

# ES 細胞分化過程において継時的に分布変化するヒストン修飾を同定 — ヒト幹細胞が分化する時、核では何が起きているのか —

## 概要

京都大学物質-細胞統合システム拠点 (iCeMS = アイセムス) Georgia Kafer 研究員 (現: The Children's Medical Research Institute, Australia)、田中良尚 同技術補佐員 (現: 薬学研究科博士課程)、Regina Rillo 同研究員 (現: University of California, USA)、Peter Carlton 同連携 PI (生命科学研究所准教授)らの研究グループは、高解像度顕微鏡と独自に開発した画像解析プログラムを用いることにより、ヒト胚性幹細胞 (ES 細胞) が分化する過程で継時的に分布が変化するヒストン修飾を新たに同定しました。

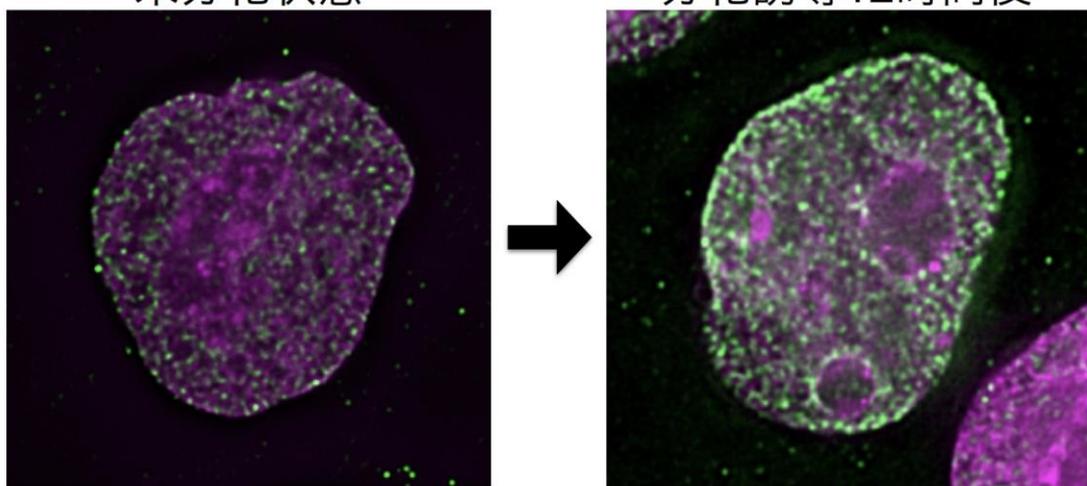
ES 細胞はあらゆる細胞に分化する能力を有しており、この多能性を利用して様々な種類の細胞へ人工的に分化誘導させることができます。そしてこの分化過程において、DNA とヒストンと呼ばれるタンパク質の集合体であるクロマチンの構造が、細胞核内で劇的に変化することで、特定の細胞分化に必要な遺伝子発現を制御しています。したがって、クロマチン構造は ES 細胞の分化過程を理解する上で極めて重要な要素ですが、クロマチン構造レベルでのそれらの包括的なメカニズム解明にはまだ至っていません。本研究は、そのクロマチン立体構造を制御する因子の1つであるヒストンの修飾変化に着目し、ヒストン H2 のタンパク質バリエーションである H2A.Z のアセチル化 (H2A.Z.ac) と、ヒストン H3 タンパク質の 9 番目リシンのジメチル化 (H3K9me2) の分布が、ES 細胞分化の進行に伴って細胞核膜周辺領域において協調的に変化することを発見しました。本成果は、ES 細胞分化における細胞核内でのクロマチン構造変化と遺伝子発現制御の関係性を理解する上で重要な知見であり、今後、クロマチン構造に基づいた具体的な遺伝子発現メカニズムの解明が期待されます。

本成果は、2020 年 11 月 16 日に国際学術誌「Journal of Cell Science」にオンライン掲載されました。

## ヒト胚性幹細胞

未分化状態

分化誘導12時間後



DNA (マゼンタ色)

アセチル化されたヒストン H2A.Z (緑色)

## 1. 背景

ES 細胞はあらゆる細胞へ分化できる能力を有しています。そして、ある特定の細胞へ分化が誘導される際には、ES 細胞の遺伝子発現ネットワークが大きく変化します。多くの研究を通じて、特定の臓器の細胞へ ES 細胞を分化させることができるようになり、現在 ES 細胞は再生医療の分野での応用が特に期待されています。しかし、その分化における遺伝子発現制御システムにはまだ謎が多く残されています。具体的には、ES 細胞分化過程において、ES 細胞は多能性を維持する遺伝子発現を抑制すると同時に、特定の細胞固有の遺伝子発現を促進させる必要があります。この遺伝子発現の変化には、クロマチンの構造変化が重要であることが知られています。クロマチン構造は、「オープン(open)」な状態になると転写因子などが結合できる空間的余裕が生まれるため遺伝子発現が促進され、一方「クローズド(closed)」で密な状態になると遺伝子発現が抑制される、といったように、立体構造が変化することで遺伝子発現を制御することがわかっています。このオープン、もしくはクローズドのクロマチン構造は、ヒストンや DNA がメチル化やリン酸化などの修飾を受けることで制御されています。つまり、これらのヒストン・DNA 修飾によるクロマチン構造変化は ES 細胞分化の過程における遺伝子発現制御にとって極めて重要な要因となっていますが、それらの修飾がどのようにクロマチン構造を制御しているのか、というクロマチンレベルでの遺伝子発現制御システムは不明のままです。その中でも、特にヒストン修飾はクロマチン構造に大きく関与し、例えばヒストンのアセチル化は「オープン」なクロマチン、ヒストンのメチル化は「クローズド」なクロマチンというように、クロマチン状態を示す手がかりはいくつか見つかっていますが、それらが分化の過程でどのように細胞核内で分布するのかという点については分かっていませんでした。

## 2. 研究手法・成果

本研究においては、ES 細胞が栄養芽様細胞へと分化する過程に起こる様々なヒストン修飾の核内分布変化を、分化の時系列に沿って網羅的に調べました。核内での分布変化について高解像度顕微鏡を用いて調べることにより、分化過程に渡って、核内のどこに特定のヒストン修飾が分布しているか、を観察することができます。今回私たちは、細胞核膜周辺におけるヒストン分布を調べたところ、細胞の分化に伴って 2 つのヒストン修飾の分布が大きく変化することに気づき、新たに開発した画像解析プログラムを用いて定量的にそれらの現象を詳細に調べました。その結果、分化過程の初期においてはアセチル化されたヒストン H2A.Z(H2A.Zac)シグナルが細胞核膜近傍で増強し、そして、分化がより進行して ES 細胞の多能性が喪失するにつれてその H2A.Zac シグナルが減弱すると同時に、メチル化されたヒストン H3(H3K9me2)シグナルが増強されることを発見しました。加えて、この H2A.Z のアセチル化を制御するヒストン脱アセチル酵素が、分化過程において重要な役割を果たしていることも突き止めました。

## 3. 波及効果、今後の予定

今回はクロマチンを構成するヒストンの修飾分布変化を調べ、特徴的な 2 つのヒストン修飾(H2AZ.ac と H3K9me2)が、細胞分化過程でのダイナミックなクロマチン構造変化に関与するという重要な手がかりを示しました。この 2 つの修飾であるアセチル化とメチル化は、遺伝子発現の促進と抑制にそれぞれ関与することが知られているため、この結果は、本分化過程のわずか数日の間で細胞核膜部位の遺伝子発現が劇的に変化していることを示唆しています。細胞核膜部位に存在する「クローズド」なクロマチンに含まれている遺伝子群を調べることで、今回の発見で示唆されたクロマチン構造変化に基づく具体的な遺伝子制御システムの解明が期待できます。

#### 4. 研究プロジェクトについて

本研究は、日本学術振興会外国人特別研究費(#24-02079)、公益財団法人 稲盛財団、公益財団法人 住友財団、文部科学省世界トップレベル研究拠点プログラム(WPI)による京都大学 物質-細胞統合システム拠点(iCeMS)の支援を受けて実施されました。

##### <用語解説>

**ヒストン**：コアヒストン4種類とリンカーヒストン1種類の計5種類から成るタンパク質。DNAはコアヒストンで構成されるヒストン8量体に巻きついて核内に存在しており、この構造をヌクレオソームと呼ぶ。ヒストンタンパク質の末端領域は、アセチル化・メチル化・リン酸化などの修飾を受けてクロマチン構造を制御する。

**クロマチン**：DNAとヒストンから構成されたヌクレオソームの集合体を指す。3次元構造が変化することによって遺伝子発現を制御している。

##### <研究者のコメント>

本研究がターゲットとしている細胞核内は、私たち生物の基盤となるDNAが格納されている場所であり、顕微鏡を通してその世界を実際に目で見ることができます。そこには、生物が時間をかけてデザインしてきた精巧なシステムの美しさと複雑さが広がっています。本研究は、その多様な表情を見せる細胞の不思議に魅了された研究者たちが、毎日顕微鏡を覗き、バトンを繋ぎながら完成に至りました。本研究が、クロマチン構造変化と遺伝子発現制御の関係性という、生物学上の大きな謎を解明する一助となることを期待しています。

##### <論文タイトルと著者>

タイトル：Sequential peripheral enrichment of H2A.Zac and H3K9me2 during trophoblast differentiation in human embryonic stem cells (日本語訳: ヒト胚性幹細胞が栄養芽様細胞へ分化する過程においてヒストン修飾—H2A.ZacとH3K9me2—が順次、核膜付近へ局在する)

著者：Georgia Rose Kafer, Yoshihisa Tanaka, Regina Rillo-Bohn, Eiko Shimizu, Kouichi Hasegawa, Peter M. Carlton

掲載誌：Journal of Cell Science DOI：10.1242/jcs.245282