

課題番号 44

## マウス胚発生過程における ヒストン修飾と DNA メチル化のダイナミクス

### [1] 組織

代表者：望月 研太郎  
(University of British Columbia)

対応者：松居 靖久  
(東北大学加齢医学研究所)

分担者：該当無し

研究費：旅費 20 万円

### [2] 研究経過

生物の体は生殖細胞系譜と体細胞系譜とから構成され、両者の細胞運命は本来交錯しない。マウスの生殖細胞は、初期胎仔発生過程で全ゲノム的に DNA メチル化 (DNAm) が蓄積しつつある未分化なエピブラストの一部から出現する。その後、生殖細胞では DNAm が消去され、それに応答するように様々な生殖細胞特異的な遺伝子群の発現抑制が解除されるが、体細胞系譜では DNAm が充進する。

生殖細胞遺伝子は、生殖細胞としての発生分化に関与する一連の遺伝子群であり、現在 137 個の遺伝子が同定されている。興味深いことに、生殖細胞遺伝子群は各種の腫瘍細胞でも高い発現が認められることから、体細胞系譜における生殖細胞遺伝子群の異所的な発現は腫瘍化のリスクとの関連が強く示唆されている。さらに、生殖細胞の発生分化過程においても、各生殖細胞遺伝子の発現開始のタイミングが極めて重要であり、それらの早熟な発現は先天性不妊の原因になる。

本研究では、ヒストン H2A リジン 119 モノユビキチン化 (H2AK119ub1)、ヒストン H3 リジン 9 トリメチル化 (H3K9me3)、ならびに DNAm の三つのエピジェネティック修飾がポリコム複合体の一種である PRC1.6 によって統括的に調節されて生殖細胞遺伝子群の発現抑制に働くことを明らかにすることを目指した。

なお、下記の通り、研究打ち合わせを in person でまたはメール・スカイプを用いて行った。

打ち合わせ実施日：(1) 2022 年 4 月 4 日  
(2) 2022 年 6 月 5 日  
(3) 2022 年 7 月 25 日  
(4) 2022 年 9 月 1 日  
(5) 2022 年 12 月 6 日  
(6) 2023 年 1 月 22 日

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

上述の背景から、137 個の生殖細胞遺伝子群 (DNA Methylation Sensitive (DMS) germline genes、そのうち 8 個は Germline Genome-Defence (GGD) genes としてゲノムの安定性に関わる) に着目して、発現抑制に PRC1.6 が必要十分であることを確かめた。

PRC1.6 複合体の中心因子である *Pcgf6* 遺伝子をノックアウト (cKO) できる *Pcgf6*-cKO の ESC に加え、H3K9me3 を付与するヒストンメチル基転移酵素遺伝子 *Setdb1*、H2AK119ub1 を付与するヒストンユビキチン化酵素遺伝子 *Ring1b* (およびそれらの二重 (D)KO)、ならびに DNAm を付与する DNA メチル基転移酵素遺伝子群 *Dnmt3a/b* を条件的に cKO できる ESC を用いた。初期胎仔発生過程を模倣するため、Naïve (n)ESC (内部細胞塊に相当) からエピブラスト相当細胞 (EpiLC) を誘導する試験管モデル系を採用し、RNA シークエンス (RNA-seq) 解析を行った。その結果、*Pcgf6*-cKO における生殖細胞遺伝子群の早熟な発現抑制解除は、その他の各 cKO との比較で同等かそれ以上であることを確認した (次頁図 1)。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

今回の結果と以前の我々の報告から、着床の前後で、生殖細胞遺伝子群は、まず PRC1.6 を介して、RING1B/H2AK119ub1 および SETDB1/H3K9me3 によって抑制され、その後に DNMT3AB/DNAm が発現抑制に参加することが示唆される (次頁図 2)。本研究で得られた知見は、将来的に腫瘍や不妊の原因究明、予防や治療の新たな足がかりとなることが期待される。

図1 各ノックアウト細胞における生殖細胞遺伝子群の発現抑制解除の比較

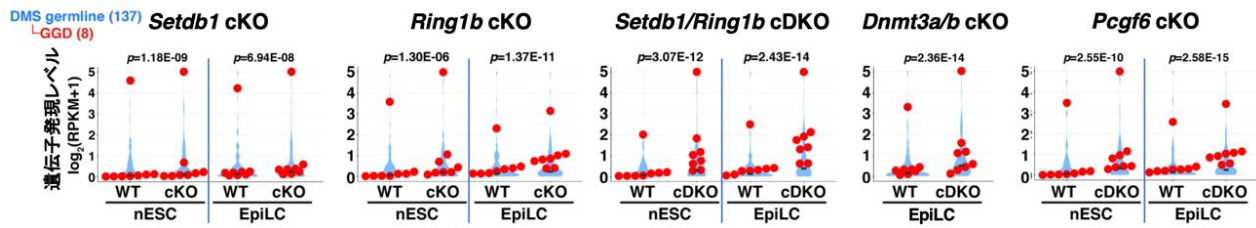
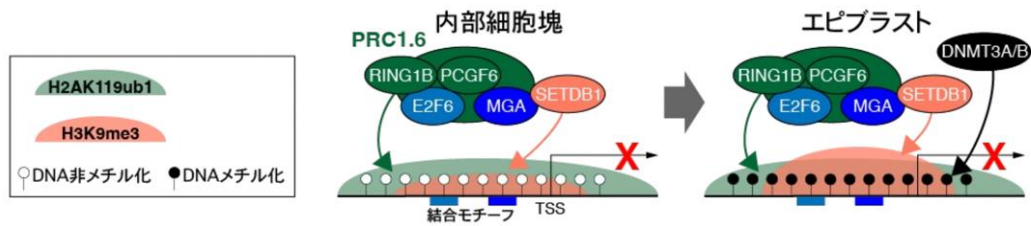


図2 PRC1.6が統括する生殖細胞遺伝子群の多層的発現抑制



[4] 成果資料

**Mochizuki K**, Sharif J, Shirane K, Uranishi K, Bogutz AB, Janssen SM, Suzuki A, Okuda A, Matsui Y, Koseki H, Lorincz MC. Repression of germline genes by PRC1.6 and SETDB1 in the early embryo precedes DNA methylation-mediated silencing. *8th Canadian Conference on Epigenetics*, 2022年10月5日, Estérel, Canada.