNA メチル化編集, CpG アイランド

エピジェネティック修飾とは、DNA やクロマチンへの化学修飾であり、DNA 塩基配列の変化を伴わずに、遺伝子発現制御において重要な役割を担っている。親の形質は、精子および卵子が接合子へと運ぶゲノム DNA によって子孫へと継承されるが、このときゲノム DNA 配列に加えてエピジェネティックな情報が子孫に引き継がれ得るかは、長年にわたり議論が続けられてきた。ゲノム DNA 配列は比較的安定であるのに対して、エピジェネティック修飾は外界からの刺激に応じて変化する可能性があり、それが子孫に継代されることは、親世代の生存環境が子孫の表現型に影響を与える可能性を示唆している。そのため、ヒトをはじめとする哺乳類におけるエピジェネティックな情報の世代間継承の有無、およびその機構を解明することは、現世代のみならず、将来の世代において異常なエピジェネティック情報が引き起こす疾患リスクを軽減するために重要である。

I 世代間エピジェネティック継承について、これまでの知見

エピジェネティック修飾の一つである DNA メチル化 [シトシンの後にグアニンが続く CpG (C-phosphate-G) 配列中のシトシンのメチル化修飾] は、遺伝子プロモーターにおいて遺伝子サイレンシングを引き起こし、様々な生命現象に重要な役割を果たしている。また、哺乳類のゲノム全

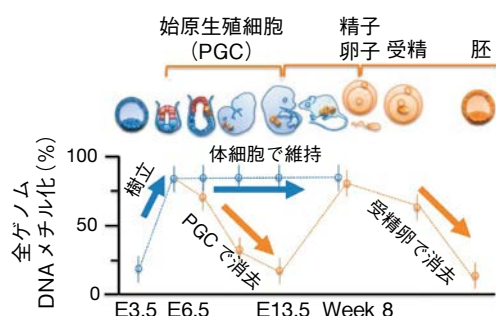


図1 エピジェネティックリプログラミング

体は高度に DNA メチル化されており、それはトランスポゾンの抑制などを介し、ゲノムの安定性に貢献している。図1中の青色線は、その高度なメチル化が初期胚において確立され、体細胞において維持されることを示している。一方、黄色線は、生殖細胞と次世代の受精卵で起こるエピジェネティックリプログラミングの過程を示している。胎児の始原生殖細胞 (primordial germ cells ; PGCs) において、全ゲノムの DNA メチル化はそのほとんどが一度消去される。その後、配偶子への分化に伴い全ゲノムの DNA メチル化が一度確立されるが、そのメチル化も受精卵で消去される。そして、胚の着床後、全ゲノムの DNA メチル化は再び確立される。このような生殖細胞および受精卵で起こるダイナミックなエピジェネティックリプログラミング機構の存在を根拠に、

Does transgenerational epigenetic inheritance occur in mammals?

Takahashi Yuta : 熊本大学国際先端医学研究機構 (〒 860-0811 熊本県熊本市中央区本荘 2-2-1)

0370-9531/04/¥500/論文/JCOPY

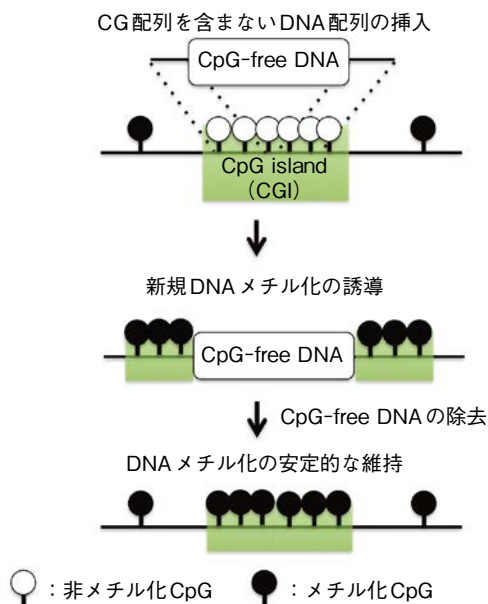


図 2 DNA メチル化編集技術

一般的に哺乳類においては、親世代で起こったエピジェネティックな情報の変化は消去され、次世代に継承されないと考えられてきた。その一方で、近年の研究から、哺乳類においてもエピジェネティックな情報が次世代に継承され得る可能性が示唆されている。

DNA ミスマッチ修復遺伝子である *MLH1* 遺伝子プロモーターは、通常非メチル化に保たれているが、まれに異常な DNA メチル化が発生し、それが非ポリポーシス大腸がんのリスクを著しく増大させることが知られている。大腸がんを発症したある母親の体細胞において、*MLH1* プロモーターの異常メチル化が観察され、興味深いことにそのメチル化は、同様に大腸がんを発症した2人の子どもにおいても発見された¹⁾。この報告は、その異常なメチル化が母親生殖細胞におけるリプログラミングを逃れ、次世代に継承された可能性を示している。しかしながら、この観察結果からだけでは、異常メチル化それ自体が次世代に継承されたことを証明するのに不十分である。なぜならば、この場合、異常メチル化がゲノム塩基配列の変異によって誘導された二次的なものである可能性を排除できないからである。したがって、哺乳類におけるエピジェネティックな情報の世代間

継承を証明するためには、エピジェネティック継承とジェネティック継承が厳密に区別されなければならない。しかし、これまで適切な実験モデル、手法がなかったために、哺乳類におけるエピジェネティックな情報の次世代への継承が証明されたことはなかった。

II DNA メチル化編集技術の開発

前述の問題点を解決するために、筆者らは標的の遺伝子プロモーターのみに新規 DNA メチル化を誘導する DNA メチル化編集技術を独自に開発した²⁾。この DNA メチル化編集技術は、CpG アイランド (CpG island ; CGI) と呼ばれる領域を有するプロモーターを標的としている。CGI は、高頻度に CG 配列が出現する領域で、高メチル化のゲノム中においても非メチル化に保たれている。約 60% のヒト遺伝子プロモーター上に CGI が存在しており、それら CGI のエピジェネティック状態は、その遺伝子発現を制御する。通常 CGI は非メチル化に保たれているため、異常な DNA メチル化が誘導された場合、異常なサイレンシングが引き起こされ、それは病気の発症に関わり得る。例えば、前述の大腸がんに関わる *MLH1* の異常メチル化は、CGI を含むプロモーター上で起こっている。筆者らは、標的 CGI に CpG-free DNA (CpG 配列を含まない DNA 断片) を挿入することによって、新規 DNA メチル化を標的 CGI 全体に誘導できることを発見した(図 2)。また、その誘導された DNA メチル化は、CpG-free DNA の除去後も安定的に維持された。つまり、この手法は最終的なゲノム DNA 配列を変えずに、標的 CGI に安定なメチル化を誘導する DNA メチル化編集を可能にする。筆者らはこの手法を用いて、先行研究において、がん関連エピ変異である *MLH1* CGI メチル化を有するモデル細胞株を樹立した。また、インプリンティング異常を発症原因とするアンジェルマン症候群患者から樹立した iPS 細胞において、異常メチル化の修復に成功した²⁾。

III DNA メチル化編集マウスの作製

次に、筆者らはこの DNA メチル化編集技術を用いて、標的とした代謝関連遺伝子 *Ldlr* (low

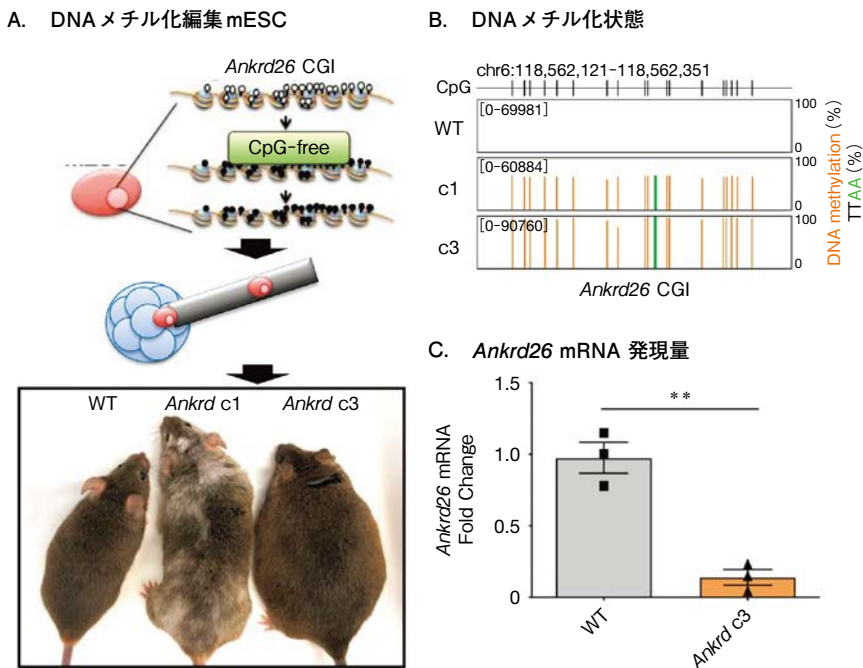


図 3 DNA メチル化編集マウスの作製

A. DNA メチル化編集マウス *Ankrd26* chimera (c) 1 と c3 の作製法と表現型

B. *Ankrd26* CGI のメチル化状態。バイサルファイトシーケンスの結果

C. *Ankrd26* mRNA の発現量

** : $p < 0.005$ by Student's t test

density lipoprotein receptor) もしくは *Ankrd26* (ankyrin repeat domain containing 26) の CGI が安定的にメチル化された DNA メチル化編集マウス ES 細胞を樹立した。標的 CGI に CpG-free DNA を挿入することによって、新規 DNA メチル化を標的 CGI 全体に誘導し、そのメチル化および遺伝子サイレンシングは、CpG-free DNA の除去後も安定的に維持された。更に、これらのメチル化編集 ES 細胞をマウス 8 細胞期胚にマイクロインジェクションし、キメラマウスを作製した (図 3A)。キメラマウス成体の体細胞において、ES 細胞で誘導された CGI の DNA メチル化は安定的に維持されており (図 3B)、それに伴い標的遺伝子の発現が抑制されていた (図 3C)。また、興味深いことに *Ankrd26* CGI のメチル化マウスは、*Ankrd26* 遺伝子のノックアウトマウスと同様に異常な肥満の表現型を示した (図 3A)。

これらの結果から、独自の DNA メチル化編集技術が、DNA メチル化編集マウスの作製を可能

にすることが示された³⁾。筆者の知る限り、これらのマウスは世界で初めてのエピジェネティック編集モデルマウスである。

IV DNA メチル化と表現型の世代間継承

更に、標的 CGI の誘導された DNA メチル化が次世代に継承されるかを検証するために、DNA メチル化編集マウスを野生型マウスと掛け合わせ、生まれてきた F1 世代マウスのメチル化状態を解析した。その結果、標的 CGI の DNA メチル化が安定的に、次世代に引き継がれていることを発見した (図 4)。更に、*Ldlr* CGI のメチル化は少なくとも F7 世代まで、*Ankrd26* CGI のメチル化は少なくとも F6 世代まで、安定的に継承されることが確認された。また、その間、父親と母親どちらの生殖系列を経由しても、CGI メチル化は安定的に子孫に継承された。加えて、全ゲノムシーケンスや全ゲノムバイサルファイトシーケンスの結果、偶発的な DNA 配列の変化は検出され

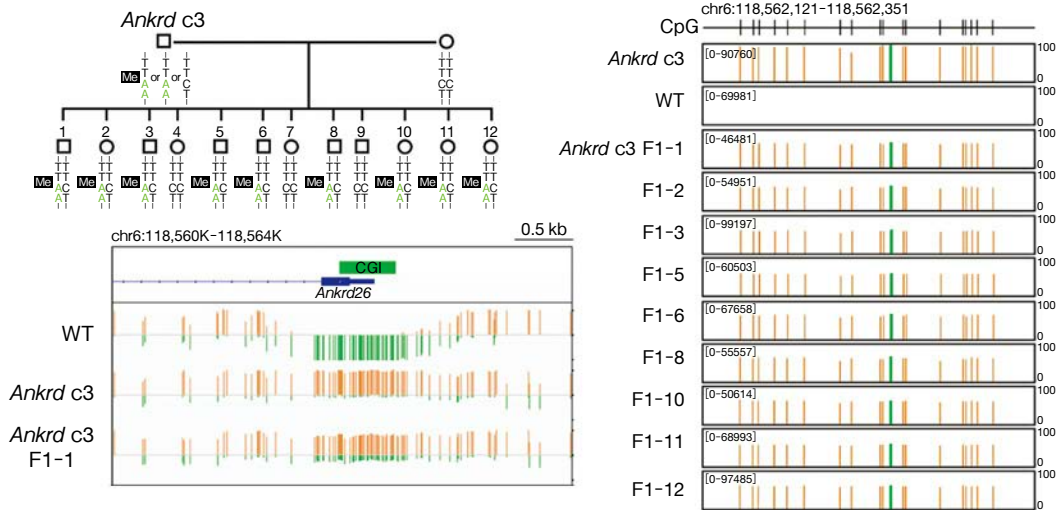


図 4 *Ankrd26* CGI DNA メチル化の世代間継承

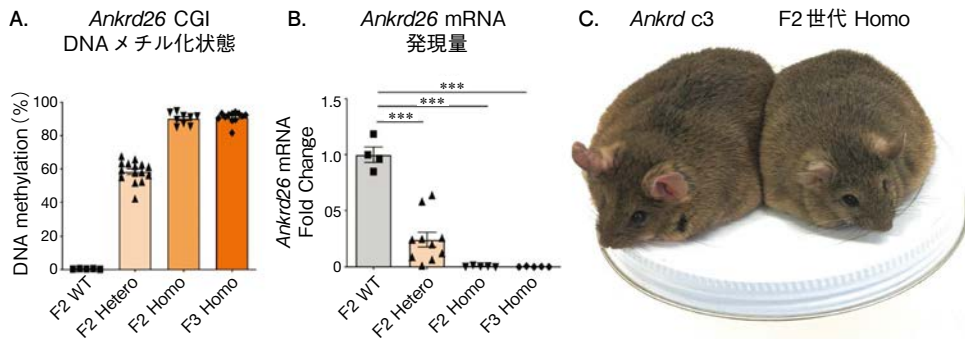


図 5 遺伝子サイレンシングと表現型の世代間継承

A. *Ankrd26* CGI のメチル化状態。バイサルファイトシーケンスの結果

B. *Ankrd26* mRNA の発現量

C. DNA メチル化編集マウスと F2 世代ホモメチル化マウスの表現型

***: $p < 0.0001$ by Student's t test

なかった。これらの結果は、インタクトなゲノム DNA において、筆者らの手法を用い標的領域のみを新規メチル化し、そのメチル化が次世代に継承されることを明らかにした。この研究は、エピジェネティック継承とジェネティック継承を厳密に区別することを可能にし、哺乳類においてエピジェネティックな情報が世代を超えて継承されることを初めて実験的に証明した。

次に、遺伝子サイレンシングや表現型が世代を超えて継承されるかを検討するために、CGI メチル化ヘテロマウス同士を掛け合わせ、子孫の解析を行った。その結果、継承された DNA メチル化状態と一致して、F2, F3 世代マウスにおいて、

遺伝子発現が抑制されていた(図 5A, B)。更に重要なことに、F2, F3 世代の *Ankrd26* CGI のホモメチル化マウスは肥満の表現型を示し(図 5C), *Ldlr* CGI のホモメチル化マウスは高コレステロール血症を示した。これらの結果は、エピジェネティック情報の世代間継承により、代謝異常の表現型が世代を超えて子孫に受け継がれたということを示している³⁾。

V DNA メチル化の世代間継承機構

前述の研究結果および学術的背景の下、新たな重要な問いが生まれた。哺乳類において、始原生殖細胞と受精卵でダイナミックなエピジェネ

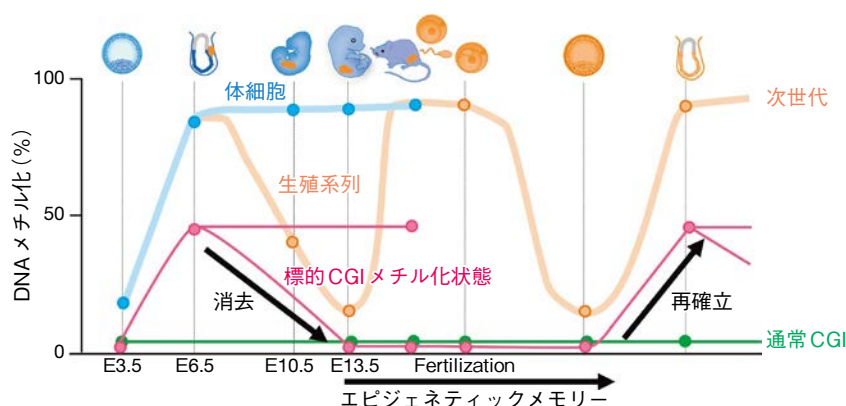


図 6 エピジェネティックな情報の世代間継承機構

ティックリプログラミングが起こることを考慮すると、どのように CGI の DNA メチル化が世代を超えて継承されたのであろうか？ この問いに答えるために、まず、親の生殖系列においていつメチル化が消去されるのか？ および胚においていつメチル化が再確立されるのか？ を検討した。

まず、*Ldlr* CGI メチル化マウス胎児から PGCs を単離し、標的 CGI プロモーターのメチル化を解析した結果、胎生 13.5 日目のマウス胎児 PGC からはメチル化が検出されなかった。つまり、次世代に継承される CGI の DNA メチル化は、PGC における全ゲノムの脱メチル化と同様なタイミングで、一度消去されていた³⁾(図 6)。そして、その非メチル化状態は配偶子への分化過程でも維持され、卵子と精子は非メチル化の CGI を示した。

次に、受精後の胚において、いつ CGI のメチル化が再確立されるのかを検討するために、異なるステージの胚を回収し、メチル化状態を検討した。その結果、胎生 3.5 日目の胚盤胞期胚ではメチル化が検出されないのに対して、胎生 6.5 日目卵筒胚のエピブラストにおいてはメチル化が検出された³⁾(図 6)。つまり、DNA メチル化それ自体ではなく、CGI に存在する何らかのエピジェネティックメモリーが次世代に継承され、それにより着床後の胚でメチル化が再確立されることが示された。

おわりに

表題の問いの答えとして、筆者らの研究によ

り、哺乳類においてもエピジェネティックな情報が世代を超えて継承されることが明らかになった。しかしながら、現在までに何が前述のエピジェネティックメモリーを形成しているのかは未解明である。今後は、エピジェネティックメモリーの実体解明を通じて、哺乳類におけるエピジェネティックな情報の世代間継承メカニズムを解明したい。メカニズムの解明により、どのようなエピジェネティック情報が世代間で継承され、どのような情報が消去されるのが明らかになり得る。またそれは、外界のストレスが誘導したエピジェネティックな情報の変化が世代間継承されるのか、といった理解につながる。そして、これらの DNA メチル化編集モデルマウスから得られた結果は、ヒトでも世代間エピジェネティック継承が起こり、それが疾患発症感受性の決定に関わっているという仮説を支持するものである。これらの研究から得られる知見は、将来的に疾患の家族性リスクの理解を促進し、生活習慣病などの発症率低減に寄与すると期待される。

●文 献

- 1) Crépin M, Dieu MC, Lejeune S et al : *Hum Mutat.* 33 : 180-188, 2012
- 2) Takahashi Y, Wu J, Suzuki K et al : *Science.* 356 : 503-508, 2017
- 3) Takahashi Y, Morales Valencia M, Yu Y et al : *Cell.* 186 : 715-731, 2023