

発生最初期の遺伝子スイッチの作り方

—不妊症メカニズムの解明に向けて—

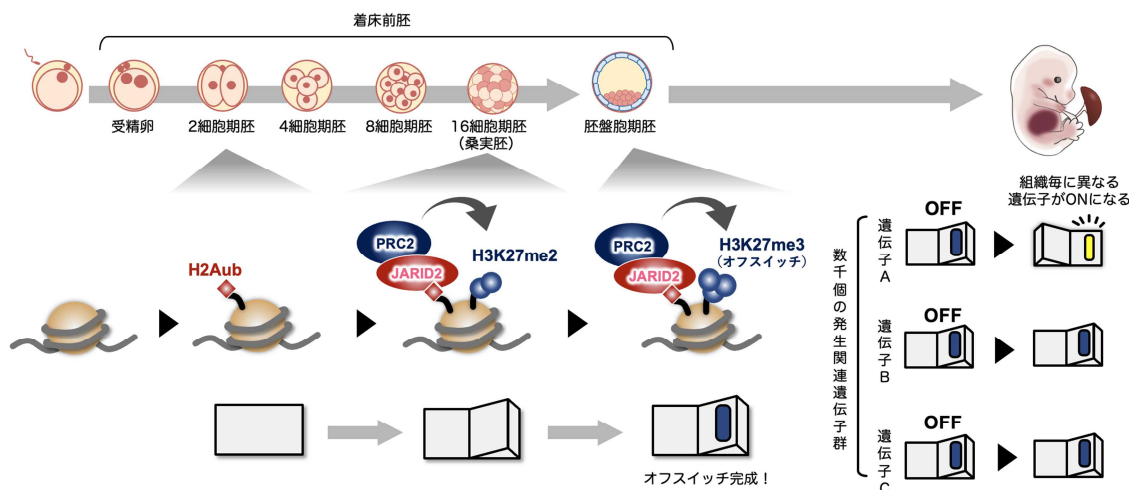
概要

理化学研究所（理研）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の井上梓チームリーダーらの研究チームは、マウスを用いて、胎児の発育に向けて着床前胚の中で遺伝子のオフスイッチが作られる仕組みを解明しました。

本研究成果は、不妊症や不育症の原因解明や新たな着床前診断法の開発など、将来的に生殖補助医療に貢献することが期待されます。

受精から赤ちゃんの誕生へと至る複雑な発生過程では、“発生関連遺伝子”と呼ばれる数千個の遺伝子群が特定の発生段階や器官で適材適所に活性化します。この仕組みには、器官形成が始まる前にいったん全ての発生関連遺伝子を「オフ」にしておき、必要な場面でのみ「オン」にするというシステムが鍵を握ります。このオフスイッチの分子実体は、DNA を核内に収納するヒストンタンパク質への化学修飾（ヒストン修飾^[1]）です。本研究では、最新のテクノロジーを用いて、オフスイッチが着床前の初期発生過程で作りに上げられる様子を初めて捉え、その機構の一端を明らかにしました。

本研究は、科学雑誌『*Nature Cell Biology*』オンライン版（10 月 31 日付：日本時間 10 月 31 日）に掲載されます。



着床前の初期発生過程で段階的に作られるオフスイッチ

背景

卵子と精子が受精することで生命誕生に向けたプロセスが開始されます。一つの受精卵は2細胞、4細胞、…と分裂を繰り返し、哺乳類では、約100個の細胞から成る胚盤胞（はいばんほう）まで発生した後、着床に至ります。着床後にはさまざまな発生・分化シグナルに応じて器官が形成されます。

その過程では、特定の発生段階や特定の器官で数千個の重要な遺伝子（発生関連遺伝子群）が適材適所に活性化します。この巧妙な仕組みを働かせるためには、器官形成が始まる前にいったん全ての発生関連遺伝子をオフ状態にしておく必要があります。例えるなら、あらかじめ全ての部屋を消灯しておいて、使う部屋の電気だけをつけるイメージです。オフスイッチの分子本体は、DNAを核内に収納するヒストンタンパク質への化学修飾の一つ、H3K27（ヒストンH3の27番目リジン残基）のトリメチル化修飾（H3K27me3）^[1]です。H3K27me3が適切に確立されないと、その後の器官形成に異常を来し、胚発生が停止してしまいます。そのため、初期発生過程でH3K27me3がどのように確立されるかという問題は発生学的に重要であり、注目を集めていました。しかし、ごく少数の細胞で構成される希少な初期胚のエピジェネティクス（後成遺伝学）解析には技術的な制約が多く、この問題は未解決でした。

研究手法と成果

発生関連遺伝子群のH3K27me3は胚盤胞期に確立し始めます。研究チームは、その確立に至る過程を詳細に調べることを目的に、H3K27me3の前駆体であるH3K27ジメチル化修飾（H3K27me2）^[1]がいつどのように確立されるかを解析することにしました。そのために、500個程度の細胞からヒストン修飾のゲノム内分布を高解像度に分析できる最新の微量クロマチン免疫沈降シーケンス法^[2]を用いて、マウスの着床前胚におけるH3K27me2の動態を調べました。その結果、H3K27me2はH3K27me3に先行する形で、8から16細胞期胚（桑実胚（そうじつはい））にかけて確立されることが分かりました（図1A、B）。

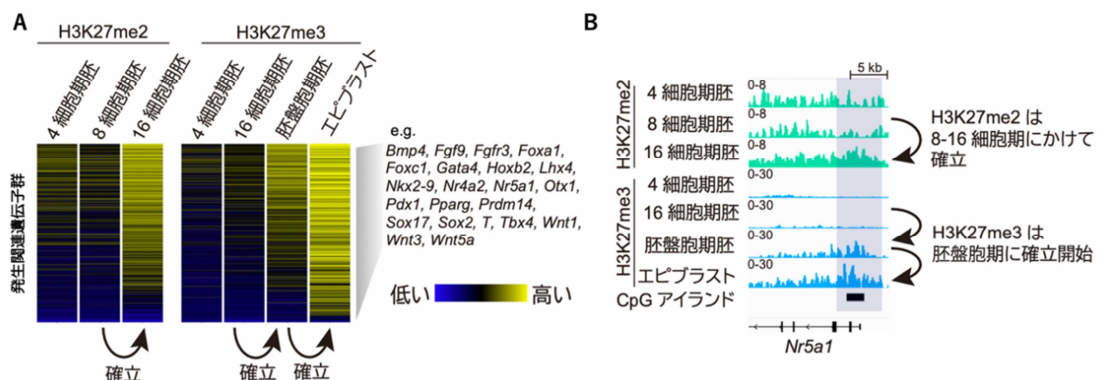


図1 発生関連遺伝子の転写開始点付近におけるH3K27me2、H3K27me3の動態

(A) 約1,000個の発生関連遺伝子群のプロモーター領域におけるヒストン修飾の量をヒートマップで示

す。右側の遺伝子名は発生関連遺伝子群の一部。

(B) 代表的な遺伝子座のヒストン修飾量を示す。H3K27me2 は 8～16 細胞期にかけて、H3K27me3 は胚盤胞期以降に確立されることが分かる。

エピプラストは胚盤胞が着床した後、内部細胞塊から発達する細胞層。CpG アイランドはシトシン (C) とグアニン (G) の配列が集まっているポリコーン標的領域。

続いて、H3K27me2 の確立を担う因子を同定するために、H3K27 メチル化酵素であるポリコーン抑制複合体 2 (PRC2)^[3] に着目しました。PRC2 を構成するさまざまなサブユニットの遺伝子発現量を調べたところ、PRC2 のサブタイプの一つ PRC2.2^[3] を構成するアクセサリサブユニットである JARID2 の発現量が 8 細胞期以降で大きく上昇していました (図 2A)。そこで再び微量クロマチン免疫沈降シーケンス法を用いて、16 細胞期における JARID2 と PRC2 のコアサブユニットである SUZ12 のゲノム内分布を調べたところ、JARID2 は SUZ12 とともに発生関連遺伝子群に集積していることが分かりました (図 2B)。

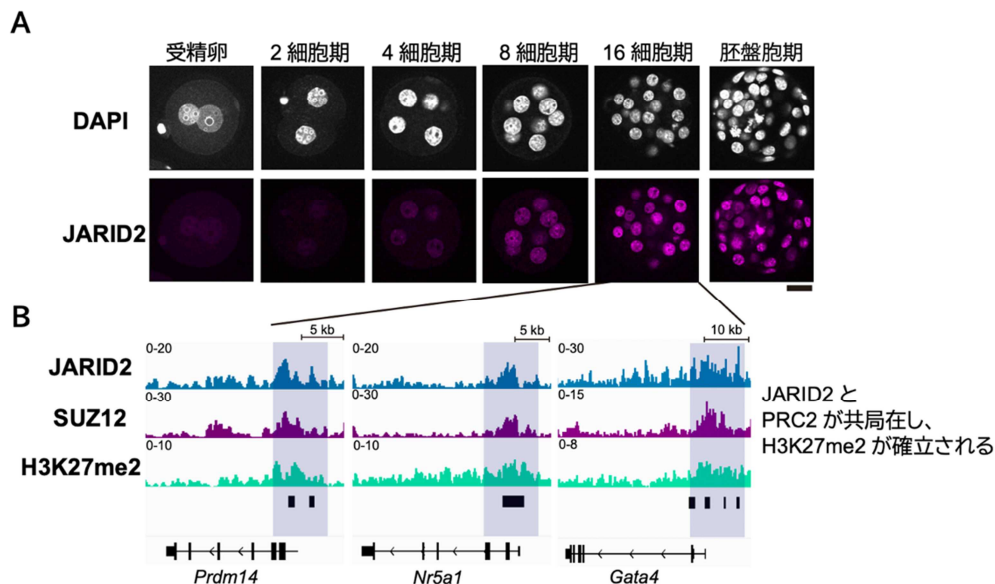


図 2 着床前胚における JARID2 の発現とゲノム内の分布

(A) JARID2 抗体を用いた免疫染色の結果を示しており、JARID2 の発現が 8 細胞期以降で大きく上昇することが分かる。DAPI は DNA を示す。右下のスケールバーは 20 マイクロメートル (μm 、 μm は 100 万分の 1 メートル)。

(B) 16 細胞期胚において、JARID2 と H3K27me2 に加えて、PRC2 のコアサブユニットの一つである SUZ12 が発生関連遺伝子の制御領域に蓄積する。

JARID2 が H3K27me2 の確立に必要なかどうかを調べるために、次に *Jarid2* 遺伝子を欠損させた胚を作製しました (図 3A)。微量クロマチン免疫沈降シーケンス法による詳細な解析の結果、*Jarid2* 欠損胚では発生関連遺伝子群への PRC2 の結合量が低下し、H3K27me2 が確立されないことが分かりました (図 3B、C)。さらに *Jarid2* 欠損胚では、胚盤胞期において H3K27me3 が確立されませんでした (図 3D、E)。これらの結果から、JARID2 を含む PRC2.2 が H3K27 メチル化の新規確立を担うことが分かりました。

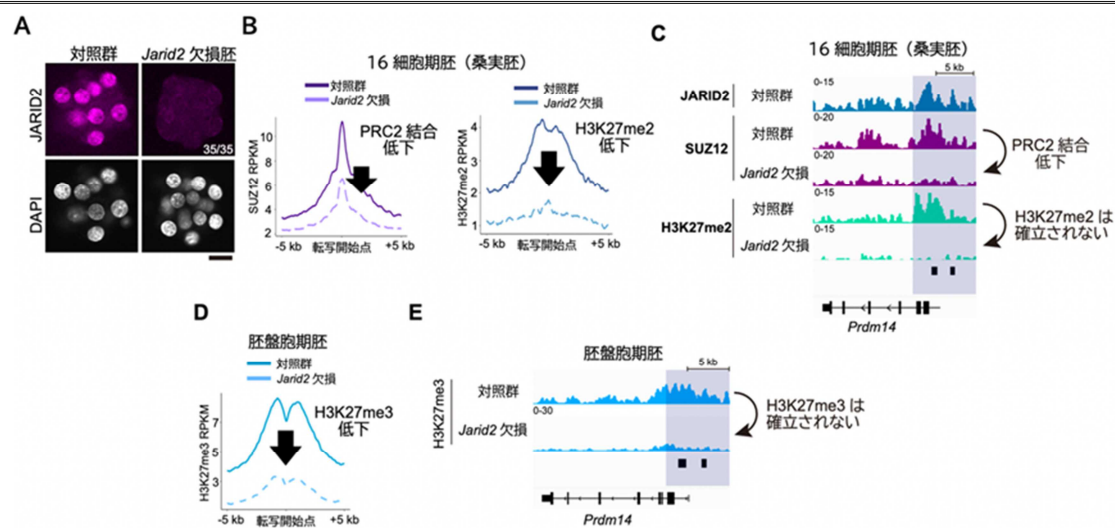


図 3 *Jarid2* 欠損胚における H3K27 メチル化と PRC2 のゲノム内分布

- (A) 桑実胚における JARID2 の免疫染色。JARID2 がノックアウトされていることが分かる。スケールバーは 20 μ m。
 (B、C) *Jarid2* 欠損桑実胚では発生関連遺伝子における PRC2 の結合が低下し、H3K27me2 が確立されない。
 (D、E) *Jarid2* 欠損胚盤胞では H3K27me3 が確立されない。

JARID2 はヒストン H2A のモノユビキチン化修飾 (H2Aub) に結合する活性を有します。井上チームリーダーらは以前の研究で、発生関連遺伝子には 2 細胞期の段階で H2Aub が導入されることを見いだしていました^{注 1)}。今回の研究での発見を合わせると、H3K27me3 は、H2Aub $\rightarrow$ JARID2-PRC2.2 $\rightarrow$ H3K27me2 $\rightarrow$ H3K27me3 という段階的な経路で新規確立されることが強く示唆されました (図 4)。

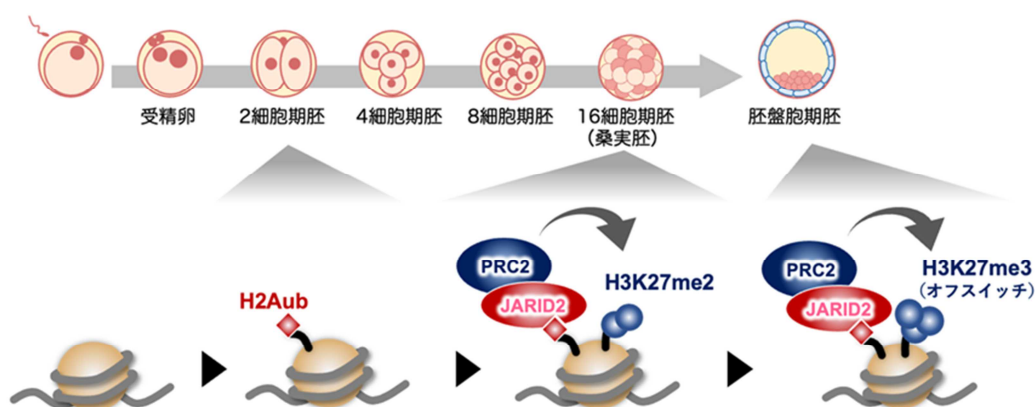


図 4 H3K27me3 の新規確立に至る分子経路のモデル

2 細胞期に導入された H2A モノユビキチン化修飾 (H2Aub) に JARID2 が結合し、ポリコム抑制複合体 2 (PRC2) がリクルートされて桑実胚期に H3K27me2 が導入される。そして胚盤胞期にオフスイッチ (H3K27me3) ができ上がると考えられる。

注 1) 2021 年 4 月 6 日プレスリリース「卵の記憶は胎盤へ」

https://www.riken.jp/press/2021/20210406_1/

Mei, H. et al. H2AK119ub1 guides maternal inheritance and zygotic deposition of H3K27me3 in mouse embryos. Nat. Genet. 53, 539–550 (2021).

今後の期待

着床前胚は一見単純な細胞塊のように映ります。しかし、実はその内部では、胎児の発育に向けて、ゲノム環境の整備を着々と進めていることが分かりました。本成果は、遺伝子オフスイッチの作られ方という基礎的で重要なテーマを解明しただけでなく、将来的に生殖医療にも貢献し得るものです。例えば、生殖補助医療では着床前胚を体外で扱ったり凍結させたりしますが、そのような操作がオフスイッチの確立にどのような影響を及ぼすかといった、新たな視点からの生殖医療研究につながることを期待されます。今後は同様の機構がヒトでも保存されているかどうかの解明が待たれます。

論文情報

<タイトル>

H3K27 di-methylation dynamics reveal stepwise establishment of facultative heterochromatin in early mouse embryos

<著者名>

Masahiro Matsuwaka, Mami Kumon and Azusa Inoue

<雑誌>

Nature Cell Biology

<DOI>

10.1038/s41556-024-01553-1

補足説明

[1] ヒストン修飾、H3K27（ヒストン H3 の 27 番目リジン残基）のトリメチル化修飾（H3K27me3）、H3K27 ジメチル化修飾（H3K27me2）

DNA はヒストン 8 量体に巻き付いて核内に収納される。ヒストンには H2A、H2B、H3、H4 の 4 種類があり、ヒストンの N 末端テールにさまざまな化学修飾が付加される（ヒストン修飾）。H3K27me3 はヒストン H3 の 27 番目のリジン残基（K）に三つのメチル基が付加（トリメチル化）したものであり、遺伝子抑制に働く。同様に H3K27me2 は H3K27 に二つのメチル基が付加（ジメチル化）したものであり、me3 に向けた中間体としての役割の他に、遺伝子活性化に働く H3K27 アセチル化を阻害する機能を有する。ヒストン修飾がクロマチン上の適切な場所に配置される機構については、現在世界中で活発に研究が行われている。本研究もその一つと位置付けられる。

[2] 微量クロマチン免疫沈降シーケンス法

クロマチン（染色体）を 200~400 塩基対（bp）ごとに細断し、特定のヒストン修飾やタンパク質に対する特異的抗体を用いてクロマチン断片を免疫沈降させる。免疫沈降させたクロマチン断片から DNA を抽出し、次世代シーケンサーでその配列を読む

ことで、ヒストン修飾やタンパク質の結合箇所を同定することができる。この手法には従来 100 万個以上の細胞が必要であったが、近年の技術革新の結果、1,000 個以下の細胞でも解析可能な微量クロマチン免疫沈降シーケンス技術が確立されている。研究チームは、その黎明期から開発・応用に携わっており、世界最高水準の技術を有する。

[3] ポリコーム抑制複合体 2 (PRC2)、PRC2.2

PRC2 は H3 の N 末端から 27 番目のリジン残基 (H3K27) にモノメチル→ジメチル→トリメチルの順に段階的にメチル基を付与する。PRC2 は SUZ12 を含むコアサブユニットと、クロマチンへの結合を制御するアクセサリサブユニットから構成される。アクセサリサブユニットの違いにより PRC2.1 と PRC2.2 という二つの異なる複合体を形成する (コアサブユニットは共通)。PRC2.2 のアクセサリサブユニットには JARID2 が含まれる。PRC2.1 と PRC2.2 がどのように使い分けられているかはよく分かっておらず、現在のポリコーム研究分野の焦点の一つとなっている。PRC は polycomb repressive complex の略。

研究チーム

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 (イノウエ・アズサ)
テクニカルスタッフⅡ	公文麻美 (クモン・マミ)
大学院生リサーチ・アソシエイト	松若正篤 (マツワカ・マサヒロ)

研究支援

本研究は、文部科学省科学研究費助成事業新学術領域研究 (研究領域提案型) 「全能的プログラム: デコーディングからデザインへ (領域代表者: 小倉淳郎)」における「全能的消失時のエピゲノム制御機構の解明 (研究代表者: 井上梓)」、RIKEN Pioneering Projects 「Genome building from TADs (研究分担者: 井上梓)」 「Long-timescale molecular chronobiology (研究分担者: 井上梓)」、日本医療研究開発機構 (AMED) 革新的先端研究開発支援事業 PRIME 「経世代ヒストン修飾を介した疾患素因の形成機構 (研究代表者: 井上梓)」、理研の大学院生リサーチ・アソシエイト制度による助成を受けて行われました。

発表者・機関窓口

<発表者> ※研究内容については発表者にお問い合わせください。

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 (イノウエ・アズサ)

Tel: 045-503-7066 Fax: 045-503-7064

Email: azusa.inoue [at] riken.jp



井上 梓

<機関窓口>

理化学研究所 広報室 報道担当

Tel: 050-3495-0247

Email: ex-press [at] ml.riken.jp

※上記の[at]は@に置き換えてください。
