

タイトル :

長鎖非コード RNA による染色体ドメインレベルの遺伝子発現制御

執筆名 :

砂村 直洋、久郷 裕之

Naohiro Sunamura, Hiroyuki Kugoh

所属 :

鳥取大学大学院医学系研究科機能再生医科学専攻遺伝機能工学部門/鳥取大学染色体工学研究センター

Department of Biomedical Science, Regenerative Medicine and Biofunction,
Graduate School of Medical Science, Tottori University/ Chromosome
Engineering Research Center, Tottori University

はじめに

ヒトゲノムの解読により、タンパクをコードする mRNA は全 RNA のわずか 1.5% に過ぎず、残りの 98% はタンパクをコードしていない非コード RNA (non-coding RNA: ncRNA) で占めていることが明らかとなった。それに加え、近年、ENCODE プロジェクトにおいて、長鎖非コード RNA (long non-coding RNA: lncRNA) は、ヒトの ~9000 ものゲノム領域から転写されていた¹⁾。これまで lncRNA には、がん抑制遺伝子 Ink4 遺伝子座の発現制御に関わる ANRIL、ゲノムインプリンティングに関わる KCNQ1OT1/LIT1, Air, HOX 遺伝子の転写抑制に関わる HOTAIR などが知られている。最近では、代謝の再プログラミング化に関与する lncRNA として lincRNA-p21 が見出された。このように、lncRNA もまた機能性 RNA として様々な生体制御機構に重要な役割を担っている。

本稿では、lncRNA の中でもクロマチン上に集積(コーティング)することで染色体全体あるいは、局所的にヘテロクロマチン化を誘導するユニークな遺伝子発現制御に関わる Xist および KCNQ1OT1/LIT1 に着目し、最新の知見から遺伝子発現制御や疾患との関わりについて考察する。

1 X染色体不活性化(XCI: X chromosome inactivation)

X染色体不活性化は、哺乳類において1本のX染色体を不活性化することで雌雄間の機能的なX染色体数を同等にし、雌雄間における異なる遺伝子不均衡を補正するシステムである。このX染色体不活性化は、本稿で取り上げるXistを含む多くの機能性ncRNAが深く関与している。

発生段階におけるXCIは、2つの段階的ステップを経て成立する。まず最初に、着床前胚発生初期段階(4-8-cell)中に父方由来のX染色体のみが選択的に不活性化される(imprinted X chromosome inactivation: iXCI)。次に、胚盤胞の内部細胞塊(inner cell mass: ICM)で一度不活性化を受けたX染色体の再活性化が生じ、その後、父方および母方X染色体はランダムに不活性化される(random X chromosome inactivation: rXCI)。一方、栄養外胚葉では父方X染色体の選択的不活性化が保持される(図1A)。

染色体レベルで制御されるXCIは、X染色体のカウンティング、選択、不活性化の過程を経て確立する。これらの過程は、X染色体不活性化センター(X chromosome inactivation center: Xic)と呼ばれる遺伝子クラスターにより制御される²⁾。Xicには、Xistを含むRepA, Tsix, Xite, Jpx, Ftx, Tsxなど数多くのncRNAが存在し、Xist RNAを中心に共役して機能する(図1B)。

不活性化の過程はXCIの開始・伝播・維持の3つの状態に大別され、多くの因子(群)が複合的かつ段階的に関与し、高度に制御されている(図1C-E)。XCIの開始は、Xist RNAの転写から始まり、不活性化を受ける全域に渡り転写活性を示すヒストンH3の4番目のリジン残基のメチル化、9番目のリジン残基のアセチル化修飾(H3K4me3, H3K9ac)および、RNAポリメラーゼIIが顕著に減少する(図1C)。XCIの伝播では、転写されたXist RNAが染色体上へ拡散し集積する。Xist RNAの集積に伴いポリコーム群PRC (Polycomb repressive complex: PRC)の局在が観察され、ヒストンH3の27番目のリジン残基のメチル化およびH2Aの119番目のリジン残基のユビキチン化修飾(H3K27me3, H2AK119ub)を受けてヘテロクロマチン化が進行する(図1D)。その後、XCIの維持過程では、不活性化遺伝子のCpGアイランドへのDNAのメチル化およびヘテロクロマチンマーカであるヒストンH3の9番目、20番目のリジン残基のメチル化修飾(H3K9me3, H3K20me1)やヘテロクロマチンタンパク1(Heterochromatin protein 1: HP1)の局在が認められる。加えて、同時期にヒスト

ンH2Aバリエーションである macroH2A の置換が生じる(図 1E). このような過程を経て XCI は確立される.

1. Xist

Xist 遺伝子座のエクソン内には, ヒト, マウス種間で保存されている 6 個のリピートドメイン(A,F,B,C,D,E)が存在する(図 1 B). ヒト XIST は, 転写後 mRNA と同様なスプライシングを受け, 7つのエクソンから構成される約 17kb の lncRNA となる (マウスでは約 15kb). XIST RNA は, 核内に留まり転写された X 染色体のほぼ全域に渡ってシスに集積する. この XIST RNA の発現を消失させると XCI の誘導が認められないことより, XIST は XCI の主要因子として重要な役割を担っている³⁾.

1)Xist RNA のシス集積(コーティング)現象と不活性化機能

Xist RNA の染色体 DNA 上への集積動態は, AT-rich 領域から GC-rich 領域へと拡散していくことが次世代シーケンサーを用いた高解像 Xist RNA 局在マッピングにより明らかにされた⁴⁾(図 1D). このことより, XCI は遺伝子密度が高い領域から低い領域へと拡散していくことが示唆された. また, Xist RNA の働きによる遺伝子発現制御は, X 染色体に制限された特異的な分子機構と考えられていた. しかし, 常染色体上への Xist 遺伝子の異所性発現においても X 染色体と同様な Xist RNA の集積と不活性化が認められた⁵⁾. このことより, Xist RNA の機能は染色体特異性よりむしろ染色体レベルの不活性化に深く関与していることが示唆された. 最近 Jiang J らは, XIST RNA の染色体レベルの不活性化機能を利用し, ダウン症患者由来 iPS 細胞 (induced pluripotent stem cell: iPS 細胞)内の 21 番染色体に発現誘導可能な XIST cDNA を導入することで 1 本の 21 番染色体を特異的に不活性化させ, 新しいダウン症治療の可能性を提案した⁶⁾.

このように, Xist RNA の X 染色体へのシス集積は塩基配列非依存的な現象であり, 集積するために何らかの特異的足場因子の存在が示唆された. これまで, Xist RNA に直接結合する因子として hnRNP-U/SAF-A の存在が知られている(図 1D).

hnRNP-U/SAF-A 内の DNA 結合能をもつ SAF ドメインを介して X 染色体クロマチンに結合し, さらに RNA 結合能を有する RGG ドメインを通して Xist RNA を発現している自身の X 染色体上に留まらせる制御モデルが提唱された⁷⁾. しかし, hnRNAP-U/SAF-A はクロマチン上へ集積する Xist RNA 以外の ncRNA の足場とし

でも機能しており, Xist RNA への特異性は認められなかった⁸⁾.

一方, Xist RNA の集積に協調して転写抑制に働くポリコーム群 PRC1, PRC2 がリクルートされ, H3K27me3, H2AK119ub の広がりが生じる. DNA 結合能をもたない Xist RNA は, 転写後 PRC2 と結合し, 染色体に拡散することで染色体を不活性化させるモデルが提唱された⁹⁾ (図 1D). そのため, PRC2 と Xist RNA は不活性化 X 染色体上に共局在すると考えられた. しかし, PRC2 と Xist RNA の局在は必ずしも一致しない⁴⁾. 近年, PRC2 と共役する Jarid2 や PRC1-RYBP 複合体, 抑制因子 YY1 などの不活性化機構に関連する因子が同定された¹⁰⁻¹²⁾(図 1C). Xist RNA による遺伝子発現制御機構を解明するためには, これらの因子がどのように相互作用しているのか詳細な解析が待たれる.

ヒトの XCI では, 約 15%(マウスで約 3%)の遺伝子が不活性化から逃れる¹³⁾. 我々は, 標的 RNA を認識するプローブと免疫沈降を組み合わせ, 染色体上の RNA の集積領域を評価する方法として modified RNA TRAP 法を開発し, XCI 上の不活性化遺伝子および不活性化から逃れる遺伝子間で Xist RNA の存在を比較検討した (図 2A). その結果, 不活性化遺伝子 Uba1, Hprt, Ar, Rps4x, Pdha1 遺伝子座とそのプロモーター領域には, Xist RNA の集積が認められた. 一方, Jarid1c, Utx など不活性化から逃れるプロモーター領域を含む遺伝子座では集積が認められなかった(図 2B). 興味あることに, RNA FISH 解析により, Uba1 遺伝子領域は Xist RNA テリトリー内に位置していたが, Jarid1c, Utx 遺伝子領域は Xist RNA テリトリー外に存在していた¹⁴⁾(図 2C). これらのことより, XCI は Xist RNA により空間特異的に制御されていることが示唆された. また, 不活性化から逃れる遺伝子は遺伝子配列間で特異的なモチーフを有しておらず, 組織特異的に異なる発現様式を示す¹³⁾. このことから XCI から逃れる機構において, 組織/空間特異的にクロマチン構造を介し遺伝子発現制御を行う因子(群)の存在が示唆された.

Xist RNA による XCI 誘導後, 不活性化状態を安定的に維持するために不活性化 X 染色体上の遺伝子のプロモーター領域には, DNA メチルトランスフェラーゼ 1(DNA methyltransferase: Dnmt1)依存的なメチル化の付加とそれに伴うクロマチンの凝縮が引き起こされる(図 1E). この過程では, H2AK119ub, H3K27me3 のヒストン修飾に加えてヘテロクロマチン化を維持するための H3K20me1, H3K9me3 や HP1 などの新たなエピジェネティックな修飾が認められる. 最近, HP1 関連因子の網羅的な探索を目的としたプロテオミクス解析において PXVXL モチーフを介して HP1 と結

合する HBiX1 が同定された. HBiX1 は, Xist RNA の集積領域に局在する SMCHD1 と直接的に結合する. このことから, XCI で認められる H3K27me3-XIST RNA-SMCHD1 および H3K9me3-HP1-HBiX1 領域間における相互作用効果が XCI クロマチン凝縮の確立に深く関与していることが示された¹⁵⁾ (図 1 E). しかし, SMCHD1 が XIST RNA と直接的あるいは間接的に結合するかどうか不明であり, 不活性化 X 染色体以外の常染色体のクロマチン凝縮への影響も認められ, XCI 特異的に働く未知因子(群)の存在が示唆された. 今後の SMCHD1-HBiX1 経路の解析は, 不活性化状態の構造的安定化および不活性化から逃れる遺伝子群の構造的な特徴の理解にも繋がることが期待される.

2) Xist と共役する ncRNA

RepA

Xist の A リピート領域では, RepA RNA と呼ばれる 1.6kb の ncRNA が転写されている. 分化誘導による rXCI の再現可能な ESC(Embryonic stem cell: ESC)を用いた RepA の機能解析では, RepA RNA と Xist RNA の発現動態に相関が認められた. また, RepA は PRC2 と直接的に結合することから, RepA/PRC2 複合体による Xist RNA 発現誘導モデルが提唱された¹⁶⁾(図 1C). このことより, RepA RNA は, Xist RNA の発現上昇に必要であり XCI を開始する重要な因子であることが示唆された(図 3A). しかし, iXCI における RepA の発現動態は不明である.

Jpx

Xic 上には, XCI を確立するための数多くの機能性 ncRNA が存在する. Xist 遺伝子の上流約 10kb にある Jpx は, Xist と反対方向に転写される lncRNA であり, XCI から逃れる遺伝子としても知られている. Jpx は, Xist プロモーター上に存在する抑制因子 CTCF と濃度依存的に結合し, 競合阻害因子として Xist の発現誘導に関わる. したがって, Jpx は Xist 発現誘導を正に制御するトランスアクチベーターであることが示唆された¹⁷⁾(図 3A). しかし, iXCI における Jpx および Xist に関する発現動態については明らかにされていない. また, どのように Jpx RNA が恒常的に発現している CTCF を時期特異的/アレル特異的に退けるかは不明である.

LINE

哺乳類ゲノムの大部分は、反復配列であることがヒトゲノムの解読から示唆された。その中でも長鎖散在型反復配列(Long interspersed element: LINE)は、常染色体と比較し、X染色体上に非常に多く存在している¹⁸⁾。Lyonらは、この現象に着目しLINE配列がXCIにおける通過点(way station)であることを提唱した¹⁹⁾。しかし、Xist RNAとX染色体上のLINE配列の局在は部分的な一致しか認められなかった⁴⁾。このことより、Xist RNAの局在はLINE配列非依存的であると考えられる。

また、ゲノム中に広く分布しているLINE配列から転写されるncRNAは、周辺遺伝子の転写制御に寄与する。Chow JCらは、LINE RNAとXCIの関係性に着目し分化誘導させたESC内でのLINE RNAとXist RNAの局在を解析した。その結果、分化誘導末期(8-10日目)において、不活性化が進むX染色体上にLINE RNAの集積が認められた。しかし、LINE RNAのテリトリーは、Xist RNAのテリトリーと相反し、かつRNAポリメラーゼIIと共局在していた。このことより、LINE RNAは、X染色体上の転写活性をもつ領域へ特異的に集積し、X染色体の不活性化から逃れる機構に関与していることが示唆された²⁰⁾(図3B)。しかし、この研究では、不活性化されるX染色体上のLINE RNAとRNAポリメラーゼIIの局在領域が不活性化から逃れる遺伝子座であることを明らかにされていない。また、直接的なLINE RNAとXist RNAの関係性を示しておらず、X染色体以外から転写されたLINE RNAによる影響を否定できないことから、未だにLINE RNAとXist RNAの関係性については不明な点が多い。その最大の原因は、X染色体特異的なLINE RNAの機能解析する方法がないためである。したがって、これらの問題を解決できるような新しい解析法の開発が望まれる。

2. Tsix

Tsix は、4つのエクソンからなる ncRNA であり、X 染色体上の Xic 領域に Xist を含むかたちで逆方向に転写される。Tsix は、転写後スプライシングを受けるが、Xist と同様に核内へ留まる。Tsix は、未分化の雌 ESC において両方の X 染色体より発現する。不活性化される X 染色体上では、分化に伴い Tsix の発現が失われ、Xist の発現上昇が認められる。一方、活性 X 染色体における Tsix の発現は維持される。この現象は、iXCI, rXCI の双方で観察される²¹⁾。そのため、Tsix は活性 X 染色体のマーカーとして知られ、Xist をシスに抑制する ncRNA である(図 3A)。また、Tsix は XCI 開始に関わる Xic 領域の対合や X 染色体のカウンティング、選択においても重要な機能が示唆されており、Xist と同様に XCI における主要因子の一つであると考えられている。

Tsix は、Xist のアンチセンス鎖を含む形で転写されるため Xist の配列領域を有している。したがって、転写された Tsix RNA は Xist RNA と 2 本鎖を形成し、RNA 干渉機構による不活性化の回避がなされていると考えられている。これまで Xist/Tsix 2 本鎖 RNA は Dicer 依存的なプロセッシングを受け、小分子 2 本鎖 RNA(xiRNA)となることで Xist RNA の発現を抑制する。しかし、Dicer の非存在下においても XCI が生じることから未だ明確な機構は明らかとなっていない²²⁻²³⁾。

現在、Tsix を正に制御する因子として Xite, DxPas34 や Rex1 などが見出された²⁴⁻²⁵⁾(図 3A)。近年、超高解像度顕微鏡を用いた ESC のクロマチンドメインの位相関係の解析により、Tsix の発現動態と相関を示す Linx が同定された。Linx は ICM 特異的な発現を示し、Tsix RNA と共局在する。このことより、Linx は rXCI 特異的に Tsix を正に制御している可能性が示唆された²⁶⁾(図 3A)。

II KCNQ1OT1/LIT1

ゲノムインプリンティングとは、父親と母親由来の対立遺伝子(アレル)が識別され、その発現様式が親由来により異なる現象である。その生物学的意義は、哺乳類において、単為生殖を阻害する機構の一つであると考えられている。ゲノムインプリンティングに関わる遺伝子は、現在、ヒトの全遺伝子の 1%に相当する約 200 個の存在が知られており、先天性疾患、細胞のがん化、哺乳類の個体発生や成長、行動等においても重要な役割を果たしている。ncRNA 型のインプリント遺伝子は、Air, Gtl2, UBE3A-ATS などに加えて、とりわけ巨大な lncRNA として KCNQ1OT1/LIT1 の存在が知られている。我々は、親起原の明らかな単一ヒト染色体ライブラリーを用いて、父性発現を呈する新規刷り込み遺伝子として KCNQ1OT1/LIT1 を同定した²⁷⁾。

1, KCNQ1 クラスターと KCNQ1OT1/LIT1 の構造

ヒトの 11p15.5 領域では、1Mb に渡り複数のインプリント遺伝子がクラスターを形成している(Igf2/H19 クラスター, Kcnq1 クラスター)。Kcnq1 クラスターでは、胎盤特異的および恒常的なタイプを示す 10 個のインプリント遺伝子(Ascl2, Tspan32, Cd81, Tssc4, Kcnq1, Kcnq1ot1/Lit1, Cdkn1c, Slc22a18, Phlda2, Osbp15)が混在している (図 4A)。KCNQ1OT1/LIT1 は、母性発現を呈する KCNQ1 インプリント遺伝子内のイントロン 10 から逆方向に転写され、イントロンレスの明確なオープンリーディングフレームを持たない父性発現を呈する lncRNA である。KCNQ1OT1/LIT1 のプロモーター領域は、ヒトとマウスで非常に高く保存され、NFY 転写因子の相互作用によって TATA-less プロモーターからの転写を介在する CCAAT エlement が複数存在している。興味あることに、この CCAAT エlement の変異導入は、アンチセンスプロモーター活性の阻害を誘導することが報告されている²⁸⁾。また、転写領域の後半には LINE が存在しており、KCNQ1OT1/LIT1 遺伝子の機能に関与している可能性が示唆されている。

2. KCNQ1OT1/LIT1 の機能

我々は, KCNQ1OT1/LIT1 の機能を解析するために, プロモーター領域に存在するアレル特異的にメチル化を受ける CpG アイランド(Differentially methylated region: DMR, KvDMR)の欠失実験を行った. その結果, KCNQ1OT1/LIT1 遺伝子の機能消失に伴う周辺インプリント遺伝子の発現異常の誘導が認められた. このことより, KCNQ1OT1/LIT1 は, 周辺のインプリント遺伝子の発現をクロマチンドメインレベルでシスに制御するインプリントセンターとして重要な機能を持つことが示唆された²⁹⁾. この現象は, Fitzpatrick らにより作製された KCNQ1OT1/LIT1 KvDMR 領域のノックアウトマウスにおいても認められた³⁰⁾. さらに, RNA FISH による KCNQ1OT1/LIT1 RNA の発現動態を解析した結果, 細胞周期を通して安定的に転写領域上への局在が認められた. それに加えて, Fiber RNA FISH および modified RNA TRAP 法を通して, RNA 分子が周辺遺伝子を含む領域へ集積していることを見出した³¹⁾(図 4 B). このことより, KCNQ1OT1/LIT1 RNA は, Xist RNA と類似した機能を有し, シスに集積することで周辺遺伝子を含むドメインレベルのユニークな遺伝子発現制御に関与していることが示唆された.

近年, Kcnq1ot1/Lit1 による新たなインプリンティング機能確立モデルが Zhang H らにより提唱された. Zhang H らは, Kcnq1ot1/Lit1 RNA をビオチン標識した cDNA に置換し, 制限酵素処理後, ゲノム DNA と cDNA をライゲーションすることで Kcnq1ot1/Lit1 RNA の集積領域を解析した. その結果, Kcnq1 プロモーター領域とその下流 200kb に位置する KvDMR は, Kcnq1ot1/Lit1 RNA の集積を介してループ構造を形成し, 近接していることが明らかにされた. 一方, Kcnq1ot1/Lit1 RNA の機能不全は, このクロマチンループ構造の形成を消失させた. さらに, Kcnq1 プロモーターおよび KvDMR 上でのループ構造依存的に PRC2 並びに H3K27me3 修飾が認められた. このことから, Kcnq1ot1/Lit1 RNA は, エピジェネティックな変動を介した特定ゲノム領域の構造変化に関与し, アレル特異的な発現様式を確立するために重要な因子として働いていることが示唆された³²⁾(図 4 C). しかし, Kcnq1ot1/Lit1 RNA の標的となるインプリント遺伝子 Kcnq1 のみの解析に留まり, その他の標的となる Kcnq1 クラスター内のインプリント遺伝子が同様な構造を形成しているかは不

明であり、今後の解析に期待したい。

3. Kcnq1ot1/Lit1 RNA の遺伝子発現抑制機構

Kcnq1ot1/Lit1 RNA の集積するインプリント遺伝子座では、ヒストン修飾酵素 G9a, PRC2 のリクルートに伴う H3K9me3, H3K27me3 の修飾が認められる³³⁾。また、Kcnq1ot1/Lit1 RNA は、それ自身が集積した遺伝子の発現抑制機能を有することから、配列内に発現抑制に寄与するドメインの存在が示唆された。SV40 エンハンサー/H19 遺伝子から構成されるプラスミドを利用したエピゾーマルベースドシステム(宿主ゲノムに組み込まれずにプラスミド状態のまま核内染色体外に維持される)による機能解析より、5'領域の 890bp 領域が上流・下流遺伝子の抑制(二方向性の不活性化)に重要なサイレンシングドメイン (Silencing domain: SD)であることが報告された。とりわけ、SD 内に含まれる保存的な A2 モチーフ(-AGTGGTTCCGAG-)は、遺伝子の発現抑制へ機能的に働くモチーフである。SD 欠失マウスの解析では、父方アレルにおける恒常的なインプリント遺伝子 Cdkn1c, Slc22a18 DMR の低メチル化に伴う遺伝子の脱抑制が認められた。さらに、Dnmt1 は SD 領域に結合する³⁴⁾。したがって、Kcnq1ot1/Lit1 RNA のゲノム領域への集積現象は、標的遺伝子座のヒストン修飾および DMR への直接的な調整により、効率的な遺伝子発現制御経路として確立されたのかもしれない。

しかし、G9a ノックアウトマウスにおいては、胎盤特異的なインプリント遺伝子群のみにヒストン修飾の異常が認められた³⁵⁾。さらに、Kcnq1ot1/Lit1 の発現消失させたマウス胚において、少なくとも父方アレルの Cdkn1c および Ascl2 遺伝子座で H3K27me3 のヒストン修飾が保持されていた。これらのことより、Kcnq1ot1/Lit1 RNA および既存のヒストン修飾酵素複合体のみでは、Kcnq1 クラスターの遺伝子発現様式を説明することが困難であり、その他の特異的エピジェネティックマーカーや Kcnq1ot1/Lit1 RNA の局在を遺伝子座特異的に制御する共役因子の存在が考えられる。今後、Kcnq1ot1/Lit1 RNA の制御を受ける 1 遺伝子座に対する詳細なエピジェネティック修飾および複合体解析により、新たな Kcnq1 クラスターの遺伝子発現制御を規定する因子(群)同定が、染色体ドメインレベルの遺伝子発現制御機構を解明するための重要な課題として残されている。

4. Kcnq1ot1/Lit1 と疾患

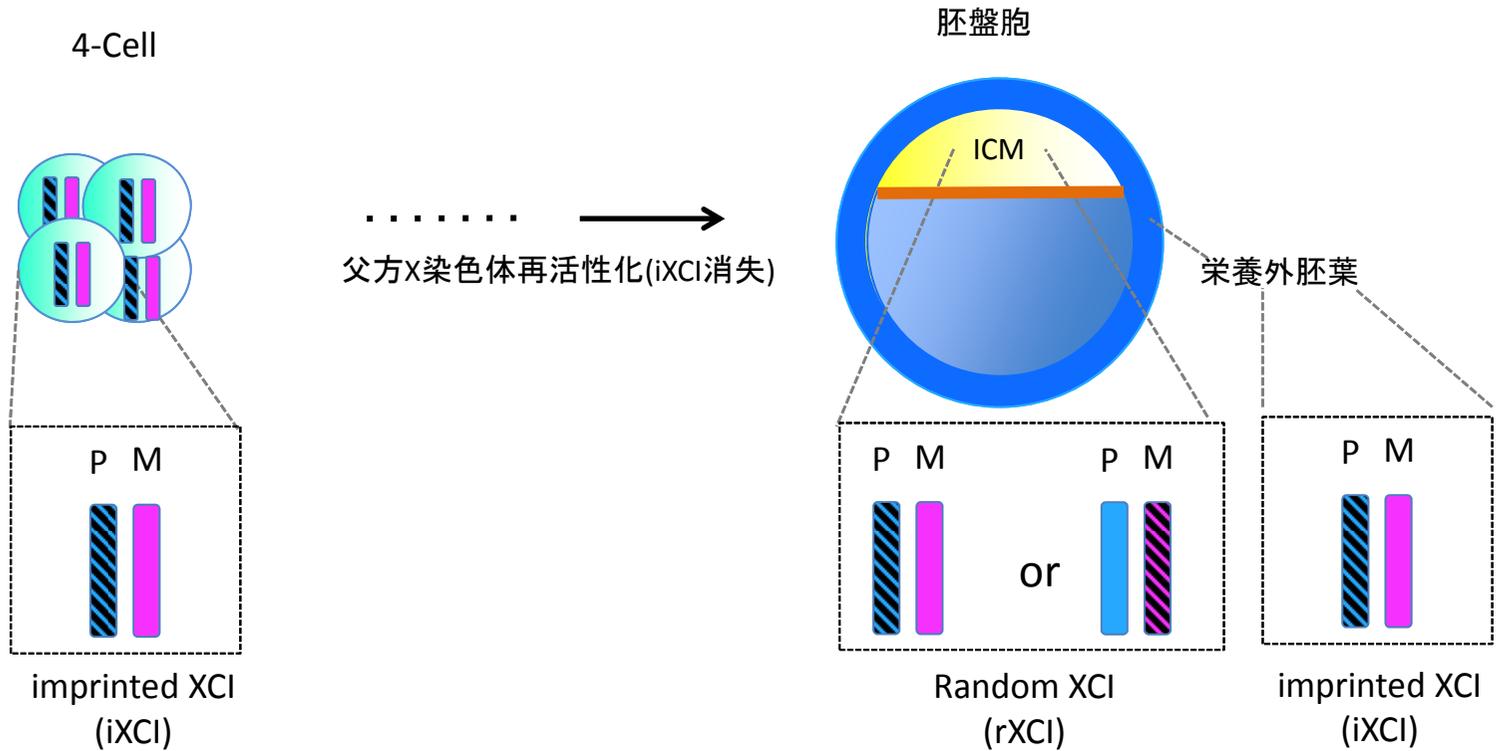
Beckwith-Wiedemann 症候群(BWS)において、約 50%の高い頻度で母方アレルの Kcnq1 遺伝子上の KvDMR のメチル化欠如によるインプリントの消失(Loss of imprinting: LOI)が認められる。この LOI による周辺インプリント遺伝子の制御破綻が疾病の原因の1つとして考えられる (図 4D)。しかし、BWS と KCNQ1OT1/LIT1 の関係性は病理学的解析および統計学的解析に基づくものが多く、逆遺伝学的手法を用いた解析に対する知見は乏しい。このことは、Kcnq1ot1/Lit1 が Kcnq1 クラスタ内でのインプリント遺伝子群の制御に深く関与しているため、遺伝子クラスターレベルでの機能消失に起因する BWS 表現型の評価に留まり、1つのインプリント遺伝子座の機能消失による BWS 表現型の解析を困難にしている。したがって、LOI により引き起こされる個々のインプリント遺伝子座の機能消失を明確にし、評価することが BWS 発症メカニズムの理解に繋がると考えられる。さらに、食道がんや大腸がんにおいても高頻度の LOI 異常が認められた。食道がんでは、KCNQ1OT1/LIT1 の LOI による母方アレル特異的な発現を呈するがん抑制遺伝子 CDKN1C の発現抑制が報告されている³⁶⁾。我々は、大腸がん細胞において高頻度の KCNQ1OT1/LIT1 の LOI を見出した (図 4D)。また、これらの大腸がん細胞の KvDMR 領域において DNA メチル化と H3K9me2 の減少および H3K4me2 の増加が認められた³⁷⁾。このことより、KCNQ1OT1/LIT1 KvDMR のエピジェネティックな破綻が発がん過程に関与していることが示唆された。しかし、KvDMR におけるエピジェネティクスの変化を引き起こすような因子や KCNQ1OT1/LIT1 の制御因子は未だ明らかにされていない。そのため、KCNQ1OT1/LIT1 RNA の上流因子あるいは共役分子との関わりを明らかにし、KCNQ1OT1/LIT1 を中心とした制御ネットワークを解き明かすことで KCNQ1 クラスタにおけるインプリント制御機構と疾患の関係性を明らかにできると考える。

まとめ

機能性 lncRNA は, XCI やゲノムインプリンティングを含むエピジェネティックな現象において, 重要な役割を担う. これらの lncRNA と共役に働く因子群が次々に明らかにされ, lncRNA が関与するエピジェネティクスの分子機構の解明が急速に進んでいるが, 不明な点も多く残されている. したがって, 機能性 lncRNA 関連分子群を網羅的に明らかにすることができれば, とりわけ本稿で紹介した Xist, KCNQ1OT1/LIT1 などの機能性 lncRNA のユニークな遺伝子発現制御システムの解明を推し進めるものになる. 現在, 我々は, 人工染色体を利用した特定ゲノム領域に集積するクロマチン/タンパク質あるいはクロマチン/RNA/タンパク質の複合体を染色体領域上の機能的複合体としてそのまま回収し, 分子群を同定する方法 (Chromosome Immunoprecipitation: ChrIP, 染色体免疫沈降) の開発を進めている (図 4E). 本解析法により, 捉えられる lncRNA 関連分子は, 複雑な機能性 lncRNA の分子制御機構の解明に向けて道を拓くものになると期待される.

図1

A



B

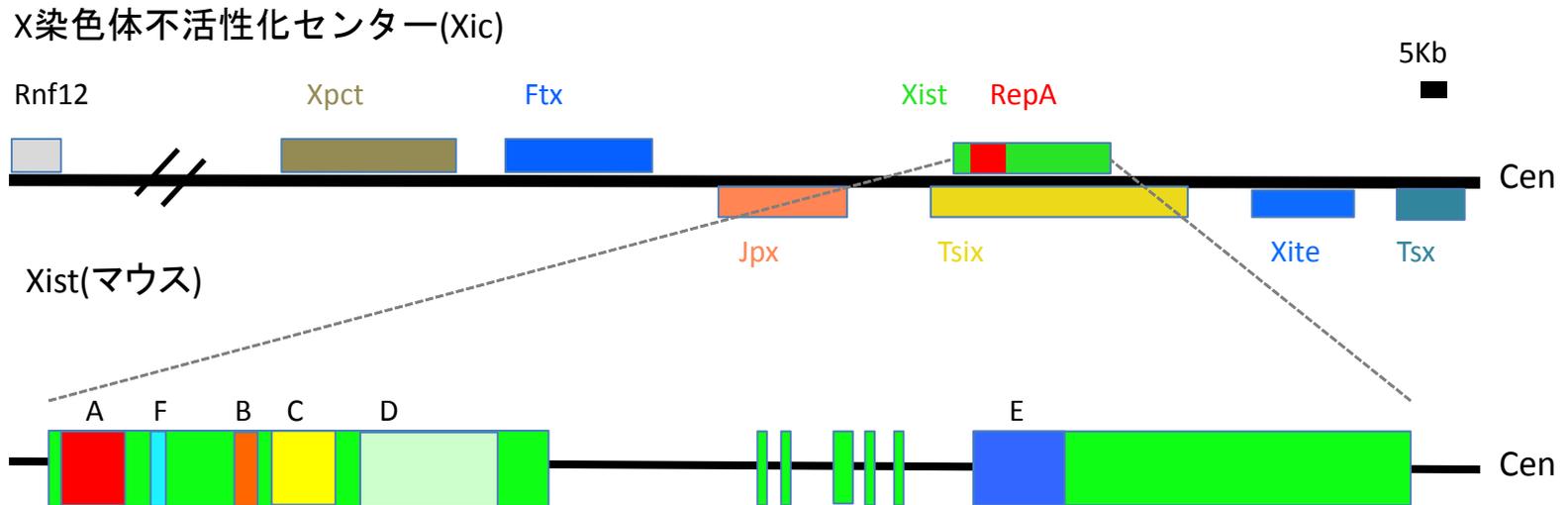
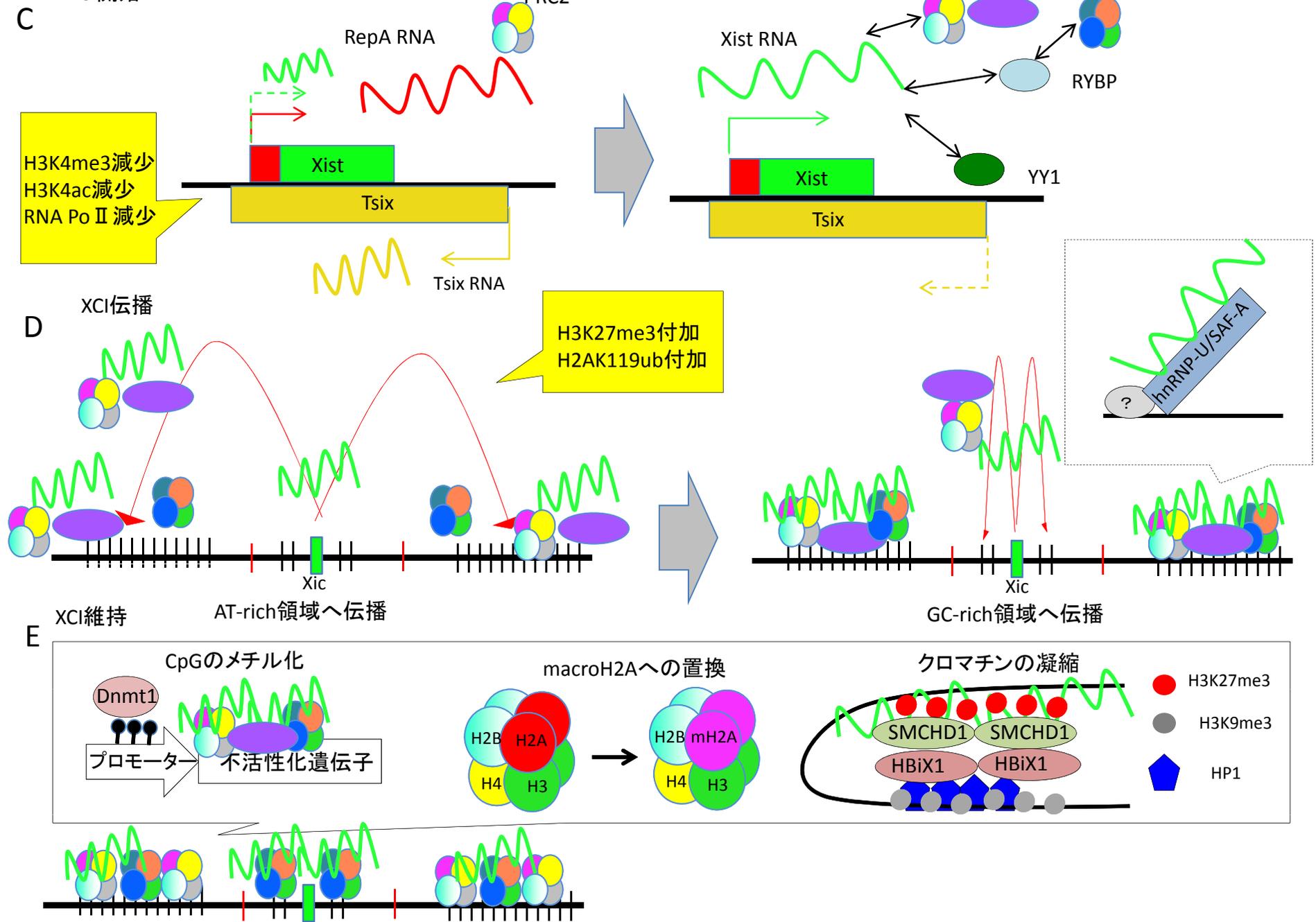


図1 XCI開始



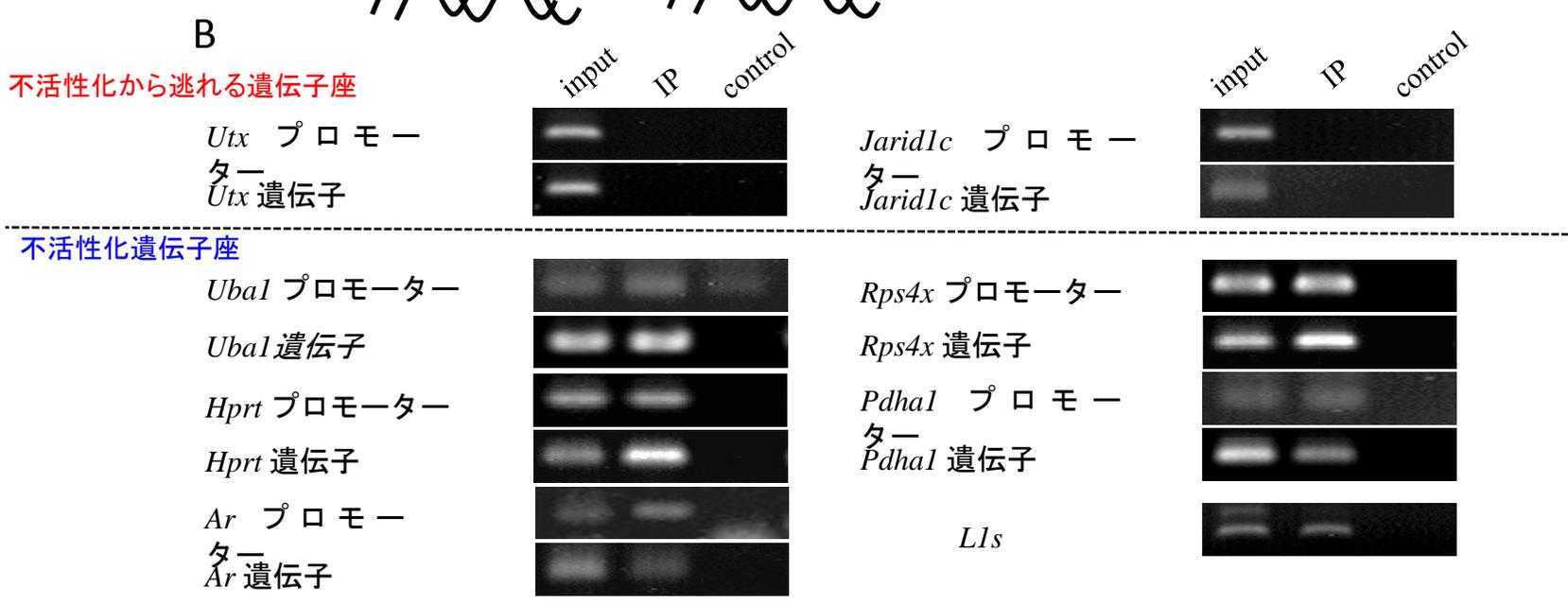
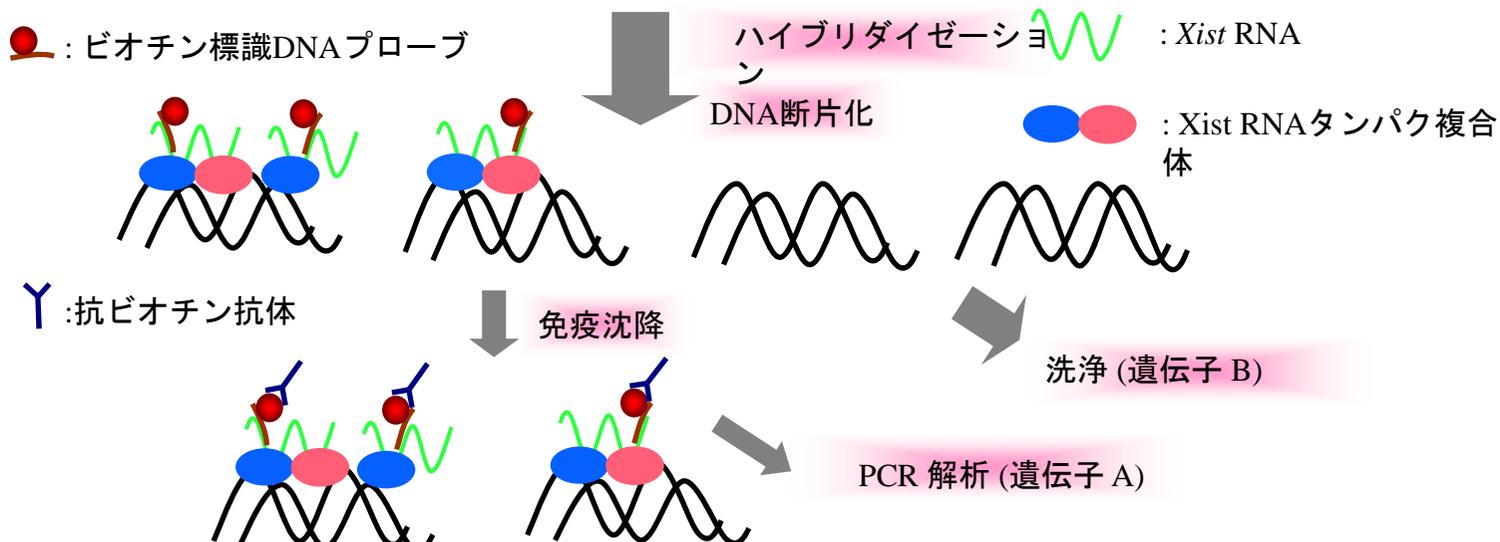
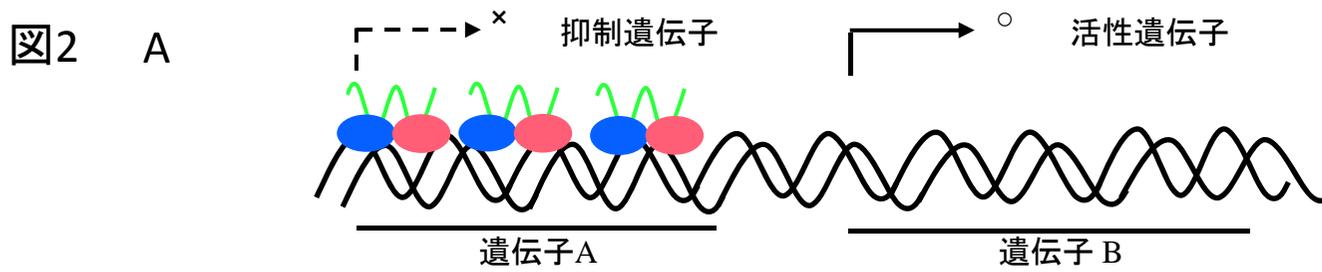
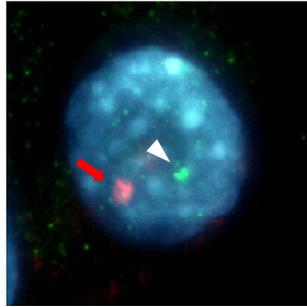
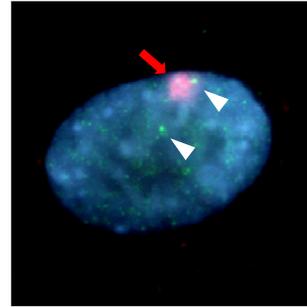


図2
C

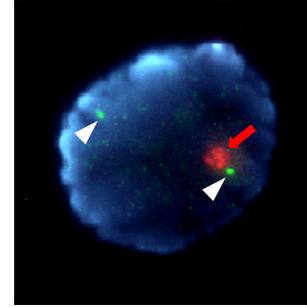
DNA/RNA-FISH



Uba1(緑)/*Xist*(赤)



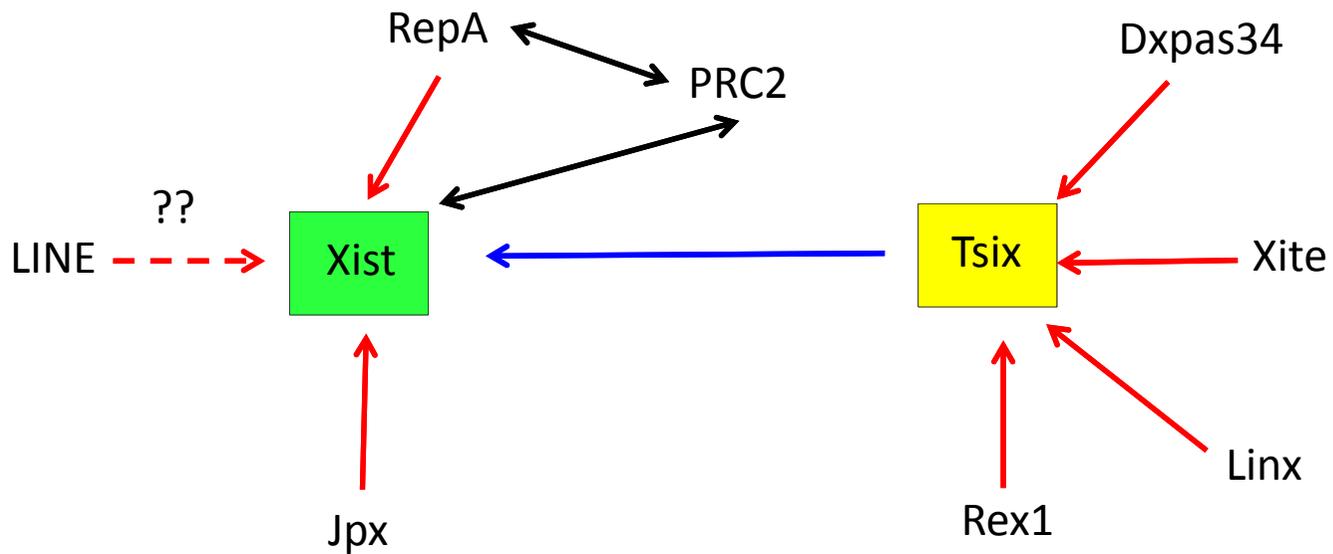
Jarid1c(緑)/*Xist*(赤)



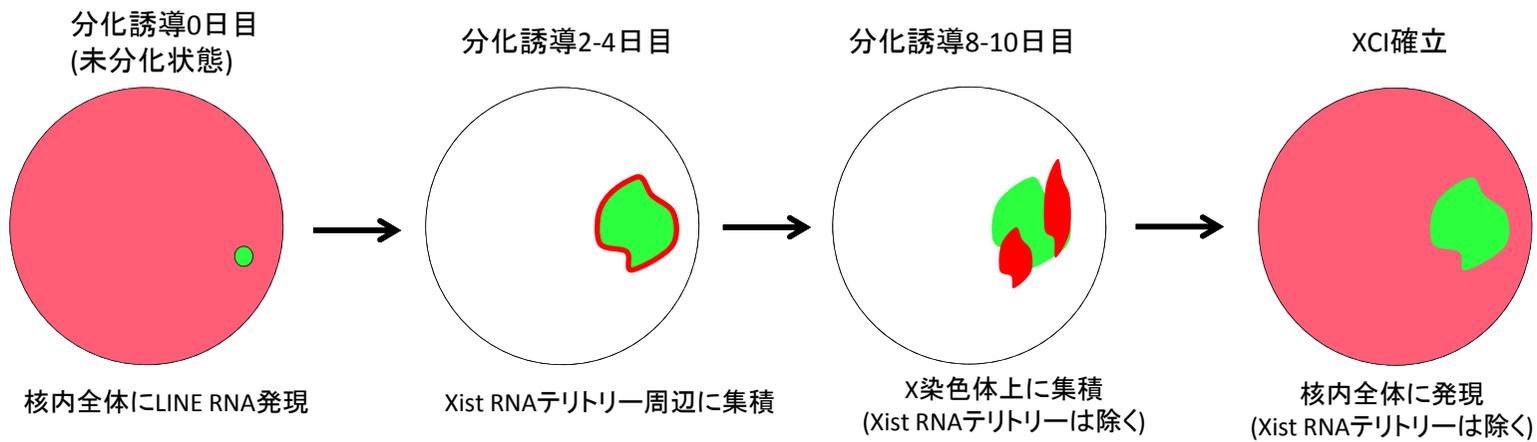
Utx(緑)/*Xist*(赤)

図3

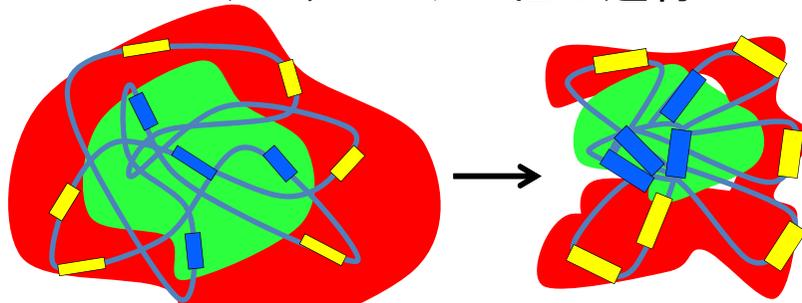
A



B



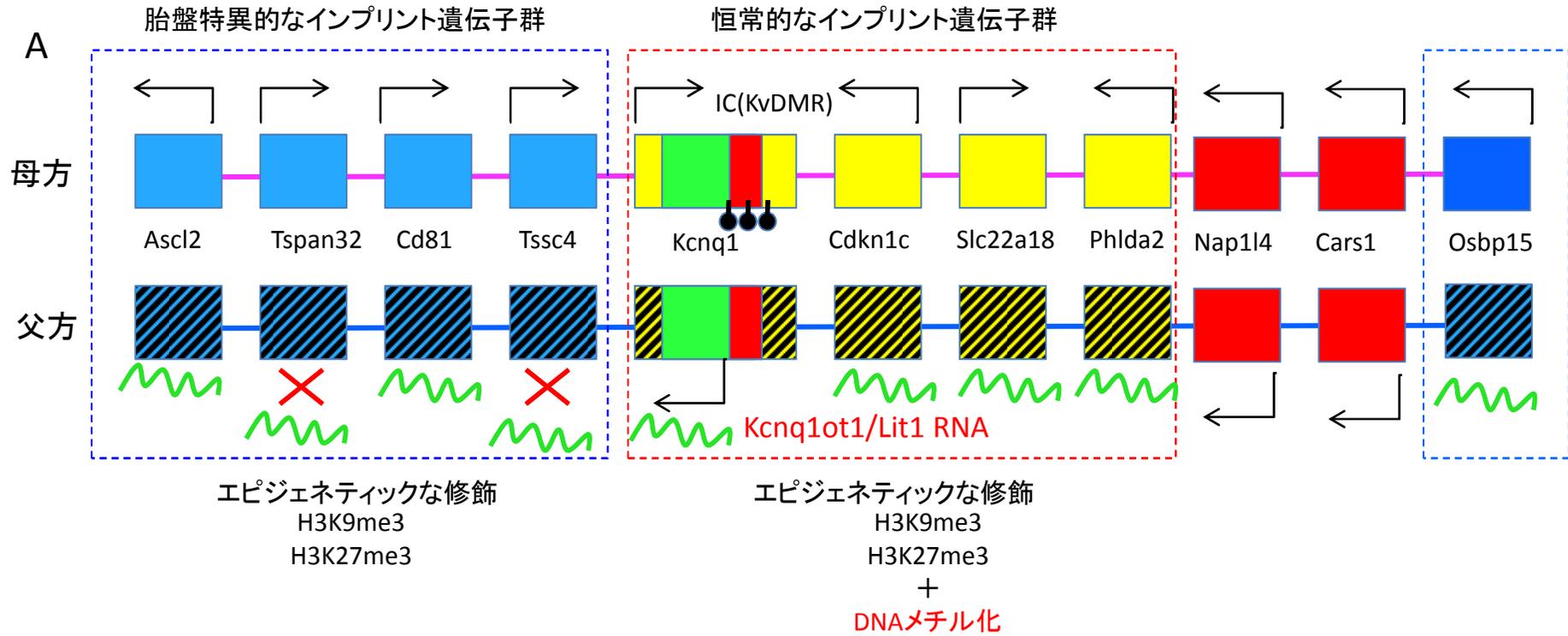
ヘテロクロマチン化の進行



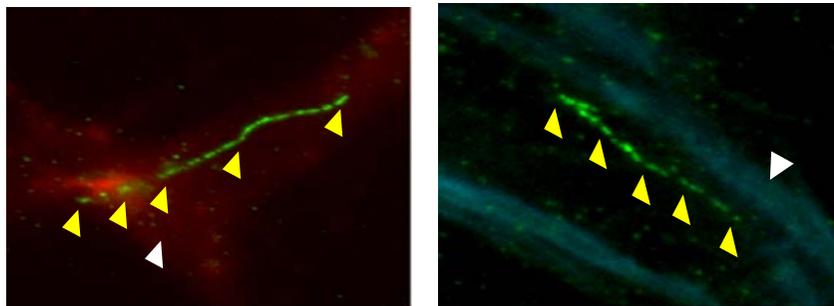
不活性化領域のクロマチン凝縮

図 4

Kcnq1クラスター



B



C Kcnq1遺伝子のクロマチンループ構造

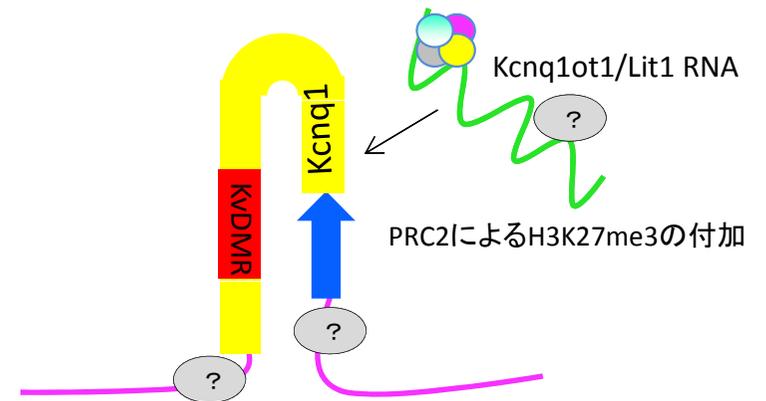
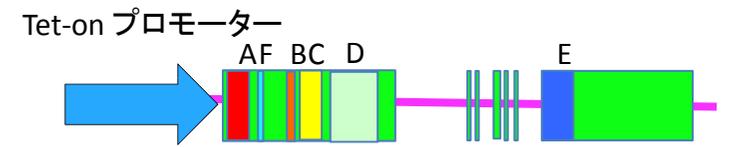
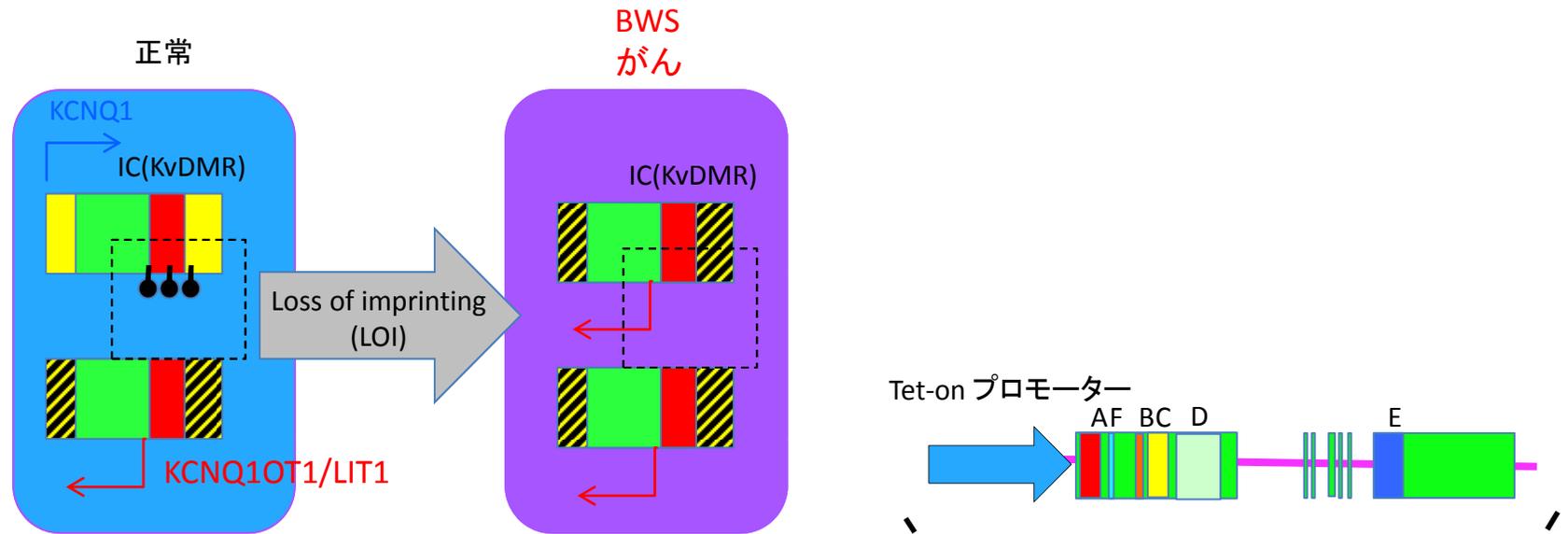
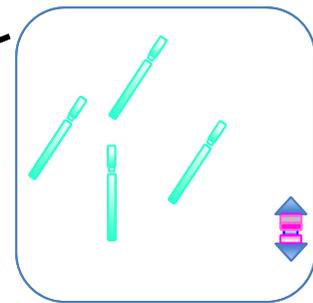
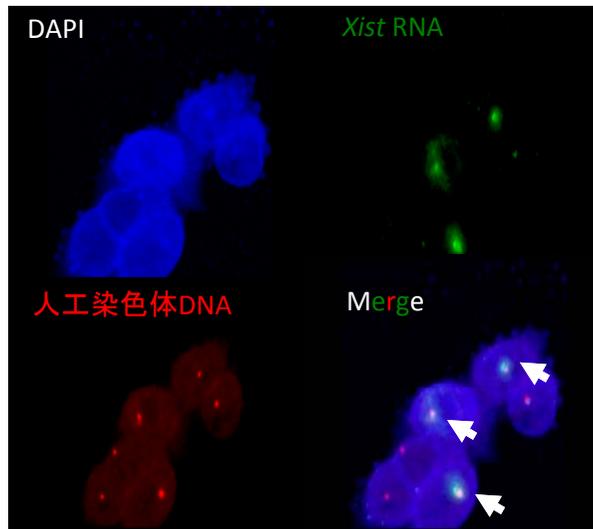


図4 D



E



人工染色体の回収

MS解析

DNA/RNA/タンパク複合体同定

