

遺伝情報継承に重要な染色体領域を維持する仕組みを解明

～がん化プロセスの理解やその治療への貢献に期待～

ポイント

- ・隣り合った異なるクロマチン構造を分ける仕組みを解明。
- ・この仕組みが破たんすると遺伝情報が次世代へ安定に継承されないことを確認。
- ・CENP-A の異所的局在を標的とする新たながん治療薬の開発に期待。

概要

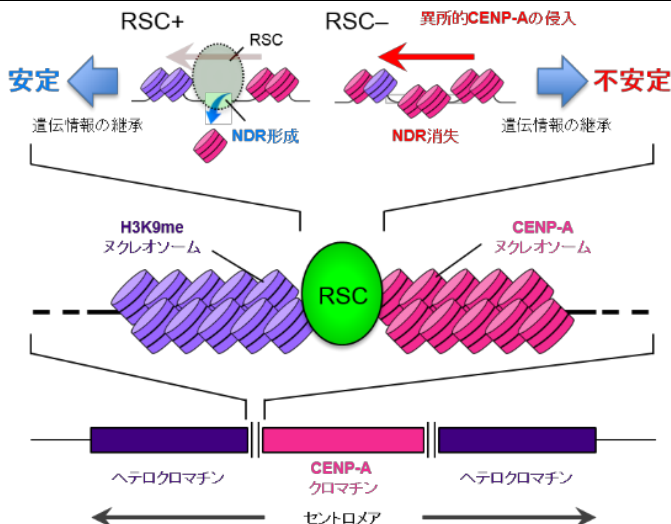
北海道大学大学院理学研究院の村上洋太教授及び常峰 悟学術研究者らの研究グループは、遺伝情報を継承するために重要な染色体領域を安定に維持する仕組みの一端を明らかにしました。

セントロメアは染色体を正確に分配するうえで最も重要な染色体領域です。セントロメアは、2つの異なるクロマチン構造から構成されており、内側領域には CENP-A タンパク質*1 で規定される CENP-A クロマチンが、外側領域にはヒストン H3 の 9 番目のリジンのメチル化で規定されるヘテロクロマチン*2 が形成されます。2つのクロマチン構造の境界は厳密にその場所が決まっていますが、それがどのようにして形成されるのか、そのメカニズムの詳細は分かっていませんでした。

研究グループは、クロマチン関連の多くのプロセスで重要な役割を果たしているクロマチンリモデラー*3 の 1 つ、RSC(Remodeling the Structure of Chromatin)の機能に着目し、分裂酵母を用いて RSC と境界形成との関係を遺伝学的・生化学的に解析しました。その結果、RSC は境界領域で CENP-A クロマチンがヘテロクロマチンへ侵入するのを防いでいること、また、この CENP-A の異常拡張により染色体の次世代への正確な継承が損なわれることが明らかになりました。さらなる解析から、RSC は境界領域にヌクレオソーム欠失領域 (Nucleosome-Depleted Region, NDR) の形成を誘導し、この NDR が CENP-A クロマチンとヘテロクロマチンの境界として機能することが分かりました。

近年、様々ながん細胞で、セントロメア以外の染色体領域に CENP-A の異所的局在がみられることが報告されており、それに伴う染色体の不安定化とがん化との関係が注目されています。一方、RSC を含むクロマチンリモデラーの変異は様々ながんで見つかることから、これらはがん抑制因子として働くことが分かっています。本研究により、クロマチンリモデラーの変異によるがん化の原因が CENP-A の異所的局在である可能性が示されました。この研究結果は、がん化の原因に対する理解に寄与するとともに、このシステムを標的とした新たながん治療薬の開発などにも発展することが期待されます。

なお、本研究成果は、2022 年 10 月 6 日 (木) に Nucleic Acids Research 誌でオンライン公開されました。



RSC による異所的 CENP-A 侵入に対するバリア機構と遺伝情報継承との関係

【背景】

私たちヒトをはじめとする生物の遺伝情報は DNA に記録されています。DNA は糸状の長い分子なので、ヒストンと呼ばれるタンパク質に巻き付いて「ヌクレオソーム」*⁴ という単位を形成し、DNA 同士が絡み合わないよう、細胞の中に収納されています。ヌクレオソームがいくつか集まりグループになったものを「クロマチン」と呼び、さらにクロマチンが多数集合して凝集しコンパクトになったものを「染色体」と呼びます。

染色体の中にはクロマチンを基盤とする特定の働きを持つ領域（機能ドメイン）がいくつかあります。その中でも特に重要なのが「セントロメア」と呼ばれる機能ドメインです。セントロメアは、細胞が分裂する際にあらかじめ複製された染色体を娘細胞に均等に分配するために必須の染色体領域です。セントロメアの機能が破綻した細胞は、染色体を正確に分配することが出来なくなるので、遺伝情報を次世代に安定して継承出来ず、増殖することが出来ません。このため、セントロメアは染色体の機能ドメインの中で最も重要であると言っても過言ではありません。

セントロメアは、CENP-A タンパク質を含むヌクレオソームからなる「CENP-A クロマチン」とメチル化されたヒストン H3 (H3K9me) を含むヌクレオソームからなる「ヘテロクロマチン」の 2 つのクロマチンから構成されています。CENP-A クロマチン上にはセントロメアに特異的なタンパク質群（キネトコアタンパク質）が集積し「動原体」*⁵ が形成され、これが染色体分配において中心的な役割を担っています。一方、その周縁部に形成されるヘテロクロマチンは動原体を構造的・機能的に支える役割を担っていると考えられています。それぞれのクロマチンが形成される染色体上での位置やそのサイズは厳密に決まっており、それぞれが正しく形成されないとセントロメアの機能が損なわれてしまいますが、それらを調整するメカニズムの詳細は未だ明らかではありません。

そこで研究グループは、先行研究から CENP-A クロマチンとヘテロクロマチンとの「境界」で機能することが予想されていた RSC の機能が失われたときに、セントロメアにどのような変化が起きるのかを遺伝学的・生化学的に解析することにしました。

【研究手法と成果】

研究グループは、セントロメア研究の優れたモデル系である分裂酵母を用いて研究を進めました。分裂酵母のセントロメアは、ヒトやマウスなどの高等真核生物のセントロメアとよく似ていること及びより単純なクロマチン構造を持つことから、セントロメア研究によく用いられています。以前に研究グループは、分裂酵母の RSC を構成するタンパク質の 1 つである Sfh1 の機能が失われると、染色体が均等に分配されなくなることを報告していました。そのことから、Sfh1/RSC がセントロメアの機能に関わることが予想されましたが、そのメカニズムはよく分かっていませんでした。そこで、RSC がどのようにしてセントロメアの機能に関わっているのかを、*sfh1* 遺伝子に変異がある分裂酵母株 (*sfh1* 変異株) のセントロメア構造の質的变化、その変化がセントロメア機能にもたらす影響、RSC によるセントロメアクロマチンの制御機構の 3 つの視点から明らかにしていくことにしました。

研究グループは、野生株と *sfh1* 変異株のセントロメア構造の違いをクロマチンレベルで明らかにすることに着手し解析を進めたところ、*sfh1* 変異株ではヘテロクロマチン領域に CENP-A ヌクレオソームが異所的に形成されていることを発見しました。また、この異所的 CENP-A は、キネトコアタンパク質を本来これが集積しないヘテロクロマチン領域に連れて来ており、その結果として、動原体として働く領域のサイズが野生株と比べて大きくなっていました。このことが *sfh1* 変異株で染色体が均等に分配されない原因であるという仮説が考えられました (図 1.*sfh1* 変異株)。

続いて研究グループは、この仮説を検証するために、*sfh1* 変異株の異所的 CENP-A が解消される条

件を検討しました。仮説が正しければ、その条件下では *sfh1* 変異株の染色体分配の異常も解消されていると考えられるからです。検討を進めたところ、*clr3* 遺伝子が欠損した *sfh1* 変異株（二重変異株）では、ヘテロクロマチン領域の異所的 CENP-A が解消されている事が明らかになりました。Clr3 タンパク質は、ヘテロクロマチン領域のヒストンのアセチル化レベルの上昇を抑える働きをする酵素（Histone deacetylase, HDAC）であることから、この領域のアセチル化レベルの上昇が異所的 CENP-A の形成を解消したと考えられます。そこで、*sfh1* 変異株を HDAC の働きを阻害する TSA という薬剤に曝露し、ヘテロクロマチン領域への影響を調べたところ、二重変異株と同様に、この領域の異所的 CENP-A が解消されることが明らかになりました。加えて、このアセチル化によって異所的 CENP-A が解消された *sfh1* 変異株では、染色体分配の機能が正常近くに回復することも明らかになりました（参考図：*sfh1* 変異株 + ヒストンのアセチル化）。したがって、研究グループの立てた仮説は正しかったことが示されました。

最後に、RSC がどのようにして異所的 CENP-A の形成を抑えているのか、そのメカニズムの解明に着手しました。*sfh1* 変異による異所的 CENP-A の形成は、セントロメア以外のヘテロクロマチン領域では起こっていなかったため、CENP-A はセントロメアの中央から周縁のヘテロクロマチンへ侵入すること、RSC が 2 つのクロマチン領域の間でこれを防いでいることが推測されました。解析を進めた結果、RSC は CENP-A クロマチンとヘテロクロマチンとの境界領域にヌクレオソーム欠失領域（Nucleosome-Depleted Region, NDR）の形成を誘導することが明らかになりました。NDR には、その両側にあるクロマチン領域を分離する役割があることが知られています。したがって、*sfh1* 変異株では、RSC が働かなくなることでこの分離作用が失われた結果、中央部の CENP-A クロマチンが外側のヘテロクロマチンへ侵入したのではないかと推察されました。

そこで研究グループは、*sfh1* 変異株セントロメアの境界領域に、NDR の役割を代替するようなものを人為的に導入すれば、RSC の機能不全をバイパスし異所的 CENP-A が解消されるのではないかと考えました。一般的に、転写反応が活発な領域では高効率なヌクレオソームの交換が起こることが知られており、これが NDR と同様に機能する可能性があります。そこで、転写活性遺伝子を *sfh1* 変異株セントロメアの境界領域に挿入したところ、ヘテロクロマチン領域の異所的 CENP-A が解消されることが明らかになりました。したがって、活発な転写反応は NDR によるクロマチン分離作用を代替できること、通常は RSC が境界領域でこれを制御していることが分かりました。

以上の結果から、RSC は CENP-A クロマチンとヘテロクロマチンの境界領域に NDR の形成を誘導し、これが異所的な CENP-A の拡張を防ぐことが示されました。RSC は、セントロメアに限らず、染色体上の他の領域にも存在することが知られています。研究グループは、RSC が、セントロメアに限らず、染色体全体で隣り合う異なったクロマチン領域を分離する“しおり”として働いているのではないかと考えています。

【今後への期待】

最近、多くのがんで CENP-A の過剰発現と異所性分布がみられ、これが悪性の進行度や患者の予後不良と相関していることが明らかになってきました。その原因は、染色体上のセントロメア以外の領域に形成された CENP-A ヌクレオソームが基盤となり異所的な動原体が形成されることで正確な遺伝情報の継承を妨げるためだと考えられています。

一方で、ヒトの *sfh1* 遺伝子に相当する *SNF5* 遺伝子はしばしばがんでその働きが失われ、急速進行性の発がんをもたらすことが知られていました。これらの知見と今回の研究結果を合わせて考えると、

ヒトでの *SNF5* 遺伝子の機能喪失による発がんは、CENP-A の異所性分布が原因である可能性が浮かび上がってきます。単細胞生物である分裂酵母での結果を、多細胞生物であるヒトのがん化プロセスにそのまま当てはめるにはこれを支持する情報がまだ足りませんが、今後 CENP-A の異所性分布と *SNF5* との関係を探ることで、*SNF5* を標的とする新たながん治療薬の開発に発展することが期待されます。また俯瞰的に眺めてみると、遺伝情報を正確に維持する仕組みやそれに関わる因子が酵母でもヒトでも同じであるという事実は、我々に生命システムの普遍性を感じさせます。

論文情報

論文名	The chromatin remodeler RSC prevents ectopic CENP-A propagation into pericentromeric heterochromatin at the chromatin boundary (クロマチンリモデラーRSC はペリセントロメリックヘテロクロマチンへの異所的 CENP-A 侵入をクロマチン境界上で阻止する)
著者名	常峰 悟 ^{1,2} 、中川浩美 ² 、鈴木 穰 ³ 、村上洋太 ¹ (¹ 北海道大学大学院理学研究院、 ² 京都大学ウイルス研究所がんウイルス研究部門細胞制御学分野、 ³ 東京大学大学院新領域創成科学研究科)
雑誌名	Nucleic Acids Research (生命科学の専門誌)
DOI	10.1093/nar/gkac827
公表日	2022年10月6日(木)(オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院理学研究院 教授 村上洋太 (むらかみようた)

T E L 011-706-3813 F A X 011-706-3813 メール yota@sci.hokudai.ac.jp

U R L <http://wwwchem.sci.hokudai.ac.jp/~bo/>

配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

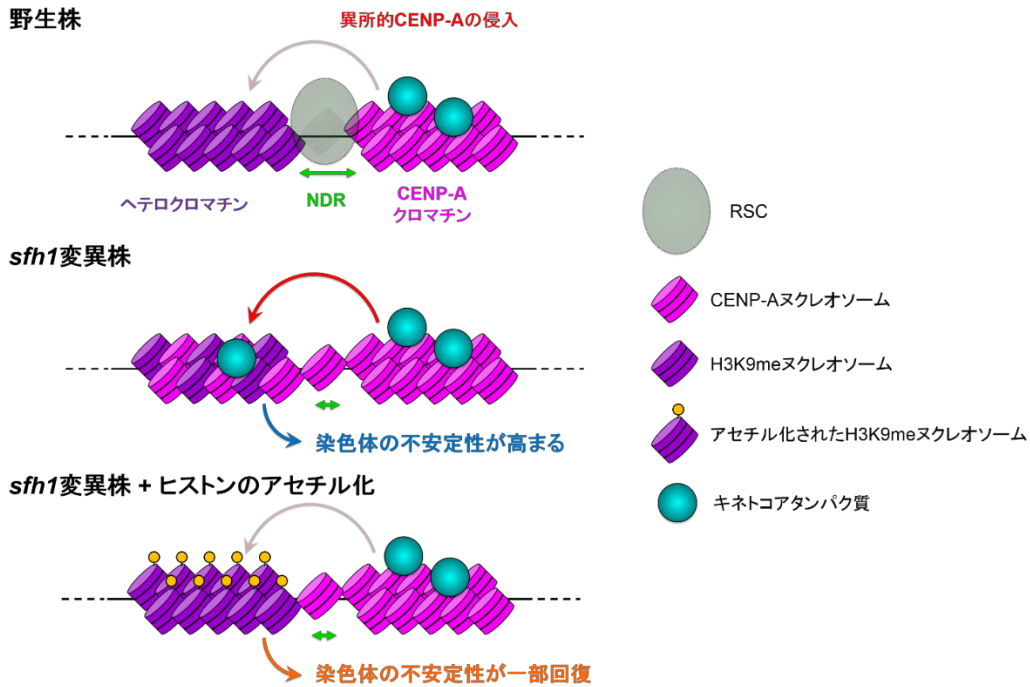


図 1. ヘテロクロマチン・CENP-A クロマチン境界の各変異体での変化。

【用語解説】

- *1 CENP-A タンパク質 … セントロメアに特異的に存在するヒストン H3 のバリエーション (亜種)。
- *2 ヘテロクロマチン … 常に凝縮した形状のクロマチン。そのため、ヘテロクロマチン内の遺伝子は転写されない。ヘテロクロマチンではヒストン H3 の 9 番目のリジンがメチル化されている。分裂酵母では、主にセントロメア、性決定領域、テロメアにみられる。
- *3 クロマチンリモデラー … ヌクレオソームを形成する、解体する、位置をずらす、などの機能を持つ機能分子。多くの場合、複数のタンパク質から構成されている。
- *4 ヌクレオソーム … ヒストンに DNA が巻き付いた構造体。DNA は長大な分子なので、ヒストンと呼ばれる球状のタンパク質複合体に巻き付いた状態で細胞の中に納められている。ヒストンは H2A、H2B、H3、H4 の 4 種類のタンパク質から構成されている。
- *5 動原体 … セントロメアを基盤として形成される巨大なタンパク質複合体。細胞が分裂する際にこの部分に微小管が結合し、染色体が分配されていく。