

＜シンポジウム (4)-12-4＞孤発性疾患における遺伝子異常の探索法

## エピゲノム：Rett 症候群からわかったこと

久保田健夫<sup>1)</sup>

要旨：DNA の化学修飾に基づく遺伝子発現調節機構をエピゲノムといい、この機構の異常が種々の小児神経疾患の原因となることが明らかにされてきた。われわれは、自閉症疾患のレット症候群の病態が先天性のエピゲノム修飾タンパク質の異常による神経細胞内の遺伝子調節の破綻であることや、本症の一卵性双生児間の臨床的差異が後天的に生じたエピゲノム差異である可能性を明らかにしてきた。

(臨床神経 2013;53:1339-1341)

Key words：エピゲノム, Rett 症候群, ゲノム修飾, DNA メチル化, 後天性

今世紀初頭にヒトのゲノム配列が決定され、これを基盤にして種々の疾患関連遺伝子が同定された。その恩恵を一番受けたのが神経疾患領域である。なぜならヒト患者の脳サンプルを採取することは困難であるため神経疾患の原因究明は遅れていたが、連鎖解析などの遺伝学的手法により患者の血液サンプルで疾患の原因（遺伝子）を明らかにすることができたからである。一方、遺伝学的研究の進展により、欠失や変異といった遺伝子の機能喪失と重複という遺伝子の機能亢進のいずれも同一の疾患の原因となることが判明し、この疾患は Charcot-Marie-Tooth 病やパーキンソン病といった末梢・中枢神経系疾患であった<sup>1)</sup>。すなわち脳神経系は遺伝子の厳密な調節を必要とする臓器であることが判明した。このような背景の下、DNA 配列に依存せず DNA あるいはヒストンタンパク質の修飾に依存する遺伝子発現調節機構（エピジェネティクス）の存在が明らかにされた。すなわちゲノム上の遺伝子はそれぞれ固有のエピジェネティックパターン（エピゲノム）を有し発現を制御されていること、またこの機構の破綻によって小児神経疾患やがんが発症することがわかってきた。

エピジェネティックな遺伝子発現調節が関与する現象としてゲノム刷込みと X 染色体不活化がある。ゲノム刷込みとは、両親から受け継いだ一対の遺伝子のうち父親由来の染色体上の遺伝子は発現するが、母親由来の遺伝子はメチル化修飾を受けて発現しない（あるいはその逆）といった片親発現パターンを示す現象である。このようなゲノム刷込み遺伝子の無発現で生ずる疾患が過食による肥満や精神症状を呈する Prader-Willi 症候群である (Fig. 1A)<sup>2)</sup>。また女性が有する 2 本の X 染色体のうち 1 本が不活化されていることで、1 本しか持たない男性とのバランスをとっていると考えられている。このような女性でのみみられる現象を X 染色体の不活化とよんでいる。この不活化が生じないと流産してしまうか、生まれて来ても重篤な障害を呈する (Fig. 1B)。すなわちエピジェネティックな遺伝子レベル・染色体レベルの調節

が脳の正常な発育や維持に重要であることが示唆された。一方、エピゲノム修飾は、ゲノム配列よりも、種々の環境ストレスの影響を受けやすいことが判明し、胎生期の低栄養や環境化学物質の暴露、生直後の精神ストレスなどが成人期の生活習慣病や精神疾患の発症にかかわっていることが動物実験で示され始めた (Fig. 2)<sup>3)</sup>。

近年、エピゲノムに規定される遺伝子調節機構に関与するタンパク質が明らかにされてきた。このような中、自閉症・てんかん・失調性歩行・特有の手の動作を特徴とする小児神経疾患である Rett 症候群の原因が、偶然、エピゲノム修飾関連タンパク質の遺伝子変異であることが判明した。本研究をおこなっていた米国の研究グループは連鎖解析から染色体 Xq28 領域に本症の責任遺伝子の座位を絞りこみ、当初、自閉症に関連しそうな神経シナプス関連タンパク質遺伝子を探していたが、患者の多数で変異がみいだされたのは意外な遺伝子である *MECP2* であり、この発見によりはじめて神経異常とエピゲノム異常が結びついた (Fig. 1C)<sup>4)</sup>。これにより *MeCP2* により神経細胞内で調節を受ける遺伝子の同定が進み、*MECP2* 変異により神経細胞接着因子のプロトカドヘリン遺伝子の発現調節異常が本症の神経症状に関係していることが判明した<sup>5)</sup>。また *MeCP2* は当初、神経細胞特異的に発現するタンパク質と考えられていたが、アストロサイトでも発現していることもわかった<sup>6)</sup>。

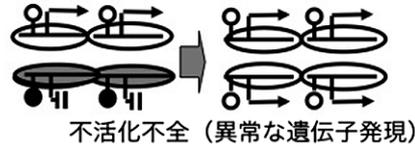
*Mecp2* 遺伝子のノックアウトマウスは Rett 症候群の神経症状を模倣するマウスモデルである。このマウスの脳を刺激するような遊び道具の多い環境で育てると神経発達が促進することが明らかにされた<sup>7)</sup>。*Mecp2* ノックアウトマウスに正常 *Mecp2* 遺伝子を任意の時期に薬物投与により On にできる形で挿入したノックインマウスを作成し、このマウスが生後神経症状を呈した後、薬物を与え正常 *Mecp2* 遺伝子を On にしたところ、神経症状（歩行障害）が消失したとの報告もなされた<sup>8)</sup>。これらから、*MeCP2* の異常すなわちエピゲノム

<sup>1)</sup> 山梨大学大学院医学工学総合研究部環境遺伝医学講座〔〒409-3898 山梨県中央市下河東 1110〕  
(受付日：2013 年 6 月 1 日)

## A. ゲノム刷込み疾患



## B. X染色体不活化異常症



## C. メチル化-CpG 結合タンパク質の異常 (Rett症候群)



Fig. 1 先天異常症の原因となるエピゲノム異常.

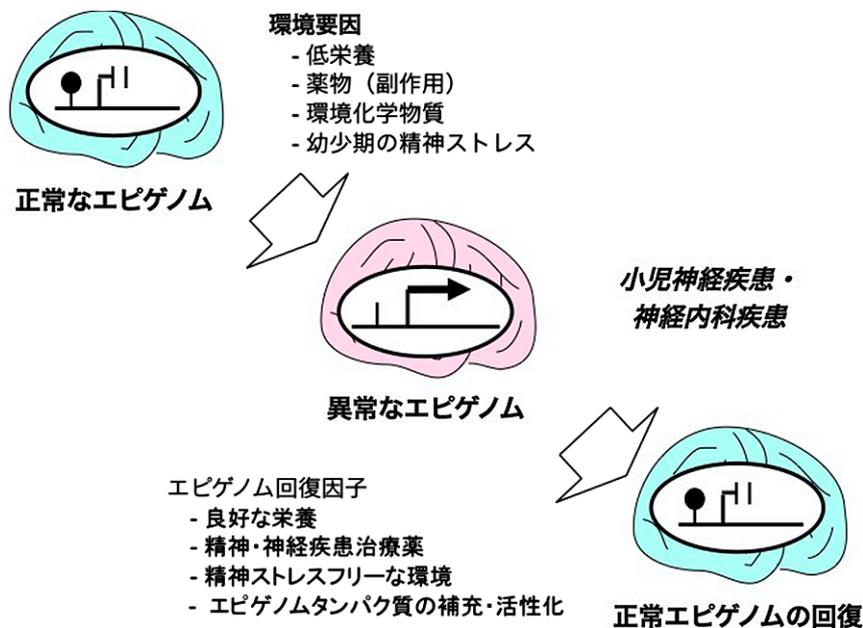


Fig. 2 脳の発達過程に生ずる後天性のエピゲノム異常とその要因.

に規定される遺伝子発現調節の異常は生後の治療で改善が可能であることが示された (Fig. 2). 最近われわれは, 症状や経過が大きくことなるレット症候群の一卵性双生児姉妹を対象にゲノム・エピゲノム比較研究をおこなった. その結果, 全ゲノム配列比較では, コピー数多型もふくめて, 配列の違いがみいだせなかったが, 網羅的エピゲノム (45 万 CpG 部位の DNA メチル化) 解析では 200 箇所以上のメチル化相違箇所がみいだされ, このうち 3 種の神経・筋関連遺伝子においてメチル化とそれに呼応する遺伝子発現の双子間差異をみ

いだされた<sup>9)</sup>. またこれらの結果から, エピゲノム差異は後天的に生じることも示唆された.

これまで神経内科領域では神経難病の責任遺伝子がつぎつぎに判明し, 先天的に有する DNA 配列異常が神経疾患の原因となることが示されてきた. その一方で, アルツハイマー病やパーキンソン病などの多数の患者が存在する疾患の遺伝学的原因はゲノムワイドな関連解析などでも解明しきれていない. これらのように遺伝学的素因とともに環境要因の関与も想定される疾患では「後天的なエピゲノム変化によって原

因となる遺伝子の発現調節の異常が生じている」と考えることができる (Fig. 2).

しかし、エピゲノムの観点から診断や所見をえるためには、血液組織ではなく神経疾患の標的組織である脳組織が必要である。このため、上記の仮説の実証には困難も予想される。そこで、神経疾患のエピゲノム異常を画像診断で判定できる技術開発のブレークスルーが待たれるところであり、その前段階として、脳内のエピゲノム異常を再現できる技術の報告がごく最近なされたところである<sup>10)</sup>。

※本論文に関連し、開示すべきCOI状態にある企業、組織、団体はいずれも有りません。

## 文 献

- 1) Obi T, Nishioka K, Ross OA, et al. Clinicopathologic study of a SNCA gene duplication patient with Parkinson disease and dementia. *Neurology* 2008;70:238-241.
- 2) Kubota T, Das S, Christian SL, et al. Methylation-specific PCR simplifies imprinting analysis. *Nat Genet* 1997;16:16-17.
- 3) Weaver IC, Cervoni N, Champagne FA, et al. Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat Neurosci* 2004;7:847-854.
- 4) Amir RE, Van den Veyver IB, Wan M, et al. Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2; encoding methyl-CpG-binding protein 2. *Nat Genet* 1999;23:185-188.
- 5) Miyake K, Hirasawa T, Soutome M, et al. The protocadherins, PCDHB1 and PCDH7, are regulated by MeCP2 in neuronal cells and brain tissues: implication for pathogenesis of Rett syndrome. *BMC Neurosci* 2011;12:81.
- 6) Nagai K, Miyake K, Kubota T. A transcriptional repressor MeCP2 causing Rett syndrome is expressed in embryonic non-neuronal cells and controls their growth. *Brain Res Dev Brain Res* 2005;157:103-106.
- 7) Lonetti G, Angelucci A, Morando L, et al. Early environmental enrichment moderates the behavioral and synaptic phenotype of MeCP2 null mice. *Biol Psychiatry* 2010;67:657-665.
- 8) Guy J, Gan J, Selfridge J, et al. Reversal of neurological defects in a mouse model of Rett syndrome. *Science* 2007;315:1143-1147.
- 9) Miyake K, Yang C, Minakuchi Y, et al. Comparison of genomic and epigenomic expression in monozygotic twins discordant for Rett syndrome. *PLoS ONE* 2013;8:e66729.
- 10) Konermann S, Brigham MD, Trevino AE, et al. Optical control of mammalian endogenous transcription and epigenetic states. *Nature* 2013;500:472-476.

## Abstract

### Epigenome: what we learned from Rett syndrome, a neurological disease caused by mutation of a methyl-CpG binding protein

Takeo Kubota, M.D.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Epigenetic Medicine, Interdisciplinary Graduate School of Medicine and Engineering, University of Yamanashi

Epigenome is defined as DNA and histone modification-dependent gene regulation system. Abnormalities in this system are known to cause various neuro-developmental diseases. We recently reported that neurological symptoms of Rett syndrome, which is an autistic disorder caused by mutations in methyl-CpG binding protein 2 (MeCP2), was associated with failure of epigenomic gene regulation in neuronal cells, and that clinical differences in the identical twins with Rett syndrome in the differences in DNA methylation in neuronal genes, but not caused by DNA sequence differences. Since central nervous system requires precise gene regulation, neurological diseases including Alzheimer and Parkinson diseases may be caused by acquired DNA modification (epigenomic) changes that results in aberrant gene regulation as well as DNA sequence changes congenitally occurred (mutation).

(*Clin Neurol* 2013;53:1339-1341)

**Key words:** epigenome, Rett syndrome, genome modification, DNA methylation, acquired