

ヘテロクロマチン

構造形成と維持の分子メカニズム

中山潤一

ヘテロクロマチンは高度に凝集したクロマチン構造であり、遺伝子の発現を安定に維持するばかりでなく染色体の機能にも重要な役割を果たしている。ここ数年の研究によって、ヘテロクロマチン構造の分子レベルの理解が飛躍的に進展した。特にヘテロクロマチンの高次の構造は、ヒストンのメチル化修飾酵素とメチル化されたヒストンを認識して結合するクロマチン蛋白質によって形成されていることが明らかになった。さらに興味深いことに、ヘテロクロマチン領域を最初に規定するメカニズムには、蛋白質をコードしていない非翻訳 RNA の関与が報告されている。ヘテロクロマチン構造形成に関わる分子メカニズムの解明によって、染色体の機能維持と遺伝子の安定な発現調節という二つの側面において、発がん過程との関連が明らかにされつつある。

Key word ヒストン, メチル化, HP-1, HMTase, RNAi

ヘテロクロマチンとは、顕微鏡を用いて細胞の核を染色して観察した際に、他の核質に比較して濃く染色される領域として 60 年以上も前に定義された言葉であり、淡く染色される他の核質部分を指す「ユークロマチン」との対比で用いられる(図 1)。間期の核においてヘテロクロマチンは常に凝集したままの構造を維持しているため、不活性な染色体領域と考えられてきた。実際にその後の研究によって、¹⁾ヘテロクロマチン領域には遺伝子がほとんど存在しない、²⁾減数分裂期の組換えがほとんど起こらない、³⁾細胞周期S期の後期に複製される、などの特徴を持つことが示された。遺伝子の研究が隆盛を極めた時代において、遺伝子をほとんど含まないヘテロクロマチンについての研究は、あまり研究者を魅了することはなかった。しかし、近年の研究によって、上記の定義に当てはまるような典型的なヘテロクロマチンだけでなく、染色体には広義な意味においてヘテロクロマチンと定義づけられる様々な染色体領域が存在していること、さらに、典型的なヘテロクロマチン構造に関する分子メカニズムが明らかにされるにつれ、同様なメカニズムが様々な遺伝子の発現制御に重要な働きをしていることが明らかになってきた。本稿では、ここ数年で明らかにされたヘテロクロマチン構造を形成する分子メカニズムを詳述するとともに、発がん過程におけるヘテロクロマチンの

果たす役割を簡単に紹介したい。

ヘテロクロマチンの構造

ヘテロクロマチンは大きく二種類に大別できる。一つは構造的(constitutive)ヘテロクロマチンであり、セントロメアの近接領域や染色体末端のテロメアなど、他の染色体領域と隔てられた染色体テリトリーを持つ特異な領域に存在している。この構造的ヘテロクロマチン領域には、ほとんどの場合単純な繰り返し配列やトランスポゾンなどのレトロエレメントが存在し、細胞周期や発生・分化の段階を通じて常に凝集した状態を維持している。もう一種類のヘテロクロマチンは選択的、あるいは随意(facultative)ヘテロクロマチンと呼ばれ、本来ユークロマチンとしての特性を持つ染色体領域が、発生や分化の段階で前者の構造的ヘテロクロマチンとよく似た凝集構造を形成する。選択的ヘテロクロマチンの最も良く知られた例が、哺乳類動物細胞で見られる不活性化X染色体である。哺乳類では性染色体としてオスがXY、メスがXXを持っているが、メスの二本のX染色体のうち一本のX染色体が発生の段階でランダムに選択されて、高度に凝集するとともに不活性化を受ける。これはX染色体上の遺伝子量の補正に必要な現象と考えられているが、一度不活性化されたX染色体はその後の細胞周期を通

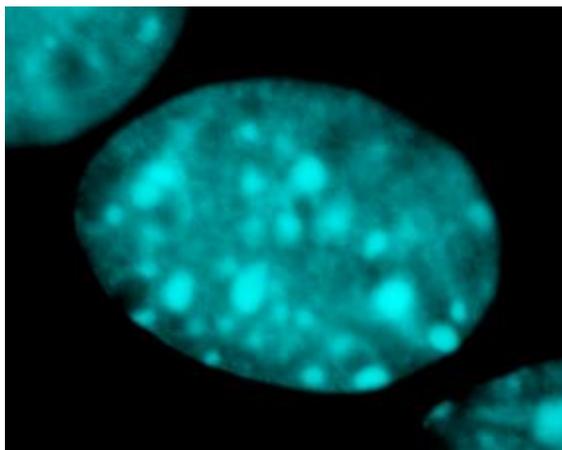


図1 マウス細胞におけるヘテロクロマチン

マウス NIH3T3 細胞を DAPI で染色した像 (提供: 早川智博博士)

じて凝集したままの状態を維持しており、構造的ヘテロクロマチンと非常によく似た構造を持つと考えられている。不活性化Xの例では、染色体レベルでヘテロクロマチン化するという大きな構造変化を受けるが、染色体上にはマイクロなレベルの不活性化領域が多く存在し、後述するように細胞増殖や発生・分化における遺伝子の発現調

サイド
メモ

DNA のメチル化とヒストンのメチル化

哺乳類のゲノムにおいて、DNA のシトシン、特に CpG のメチル化は様々な遺伝子の上流に位置し、遺伝子の発現制御ばかりでなく、がん化の過程に重要な働きをしていることが明らかにされている²³⁾。最近、メチル化 DNA のモデル生物であるシロイヌナズナとアカパンカビを用いた遺伝学的な解析によって、ヒストン H3-Lys9 のメチル化酵素に変異が入ることで、ゲノム中の DNA のメチル化が失われるという興味深い報告がされている^{24,25)}。最近哺乳類細胞においても、ヒストン H3-lys9 のメチル化酵素 Suv39h1 と DNA メチル化酵素 Dnmt1 が相互作用し、Suv39h1/Suv39h2 をノックアウトしたマウスの細胞では、セントロメアなど構造的ヘテロクロマチンの DNA メチル化が減少する事が報告されている²⁶⁾。これらの結果より、DNA のメチル化とヒストンのメチル化修飾は、お互い協調して働くことで、遺伝子発現の安定な抑制状態を維持していると考えられる。がん化過程の観点からも今後の詳細な解析が期待される。

節に重要な働きをしていると考えられている。

セントロメアなど特徴的なヘテロクロマチン領域の DNA 一次配列が調べられた結果、サテライト DNA と呼ばれる数塩基からなる単位が数千にも繰り返す単純なリピート配列や、転写された RNA を介して増幅するレトロエレメントが多く存在することが明らかになっている¹⁾。また、セントロメアと同様のヘテロクロマチン構造を形成する染色体末端テロメアも、多くの生物種で単純な繰り返し配列から構成されていることが知られている。なぜセントロメアやテロメアなど、染色体の機能に重要な領域にリピート配列や転位因子からなるヘテロクロマチン構造が存在しているのか、その理由については完全には解明されていない。単純なリピート配列や転位因子は、ホストである細胞にとってゲノムを安定に保持・伝播する上で有害な配列であり、凝集したヘテロクロマチン構造を形成することで、その領域からの転写や組み換えを抑え、無秩序な増幅を抑制していると考えられる。このような不活性化特徴というものが、染色体を正確に分配するという機能領域に重要な性質を賦与していると推測される。分裂酵母を用いた研究によって、ヘテロクロマチン構造がセントロメアを中心とした染色体同士の対合に重要であるという報告がある²⁾。染色体間の対合という現象が、セントロメア領域にヘテロクロマチンが存在する理由かどうかは今後明らかにされるべき課題と考えられる。

ヘテロクロマチンを構成する蛋白質

典型的なヘテロクロマチン領域には、サテライト DNA やレトロエレメントなど特徴的な DNA 配列が存在しているが、発生や分化の段階に伴って不活性化される選択的ヘテロクロマチンでは、DNA 配列によって一義的にヘテロクロマチンが規定されるわけではない。最近の研究の進展によって、ヘテロクロマチン構造の形成には特徴的なヒストンの修飾が共通に存在し、その修飾を認識して結合する構造蛋白質が、凝集クロマチン構造形成に重要な役割を持つことが明らかになってきた。

染色体クロマチンの基本単位であるヌクレオソームを構成するコアヒストン(H2A, H2B, H3, H4)は、安定な八量体を形成するのに必要なカルボキシル末端側の「フォールドドメイン」と、特定の二次構造を持たないアミノ末端側の「テールドメイン」という二つのドメインを持っており、テールドメインは細胞内で、アセチル化、メチル化、リン酸化、ユビキチン化など様々な翻訳後修飾を受けることが知られている(図 2A)。アセチル化ヒストンを特異的

たカルボキシ末端側にクロモシヤドウドメイン(CSD)を持ち、分裂酵母からヒトまで良く保存された蛋白質である⁶⁾。HP-1はヘテロクロマチン構造の維持に重要な役割を果たすことが知られていたが、どのようにクロマチンに結合しているのかは不明であった。2000年になって、同じく変異によってPEVを抑圧するSu(var)3-9の遺伝子産物とその相同蛋白質(ヒト:SUV39H1, 分裂酵母:Clr4)が、ヒストンH3の9番目のリジン(H3-Lys9)を特異的にメチル化する酵素(HMTase: histone methyltransferase)であることが報告された⁷⁾。Su(var)3-9は、HP-1と同じクロモドメインをN末端側に、また進化的によく保存されたSET(Su(var), E(z), trithorax)ドメインをC末端側に持っており、実際の酵素活性はC末端側のSETドメインに存在する。その後、このLys9がメチル化されたヒストンH3が、実際にヘテロクロマチン領域に特異的に局在すること、またHP-1(分裂酵母Swi6)はクロモドメインを介してメチル化修飾されたヒストンH3に直接結合し、ヘテロクロマチン領域に局在することが示された⁸⁾(図2B)。このようにセントロメアなどの構造的ヘテロクロマチンの高次の構造は、H3-Lys9のメチル化修飾と、それを認識して結合するHP-1によって説明されるようになったが、同じような分子メカニズムが選択的ヘテロクロマチンにも共通していることが明らかになってきた。

ショウジョウバエの初期発生では、ホメオティック遺伝子群によっていったん確立された遺伝子発現パターンは、その後の発生段階において安定に維持される必要がある。この発現状態の安定な抑制に重要な働きをしているのがポリコム遺伝子群(PcG:polycomb group)である。このPcGに属するE(z)(Enhancer of zeste)は、Su(var)3-9と同じSETドメイン蛋白質であり、ヒストンH3の9番目と27番目のリジン(特に27番目)をメチル化するHMTaseであることが明らかにされた⁹⁻¹¹⁾。さらに同じPcGに属し、HP-1と同じクロモドメインを有するポリコム(Pc)が、実際に27番目がメチル化されたヒストンH3に特異的に結合することが報告された⁹⁻¹¹⁾(図2B)。PcGによって制御されている遺伝子領域が、広義の意味でヘテロクロマチンに属するかは議論の余地があるが、このE(z)の哺乳類相同蛋白質であるEzh2は、X染色体の不活性化に重要な働きを果たしており、実際に不活性化X染色体に27番目がメチル化されたヒストンH3が局在していることが明らかにされている¹²⁾(図2B)。以上、構造的ヘテロクロマチンと同じように、発生や分化の段階で制御されている選択的ヘテロクロマチンも、ヒストンH3のメチル化修飾

とそれを認識して結合するクロモドメイン蛋白質によって、高次のクロマチン構造を形成すると言う共通の分子メカニズムが明らかにされたのである。

このように、ヒストンのメチル修飾の持つ重要な役割が解明されたが、一方で残された課題としてメチル化修飾の数という問題がある。一つのリジン残基には mono-, di-, tri- と最大で3つのメチル基が修飾される(図2A)。異なる数のメチル化修飾が、それぞれ別の役割を持っているかどうかは明らかではないが、特異的な抗体を用いた最近の研究では、tri-まで修飾されたヒストンがヘテロクロマチンの構造形成には重要であることが示唆されている¹³⁾。

ヘテロクロマチン構造確立の分子機構

上述のようにヘテロクロマチンの構造がヒストンのメチル化修飾と、その修飾を認識して結合するクロモドメイン蛋白質によって形作られる凝集構造であることが明らかになったが、依然として「何がヘテロクロマチン領域を決めるのか？」という根本的な疑問が残されている。ヘテロクロマチンに限らず、高次のクロマチン構造にはその構造を確立する「establish」の過程と、一度確立した高次構造をその後の細胞分裂を通じて維持していく「maintenance」という二つの重要な過程があると考えられる(表1)。最初に領域を確立する過程では、複数のメカニズムの存在が考えられている。ショウジョウバエのPcGによって制御される遺伝子の場合、PRE(polycomb repressive element)と呼ばれるシスのDNA配列が、PcG蛋白質を転写抑制領域にリクルートするのに重要な役割を果たしており、GAGAやPHO(pleiohomeotic)などのDNA結合蛋白質が、シスDNAへの結合に関与していることが示唆されている¹⁴⁾。また、ヒトの細胞のセントロメアにはアルフォイドDNAと呼ばれる171bpを基本単位とする周期的な繰り返し配列が存在する。この繰り返し配列に結合するCENP-B蛋白質は、セントロメアの機能に重要な働きをしていると考えられているが、この分裂酵母の相同蛋白質をコードする遺伝子を破壊した酵母株では、セントロメアにおけるH3-K9のメチル化とヘテロクロマチン蛋白質Swi6の局在が減少することが明らかにされている¹⁵⁾。このようにヘテロクロマチンの構造維持、あるいは領域の規定にシスのDNA配列を認識して結合するDNA結合蛋白質が大事な働きをする一方で、蛋白質をコードしていないRNAが関与する場合もある。哺乳類動物細胞におけるX染色体の不活性化では、Xistと名付

表1 ヘテロクロマチン構造形成にかかわる因子

	構造的ヘテロクロマチン (セントロメア)	選択的ヘテロクロマチン (不活性化X染色体)	PcGによる発現抑制 (ショウジョウバエHox遺伝子)
ヘテロクロマチンの確立	DNAシス配列	繰り返し配列 トランスポゾン	X不活性化中心 PRE
	DNA結合因子	CENP-B (?)	? GAGA (?), PHO (?)
	非翻訳RNA	shRNA (small heterochromatic RNA)	Xist RNA ?
ヘテロクロマチンの維持	ヒストンメチル化酵素	SUV39H1/Clr4	Ezh2 E(z)
	ヒストンの修飾部位	H3-K9	H3-K27 (K9) H3-K27
	メチル化ヒストン結合タンパク質	HP-1/Swi6	? Pc

けられた長い RNA の転写が引き金となって, Ezh2 を含むヒストンメチル化酵素がリクルートされX染色体の不活性化につながる事が報告されている¹²⁾. また興味深いことに, 分裂酵母では, 短い二本鎖 RNA によって引き起こされる, 配列特異的 RNA の転写後分解(RNAi)に関わる因子の遺伝子破壊によって, セントロメアでの H3-K9 のメチル化と Swi6 蛋白質の消失が見られ, ヘテロクロマチン構造に異常をきたすことが報告されている¹⁶⁾. 詳細な遺伝学的解析の結果, これらの RNAi 因子はヘテロクロマチンの「maintenance」ではなく「establish」の過程に重要なことが明らかにされた¹⁷⁾. この RNAi 因子が関与するヘテロクロマチン化のメカニズムは, 構造的ヘテロクロマチンに特徴的な単純なリピート配列やレトロエレメントを抑制する, 種間を通じて共通のメカニズムではないかと注目されている.

発がんヘテロクロマチン

ここ数年間の研究によってヘテロクロマチンの構造に関する分子レベルの理解が飛躍的に進展したが, ヘテロクロマチンの構造維持は発がんの過程とどのように関わっているのだろうか. ヘテロクロマチン構造の異常が及ぼす影響には大きく二つの段階があると思われる. 一つは染色体の機能レベルの影響が考えられる. 上述のように, 染色体の機能に重要なセントロメアやテロメアには大きな構造的ヘテロクロマチン構造が存在している. 分裂酵母では, これらのヘテロクロマチン構造を破壊させると, 染色体の脱落頻度の上昇や染色体分配の異常が観察される⁴⁾. また, 哺乳類のヒストン H3-K9 のメチル

化酵素である Suv39h1/Suv39h2 をともにノックアウトしたマウスでは, 染色体構造の不安定化と腫瘍化リスクの上昇が報告されており, ヘテロクロマチン構造の異常が発がん過程に関与していることを裏付ける結果と考えられる¹⁸⁾. またこのような染色体レベルの異常に加えて, ヘテロクロマチン構造の異常は個々の遺伝子の発現パターンを大きく変化させ, これが発がん過程, あるいは悪性化へ寄与していることが示唆されている. ヒストン H3 の 4 番目のリジンのメチル化は, 9 番目とは反対にユークロマチン領域を規定する修飾と考えられている. PrG とは反対に遺伝子の発現状態をオンのまま保つのに必要な TrxG (trithorax group) に属する ALL-1/MLL/HRX 蛋白質は, ヒストン H3 の 4 番目のリジンをメチル化する酵素であるが, しばしば急性白血病の点座部位に存在し, 融合蛋白質がヒストンのメチル化状態を変化させクロマチン構造を変化させることが, この病気の進行に関わっていると考えられている¹⁹⁾. また, PcG に属しヒストン H3-K9/K27 のメチル化酵素である Ezh2 は, 転移性の前立腺がんにおいて過剰発現しており, がん化の進行状態と深い関係があることが報告されている²⁰⁾. これが直接がん化への引き金になっているのか, あるいはがん化した結果を見ているのかは今後議論される必要があると考えられる. しかし, 細胞増殖の抑制に関わる因子の転写がヒストンのメチル化と HP-1 によって制御されている事実もあり^{21,22)}, 広義のヘテロクロマチン構造の変化が発がん化に重要な役割を果たしていることは明白であろう. 今後様々な研究分野においてクロマチン構造変化とがん化とのつながりが解明されていくものと期待される.

文献

- 1) Sullivan, B.A. et al.: Nat. Rev. Genet., **2**:584-596, 2001.
- 2) Nonaka, N. et al.: Nat Cell Biol., **4**:89-93, 2002.
- 3) Turner, B.M. et al.: Cell, **69**:229-236, 1992.
- 4) Ekwall, K. et al.: Cell, **91**:1021-1032, 1997.
- 5) Reuter, G. and Spierer, P.: Bioessays, **14**:605-612, 1992.
- 6) Jones, D.O. et al.: Bioessays, **22**:124-137, 2000.
- 7) Rea, S. et al.: Nature, **406**: 593-599, 2000.
- 8) Nakayama, J. et al.: Science, **292**: 110-113, 2001.
- 9) Cao, R. et al.: Science, **298**: 1039-1043, 2002.
- 10) Kuzmichev, A. et al.: Genes Dev., **16**: 2893-2905.
- 11) Czermin, B. et al.: Cell, **111**: 185-196, 2002
- 12) Plath, K. et al.: Science, **300**: 131-135, 2003.
- 13) Tamaru, H. et al.: Nat. Genet., **34**: 75-79, 2003.
- 14) Lyko, F. and Paro, R.: Bioessay, **21**: 824-832, 1999.
- 15) Nakagawa, H. et al.: Genes Dev., **16**: 1766-1778, 2002.
- 16) Volpe, T.A. et al.: Science, **297**: 1833-1837, 2002.
- 17) Hall, I.M. et al.: Science, **297**: 2232-2237, 2002.
- 18) Peters, A.H. et al.: Cell, **107**: 323-337, 2001.
- 19) Nakamura, T. et al.: Mol. Cell, **10**: 1119-1128, 2002.
- 20) Varambally, S. et al.: Nature, **419**: 624-629, 2002.
- 21) Nielsen, S.J. et al.: Nature, **412**: 561-565, 2001.
- 22) Ogawa, H. et al.: Science, **296**: 1132-1136, 2002.
- 23) Jones, P.A. and Baylin, S.B.: Nat. Rev. Genet., **3**: 415-427, 2002.
- 24) Tamaru, H. and Selker, E.U.:Nature, **414**: 277-283, 2001.
- 25) Jackson, J.P. et al.: Nature, **416**: 556-560, 2002.
- 26) Lehnertz, B. et al.: Curr. Biol., **13**: 1192-1200, 2003.