

エピジェネティクス研究モデルとしてのラット

国立国際医療研究センター研究所 竹内史比古、加藤規弘

エピジェネティックな現象とは、DNA塩基配列の変化によらず、染色体の変化から生じる、細胞分裂を超えて安定的に継承される現象である。その発現機構としては、DNAやヒストンの化学修飾、非コードRNA、クロマチンの高次構造が知られている。エピジェネティックな形質発現は様々で、発生・分化、リプログラミング、X染色体不活性化、ゲノムインプリンティング、老化などがある。生活習慣病についてもエピジェネティックな遺伝子発現制御の関与が示唆され、活発に研究が行われている。

ヒトとマウスのゲノムを比べると、タンパクコード遺伝子は一揃いほぼ同じであり、アミノ酸配列も平均70%一致している。それではエピゲノムはどうなのだろうか？エピジェネティックな発現制御（DNAやヒストンの化学修飾、非コードRNA、クロマチンの高次構造）は、仕組みとしては哺乳類に共通している¹⁾。一方で、個々の遺伝子の発現レベルやエピジェネティックな状態は、動物種により異なるのはもちろん、同一個体の器官・組織ごとにも異なる。それではどこの段階までが、ヒトからマウスまで保存されているのだろうか。

近年のエピゲノム研究により、遺伝子発現レベルのエピジェネティックな制御機構は、ヒトとマウスでほぼ同じことが分かってきた。制御機構で代表的なのは、ヒストン修飾とmRNA発現レベルの関係であり、H3K4me3（ヒストンH3の4番目のリシンが3箇所メチル化修飾）による発現上昇、H3K27me3での発現低下などがある。34の転写因子を調べた研究で、転写因子結合とヒストン修飾の共局在（例えば、赤血球前駆細胞で、CHD1結合部位はH3K4me3+H3K27acに偏る）はヒトとマウスでほぼ共通することが報告されている²⁾。ヒト・マウス・ブタを調べた研究では、異種間でのmRNA発現の保存（類似度）に対して、ヒストン修飾の保存度は良い指標になるが、DNA配列自体の保存は指標にならないことが報告されている³⁾。

モデル動物で遺伝子を研究するときには、エピジェネティック制御を調べることが有用であり、エピジェネティック制御が種間で保存されているならモデル動物での再現性は高くなることが期待できる。ヒトおよびマウスでは、ENCODE, Roadmap Epigenomics Consortium, IHECなどの大規模プロジェクトによりエピゲノムデータが充実してきている。ラットでは小規模なエピゲノム研究が行われているものの、データが散在しており、その利活用は容易でない。

Organ	Strain	Sex	Experiments (number of biological replicates, Accession no.)					Whole Genome Bisulfite Sequencing
			RNA-seq	ChIP-seq				
				H3K27me3	H3K4me1	H3K4me3	H4K20me1	
Liver	SHR/Izm	Male		4	3	3	3	PRJEB3022
	BN	Male		4	3	3	3	PRJEB3022
	Ficsher 344	Male	4	PRJNA238328				
Heart	SHR/Izm	Male		3	3	3	3	PRJEB3022
	BN	Male		3	3	3	3	PRJEB3022
	Ficsher 344	Male	4	PRJNA238328				4 PRJEB1413

Accession no. shown for <http://www.ebi.ac.uk/ena>

表1. 現在利用できるデータの種類とオリジナルの登録番号。

そこで、ラットのエピゲノム研究を促すべく、公共データベースに寄託されている三種のエピゲノム生データ（①mRNA発現データ、②ヒストン修飾データ、③CpGメチル化データ）を加工・集積して、USCS Genome Browserで簡単に閲覧できるようにした。ここで用いた生データは、European Nucleotide Archiveから自由に利用できるように提供されているものである（表1）。①mRNA発現については、Yu et al.⁴⁾がFischer 344系統の様々な器官と発達段階について測定したRNA-seqデータを用いた。②ヒストン修飾については、Rintisch et al.⁵⁾がBN, SHR/Izmなどの系統の肝臓と心臓について測定したChIP-seqデータを用いた。③CpGメチル化については、Johnson et al.⁶⁾がBN, SHR/Olalpcvなどの系統の心臓について測定したWhole Genome Bisulfite Sequencing (WGBS) データを用いた。USCS Genome Browserでは、5kbごとに平均したCpGメチル化率を表示しており、これは0~1の間の値を取る（メチル化率が低いほど0に近づくがぴったり0になることは殆ど無い）。ゲノムの一部でマッピングできなかった箇所については、0と表示される。

こうして、加工・集積した三種のエピゲノム生データを組み合わせると、エピジェネティック制御の *in silico* での推定が可能と思われる。その例を2つほど示す。

図1は、肝臓で特異的に発現する Complement factor H (*Cfh*) の領域である。肝臓では、mRNAが発現しており (RNA-seqで *Cfh* の exon に一致してピークがみられる)、プロモータ付近に転写活性化を示す H3K4me3が、gene bodyでは転写活性化を示す H3K4me1 と H4K20me1が見られる (それぞれバーコード様の縦線がメチル化のみられる部位を示す)。心臓では、mRNA発現もヒストン修飾も少なく、CpGメチル化率も1に近い。

図2は、心臓で特異的に発現する Natriuretic peptide A, B (*Nppa*, *Nppb*) の領域である。心臓では、mRNAが発現しており、gene bodyでは転写活性化を示す H3K4me3が、周辺でも H3K4me1が見られ、全体的に CpGメチル化率は1より低くなっている。肝臓では、mRNAは発現しておらずヒストン修飾も少ない。

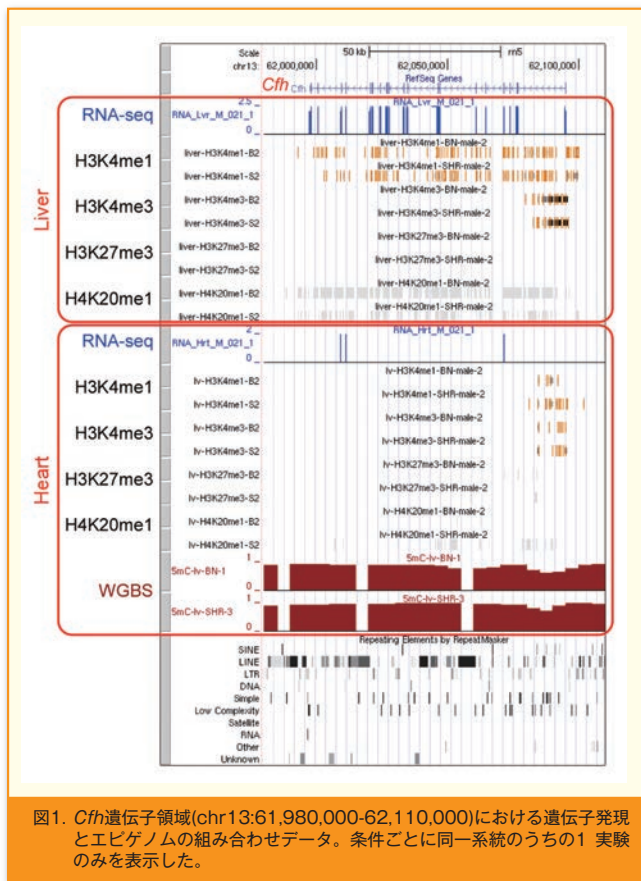


図1. *Cfh* 遺伝子領域 (chr13:61,980,000-62,110,000) における遺伝子発現とエピゲノムの組み合わせデータ。条件ごとに同一系統のうちの1 実験のみを表示した。

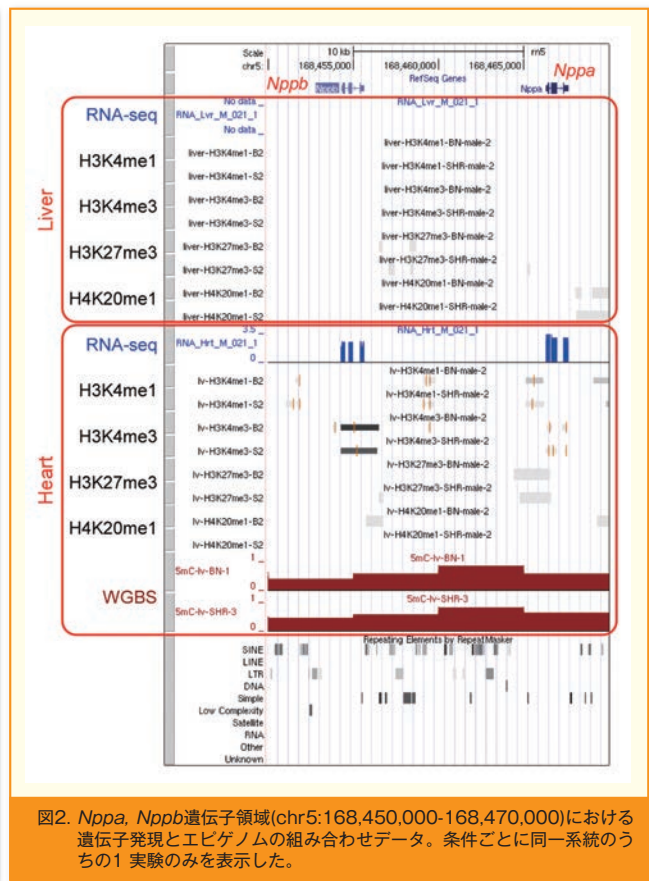


図2. *Nppa*, *Nppb* 遺伝子領域 (chr5:168,450,000-168,470,000) における遺伝子発現とエピゲノムの組み合わせデータ。条件ごとに同一系統のうちの1 実験のみを表示した。

本稿のデータは以下の URL から自由に利用できます。感想・要望などお寄せください。

<https://sites.google.com/site/fumitakeuchi/rat>

参考文献

- 1). Allis, C. D. *et al. ed. Epigenetics, Second Edition.* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2015).
- 2). Cheng, Y. *et al. Principles of regulatory information conservation between mouse and human. Nature* **515**, 371-375 (2014).
- 3). Xiao, S. *et al. Comparative Epigenomic Annotation of Regulatory DNA. Cell* **149**, 1381-1392 (2012).
- 4). Yu, Y. *et al. A rat RNA-Seq transcriptomic BodyMap across 11 organs and 4 developmental stages. Nature Communications* **5**, 3230 (2014).
- 5). Rintisch, C. *et al. Natural variation of histone modification and its impact on gene expression in the rat genome. Genome Res* **24**, 942-953 (2014).
- 6). Johnson, M. D. *et al. Genetic Analysis of the Cardiac Methylome at Single Nucleotide Resolution in a Model of Human Cardiovascular Disease. PLoS Genet* **10**, e1004813 (2014).