

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 早川 晃司

エピジェネティック機構のひとつである DNA メチル化はゲノムに起こる唯一の化学修飾である。ゲノムの大部分を占める、繰り返し配列に代表される非遺伝子領域のほとんどは高度にメチル化され、形態的にも識別されうるヘテロクロマチンの記載は古くから DNA メチル化領域として認識されてきた。遺伝子領域でも DNA がメチル化されるとクロマチン構造の凝集を伴い不活発な領域となることが知られている。これまでに、多くの遺伝子が細胞・組織依存的にメチル化されうる領域 (T-DMR) を持ち、遺伝子領域の不活性化を起こしていることが明らかになっている。逆にいえば、遺伝子の利用可能領域と不可能領域が DNA メチル化で区別され、数百種類に及ぶ細胞の多様性を生み出し哺乳類の体が出来上がっている。ここで生じる新たな疑問は、どのような遺伝子が T-DMR を有しているのか？である。少なくとも、非遺伝子領域の繰り返し配列が DNA メチル化の標的となっていることを考えると、遺伝子ファミリーは格好の標的になり得る。哺乳類のゲノム上には多くの遺伝子ファミリーが存在しており、そのことが哺乳類のゲノムの特徴と考えて差し障りはない。遺伝子ファミリーは、ゲノム上の一部でクラスターを形成するものと、ゲノム上に散在するもの (非クラスター) とに大別され、さらに CpG 配列が豊富であるか乏しいかでも分類されうる。本論文はマウスの遺伝子ファミリーに焦点をあてたゲノムワイド DNA メチル化研究で、三章よりなる。

第一章ではクラスターを形成するプロラクチン (*Prl*) 遺伝子ファミリーの DNA メチル化解析が行われた。マウスのゲノム上には、*Prl* の重複によって派生したと考えられる *Prl* 様遺伝子が存在し、それらは 13 番染色体上で約 1 Mb の *Prl* ファミリー遺伝子クラスターを形成している。*Prl* は下垂体でのみ発現するのに対し、*Prl* 様遺伝子は主に胎盤で発現している。胎盤および成体脳と肝臓における *Prl* ファミリー遺伝子の転写開始点近傍の DNA メチル化状態が解析され、全 *Prl* ファミリー遺伝子メンバーに T-DMR が見出された。また、*Prl* 遺伝子ファミリーの DNA メチル化パターンが転写方向および組織特異的な発現様式と関連していた。このことから、組織依存的な DNA メチル化状態の獲得には、遺伝子重複時の転写方向の変化が関連していることが示された。ここで解析された *Prl* ファミリー遺伝子はゲノム上でクラスターを形成し、CpG 頻度の低い、げっ歯類でのみ認められる遺伝子群である。

第二章では *Rhox* (クラスター、CpG 頻度高、ヒトとマウス共通)、*Hoxa* (クラスター、CpG 頻度高、哺乳動物共通)、リンカーヒストン *Hi* (一部クラスター、CpG 頻度高、哺乳動物共通)、シアル酸転移酵素 (*St*) (非クラスター、CpG 頻度高、哺乳動物共通)、*Fox* (非クラスター、CpG 頻度高、哺乳動物共通) の 5 つの遺伝子ファミリーの DNA メチル化状態が解析された。その結果、いずれの遺伝子ファミリーも T-DMR を有していることが明らかとなった。これら遺伝子ファミリーの DNA メチル化パターンは、*Rhox* で 3 群、*Hoxa* は 3 群、*Hi* は 4 群、*St* は 4 群、*Fox* は 4 群に分類された。ゲノム上の位置とメチル化パターンの関係は、*Rhox* ではメチル化パターンによって 3 区画に分かれ、*Hoxa* は常に違うメチル化パターンの T-DMR を有する遺伝子が隣り合うようにクラスター内で整列し、*Hi* においてはクラスター内に位置する遺伝子は同様のメチル化パターンを示した。

第三章では、前章で解析したリンカーヒストン H1 遺伝子ファミリーに属する卵子特異的メンバー *H1foo* について、DNA メチル化によるサイレント化が阻害されたら何が起るのか解析された。野生型胚性幹細胞 (ES 細胞) と *H1foo* 強制発現 ES 細胞 (*H1foo*-ES 細胞) の解析結果、*Nobox* など卵子特異的遺伝子群 11 領域の DNA メチル化状態が、卵ゲノムと類似していることが判明した。これらの領域には *H1foo* が結合していることもクロマチン免疫沈降法により明らかになった。また、野生型 ES 細胞と異なり *H1foo*-ES 細胞では胚様体 (EB) 形成も阻害され、その際、通常はメチル化されるべき Oct4-Nanog 標的遺伝子など約 30 遺伝子が低メチル化のままであった。*H1foo* は卵あるいは未分化状態の維持に必要なエピゲノムに寄与していることを示す興味深い結果が得られた。正常に分化するためにはメチル化される必要があるのである。遺伝子ファミリーのメチル化パターンも細胞の多様性の基礎になっていると考えて矛盾しない。

以上、本論文では遺伝子ファミリーを形成している遺伝子群が DNA メチル化領域を有していることが明らかになった。進化の過程における遺伝子重複や染色体増加とエピジェネティクス機構の成立との関係を知る基盤情報が得られたことになる。これらの発見は遺伝子制御の基礎として重要であるばかりでなく、動物の生産手段の新たな取り組みにつながる可能性も示され、応用研究としても新たな視点を提供している。よって、審査委員一同は、本論文が博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認めた。