

このプレスリリースは、文部科学記者会、科学記者会、奈良県政・経済記者クラブ、奈良県文化教育記者クラブ、橿原市政記者クラブ、および大阪科学・大学記者クラブへ同時配布しております。

2023年3月17日

報道関係各位

公立大学法人奈良県立医科大学
国立研究開発法人理化学研究所
学校法人東京農業大学

母親からのゲノムに“刷り込まれる”記憶の多様性

【要点】

- 奈良県立医科大学 発生・再生医学講座の小林久人准教授を中心とする研究グループは、マウス・ラットを用いて、“刷り込み(インプリント)遺伝子”のゲノム広範囲な探索を行いました。ラット特異的かつ胎盤特異的なインプリント遺伝子が複数同定されたことから、母親からのゲノムにインプリントが入るしくみは、特に胎盤において種間多様性に富んでいることが示されました。

【概要】

奈良県立医科大学、発生・再生医学講座の研究グループは、哺乳類の卵のエピゲノム修飾[1]が次世代へと継承される、つまり母親のゲノムに刷り込み(インプリント)が入るゲノムインプリンティング現象[2]において、特に胎盤に引き継がれるインプリント状態が種間多様性に富んでいることを明らかにしました。今回、同講座の小林久人准教授を中心とする研究グループは、ネズミ科の仲間であるラット(クマネズミ)とマウス(ハツカネズミ)のマルチオミクス比較解析[3]により、ラット特異的なインプリント遺伝子座を複数同定することに成功しました。これらの遺伝子はすべて胎盤系列特異的なインプリント遺伝子であり、ラットとマウス間のゲノムあるいはエピゲノムレベルでの違いにより、母親由来インプリントの種間多様性を生み出していることが明らかとなりました。ラットでのゲノム広範囲なインプリント遺伝子の探索は世界初となります。

本研究は、当大学、東京大学、理化学研究所、東京農業大学、九州大学、国立成育医療研究センター、生理学研究所、パリ・シテ大学、ブリティッシュコロンビア大学の国際共同研究により実施されました。

本成果は3月14日付けでオンライン科学雑誌「*Genome Biology*」に掲載されました。

【研究の背景】

私たち人間を含む哺乳動物に存在する“インプリント遺伝子”は、DNA メチル化、ヒストン修飾などのエピゲノム修飾[1]の形で親の由来の情報が印づけされており、対立遺伝子間の発現量の不均一性をもたらしています。インプリント遺伝子が存在する意義の説明として、母親・父親由来の遺伝子間に成長の度合いに関して対立関係(Conflict)が存在し、それによってゲノムインプリンティング機構[2]の進化は理解できるとする「コンフリクト仮説」が提唱されています(図1)。インプリント遺伝子が個体の成長に関わる機能的要素として、胚体・胚盤形成などの直接的要因のみだけではなく、行動学・心理学的要因も含まれていることが指摘されています。実際、インプリント遺伝子座の異常はプラダー・ウィリ症候群、アンジェルマン症候群、バックウィズ・ヴィーデマン症候群などの成長遅延や精神発達遅延を伴う片親性先天性疾患(インプリンティング疾患と総称される)の原因となります。また、発生遺伝モデルとして利用されるマウスで疾患原因遺伝子を欠損させると、人間での疾患とよく似た表現型および遺伝様式を示すことが報告されており、これらの遺伝子欠損マウスは疾患モデルとしてよく研究されています。2022年時点でマウスには260のインプリント遺伝子が存在すると報告されていますが、人間と共通するインプリント遺伝子は63しか報告されておらず、インプリント遺伝子の多くが種・系統特異的に成立していると考えられています。しかしながら、これらの遺伝子の多くは人間あるいはマウスで同定されてきており、その2動物種以外での研究はあまり進められていませんでした。



図1.ゲノムインプリティング機構とコンフリクト仮説

胎生という生殖様式を採用した哺乳動物では、遺伝子を残すための戦略が父親と母親で対立するため、父由来発現遺伝子は胎児の成長促進を、母由来発現遺伝子は成長抑制に働く、とする仮説である。

また近年のマウスの研究で、多くのインプリント遺伝子が卵から引き継がれた DNA メチル化マークの制御を受け一方で、一部のインプリント遺伝子はヒストン修飾の一つである H3K27me3(ヒストン H3 テールの 27 番目のリシンにメチル基が3つ付加されている)[4] の制御を受けることが明らかとなりました。前者は典型的インプリンティング、後者は非典型的インプリンティングと呼ばれています(図2)。特徴的な点は、非典型的インプリンティングを受ける遺伝子は全て、胎盤で父親由来の対立遺伝子のみ発現するタイプのインプリント遺伝子であることです。このように DNA メチル化とは独立して世代を超えて引き継がれるマークの新たな経路として注目されるヒストン修飾についてですが、マウスで非典型的インプリンティングを受けると報告されている遺伝子は、人間を含む他の動物ではインプリントを受けているという報告は一切ありません。これは典型的インプリンティングの多くが、マウス・人間など、複数の動物種でインプリンティングが報告されている、つまりインプリンティング機構が進化の過程で保存されている、という状況と大きくことなります。非典型的インプリンティングがマウス以外に存在するかという大きな疑問が残っている状況でした。そういった側面からも、マウス、人間以外の第3の哺乳動物で、ゲノム広範囲なインプリント遺伝子の探索が求められていました。そこで、本研究ではマウスと同様に動物モデルとして長い歴史を持つラットでのインプリント遺伝子のゲノム広範囲な探索に挑戦しました。

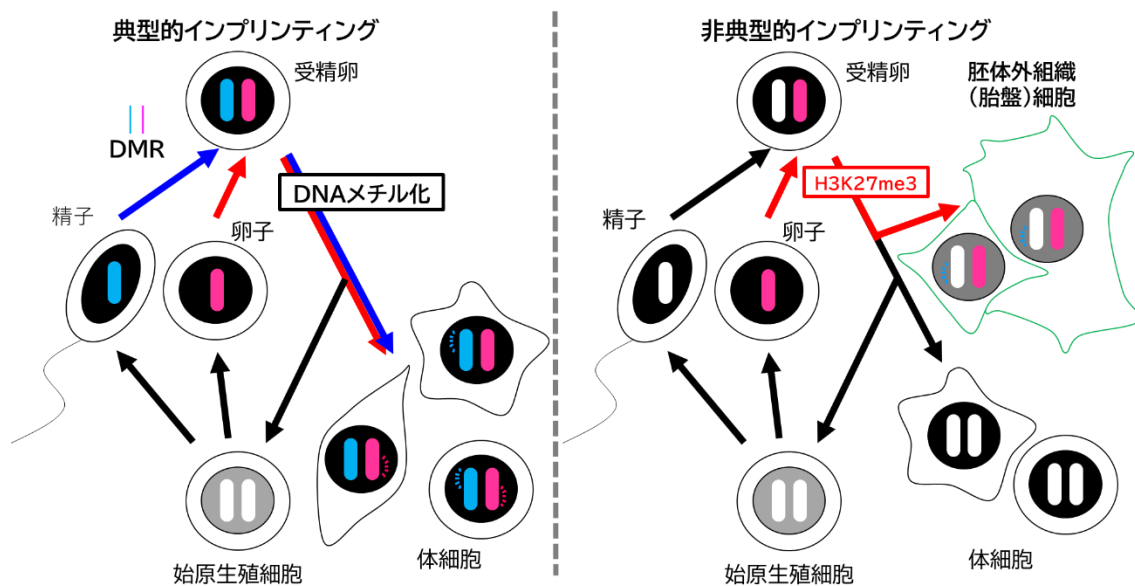


図2.ゲノムインプリティングのライフサイクル

生殖細胞のDNAメチル化に依存する典型的インプリンティング(左)と、ヒストン修飾に依存する非典型的インプリンティング(右)。典型的インプリンティングは受精後の細胞に DNA メチル化による印が入った領域(DMR)が引き継がれる。非典型的インプリンティングは主に胎盤で特異的にインプリント発現する遺伝子を制御している。

【研究の成果】

本研究では、2種類(系統と呼ばれる)のラットの交配により得られた原腸陥入期(胎齢 8.5 日)胚仔より、将来の体全体となるエピブラスト(胚盤葉上層)と、将来の胎盤の一部となるエクトプラセンタルコーン(外胎盤錐)を摘出し、それぞれの遺伝子のエピゲノム修飾および発現状態を調べるマルチオミクス解析[3]のため、ゲノム DNA と RNA を回収しました(図3)。ゲノム DNA は DNA メチル化のプロファイリングに、RNA は遺伝子発現量の解析のために使用されました。異なる2系統のハイブリットラットを利用することにより、系統間の多型情報を利用して、どちらの遺伝子が父由来か母由来かを区別化することが可能となります。また、インプリントマークの由来となるラット卵のエピゲノム修飾について、DNA メチル化およびヒストン修飾のプロファイリングも行いました。

さらに、マウスにおいても同様のサンプル(マウス胚の場合、原腸陥入期に当たる胎齢 7.25 日で回収)を回収し、マルチオミクス解析を実行しました。このようにラットとマウスのインプリント遺伝子の全容をマルチオミクスレベルで比較できるデータセットをそろえることができました。

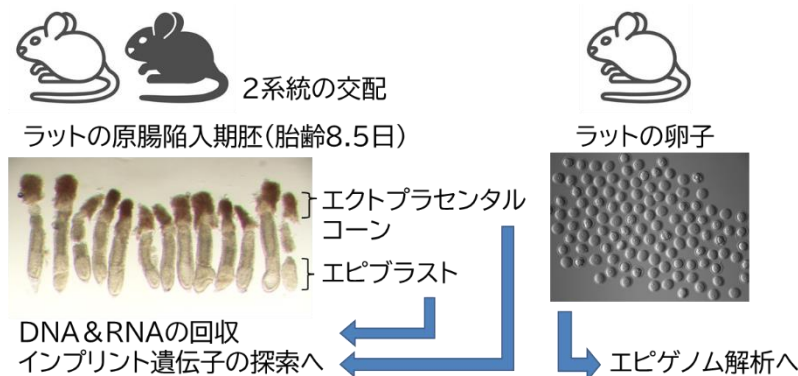


図3. 本研究でのラットサンプル回収と解析

インプリント遺伝子の探索のため、2系統ハイブリット胚およびラット卵のマルチオミクス解析(エピゲノム、遺伝子発現)を実施。

解析の結果、ラットにおいて典型的インプリンティングの制御下にある 19 遺伝子、非典型インプリンティングの制御下にある 11 遺伝子を同定することに成功しました。後者のうち8遺伝子は、マウスではインプリント発現を示しておらず、また人間を含む他の哺乳動物でもインプリントを受けている報告がないことから、ラットでのみ成立しているインプリント遺伝子、つまりラット特異的インプリント遺伝子であることが明らかとなりました。これらの遺伝子は、エクトプラセンタルコーンつまり胎盤系列の細胞でのみ父由来発現するなど、マウスで非典型的インプリンティングを受ける遺伝子と同じ特徴がもつことから、エピゲノム制御機構も同様に卵由来の H3K27me3 に制御されるものと考えられます。

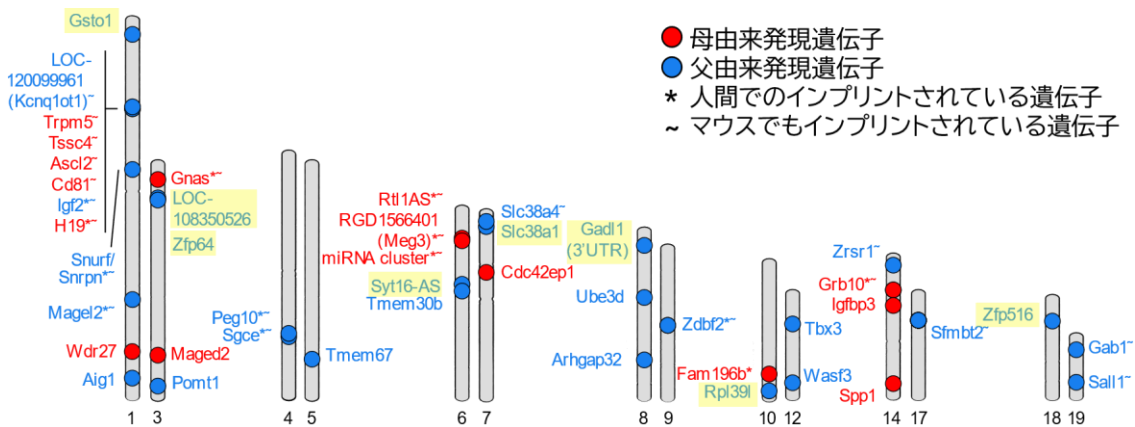


図4. ラットのインプリント遺伝子マップ

ラットの各染色体(数字)上で見つかったインプリント遺伝子および候補遺伝子の位置を示す。非典型的インプリンティングを受けている8遺伝子は黄色ハイライトで示す。

興味深いことに、ラットの卵のエピゲノム解析結果では、これらのラット特異的インプリント遺伝子付近に母由来の DNA メチル化マークらしき領域は見られず、代わりにヒストン修飾の H3K27me3 [4] に富む領域がみられることから、ラット・マウス間のエピゲノム状態の違い、すなわち多様性が種特異的なインプリント遺伝子を生み出していると考えられます(図5)。また、エピゲノムのみならず、ゲノムレベルでの違い(具体的には、レトロウイルス由来配列の挿入、ゲノム中のタンパク質結合部位の配列)により生じたと思われるラット特異的インプリント遺伝子も見つかりました。このように、ゲノム、エピゲノム(DNAメチル化、ヒストン修飾)、トランスクリプトームからなる複数の階層、つまりマルチオミクスを生物種間で比較することにより、マウス・ラット間で非典型的インプリンティングを受ける遺伝子の種間差が大きい、ひいては胎盤でのインプリンティングの種多様性に富んでいることが明らかとなり、それにはゲノムおよびエピゲノムの種間多様性に起因していることが示されました。

図 5. エピゲノム修飾とゲノムインプリンティングの多様性: DNAメチル化とヒストン修飾の綱引き? 哺乳動物の卵のエピゲノム



は、DNAメチル化と H3K27me3 が相反関係にある。各エピゲノム情報が書き込まれているゲノム領域は、種間で異なっている。今回明らかになったネズミ科(ラット・マウス)間の非典型的インプリンティングを受ける遺伝子の多様性には、卵のエピゲノムの種間差が関与していると考えられる。

ラットは、生理学・心理学や新薬開発など数々の生物医学研究分野で特にすぐれたモデル動物です。生理機能や行動に関連する刷り込み遺伝子の機能的解析は、本来ラットを利用した研

究が推進されてしかるべきでしたが、ゲノムインプリンティング機構を含む発生遺伝学研究の歴史的背景から、遺伝モデルとしてのラットは長い間ネズミ科の仲間であるマウスの後塵を拝してきました。本研究の成果により、ラットの大部分のインプリント領域が明らかとなり、ラットを用いた各インプリント遺伝子のより臨床に近い生理学・心理学的解析を実施する研究基盤が整ったと言えます。また、非典型的インプリンティングがネズミ科以外にも存在するかは現時点で不明であり、人間にも同様にメカニズムが存在するかの検証が今後重要となります。さらに種間比較において、マウス・ヒト間よりも明らかに進化的距離が短いマウス・ラット間でさえも、胎盤特異的インプリントに多様性がみられることから、胎盤のゲノムインプリンティング機構の進化速度が速いことが考えられます。このようにマウス・人間以外の第3の動物を加えた3点比較(あるいはそれ以上)による比較発生的な解析は、人間を含む生物の発生プロセスあるいは関連する疾患メカニズムの解明に繋がる強力なツールであることが改めて示されました。

【用語解説】

[1] エピゲノム修飾(Epigenome)

細胞には、自身の膨大なゲノム情報から必要な情報だけを取り出すためのゲノムの取扱説明書のような機構が備わっており、これをエピジェネティック機構という。エピジェネティック機構の分子実体は、DNA メチル化などの DNA 自体への化学修飾と、DNA を収納するタンパク質であるヒストンへの化学修飾が主である。これらの化学修飾(エピジェネティック修飾)がゲノム内の適切な場所に配置することで、必要に応じた遺伝子を発現させることができる。

[2] ゲノムインプリンティング機構(Genomic imprinting)

卵と精子では、互いに異なるゲノム領域にエピジェネティック修飾が刻まれており、この一部が受精後も受け継がれることで、父親由来の染色体と母親由来の染色体のどちらか一方のみが機能を発揮する。このような遺伝子発現の制御機構をゲノム刷り込みという。刷り込み遺伝子は、ゲノム刷り込みを受ける遺伝子のこと。

[3] マルチオミクス(Multi-omics)

人体の機能を司る様々な物質を、一つひとつではなく、すべて一括して分析する手法で、“ミクス”は網羅的解析を意味する。分析対象によって、ゲノミクス(ラット、マウスなどのゲノム配列情報)、エピゲノミクス(各細胞の DNA メチル化、ヒストン修飾などのエピゲノム情報)、トランスクリプトミクス(各遺伝子より発現した RNA の量)などに分かれる。

[4] H3K27me3

細胞核内のクロマチン(ゲノム DNA が格納されている)のヒストンタンパク質のうち、ヒストン H3 テールの 27 番目のリシンにメチル基が3つ付加された状態。一般的に、遺伝子発現の抑

制に機能する。非典型的インプリンティングでは、卵からのインプリント記憶として、受精後に引き継がれる。

【発表論文】

掲載名: *Genome Biology* (英国 BioMed Central 社が発行するオンライン科学雑誌)

タイトル: Conservation and divergence of canonical and non-canonical imprinting in murids(ネズミ科における典型的・非典型的インプリンティングの保存性と多様性)

著者: Julien Richard Albert, Toshihiro Kobayashi, Azusa Inoue, Ana Monteagudo-Sánchez, Soichiro Kumamoto, Tomoya Takashima, Asuka Miura, Mami Oikawa, Fumihito Miura, Shuji Takada, Masumi Hirabayashi, Keegan Korthauer, Kazuki Kurimoto, Maxim Greenberg, Matthew Lorincz, Hisato Kobayashi

掲載日: 2023年3月14日

DOI: 10.1186/s13059-023-02869-1

【共同研究グループ】

・奈良県立医科大学 発生・再生医学講座

准教授 小林 久人

教授 栗本 一基

研究員 高島 友弥

・東京大学 医科学研究所

准教授 小林俊寛

助教 及川真美(現所属:東京薬科大学)

・理化学研究所 生命医科学研究センター 疾患エピゲノム遺伝研究チーム

チームリーダー 井上 梓

・東京農業大学 生物資源ゲノム解析センター

研究員 隈本 宗一郎(現所属:早稲田大学)

研究員 三浦 明日香

・九州大学大学院 医学研究院

准教授 三浦 史仁

・国立成育医療研究センター システム発生・再生医学研究部

部長 高田 修治

・生理学研究所 行動・代謝分子解析センター 遺伝子改変動物作製室

准教授 平林 真澄

・パリ・シテ大学 ジャック・モノー研究所

研究員 Julien Richard Albert
グループリーダー Maxim Greenberg
・ブリティッシュコロンビア大学
教授 Matthew Lorincz
助教 Keegan Korthauer

【研究費】

日本学術振興会 科学研究費助成事業(KAKENHI)
・基盤研究(B)(21H02382)(代表:小林 久人)
・新学術研究領域(研究領域提案型)(18H05548)(計画班代表:小林 俊寛、栗本 一基)
・新学術研究領域(研究領域提案型)(19H05754)(計画班代表:井上 梓)

【謝辞】

文部科学省
・共同利用・共同研究拠点「生物資源ゲノム解析拠点」(東京農業大学)
・大学共同利用機関法人自然科学研究機構(生理学研究所)

【問い合わせ先】

奈良県立医科大学 発生・再生医学講座
准教授 小林 久人
E-mail: hiskobay@naramed-u.ac.jp
教授 栗本 一基
E-mail: kurimoto@naramed-u.ac.jp
TEL: 0744-29-3015

【取材申し込み先】

奈良県立医科大学 研究推進課
E-mail: sangaku@naramed-u.ac.jp
TEL: 0744-22-3051