

正常な発生過程では、細胞分化にともなって組織、細胞特異的な DNA メチル化パターンが形成されていく。一方、クローン胚では形成されていた細胞特異的なメチル化パターンを初期胚型に変換することができず、大部分が比較的発生初期で致死となる。初期胚型へ変換できた胚も、その後の組織、細胞特異的なメチル化パターンの形成が不完全であると死んでしまう。ごくわずかの出生にまで至った個体においてさえ、0.3%程度の DNA メチル化異常があると推測される。本図では、胎盤の DNA メチル化パターンを例に示した。また、現時点では DNA メチル化パターンの完全な初期化・再構築が可能かどうかは不明である。
(文献 11 より改変引用)

メチル化状態を変化させることが明らかとなった(次頁図 4)(論文投稿中)。近年では DNA メチル基転移酵素、ヒストン修飾酵素などの阻害剤で細胞を処理することにより細胞の形質を不可逆的に変化させることが可能であり、抗癌薬としての役割も注目されつつある^{18,19)}。しかしながら、現在のところ、このようなエピ変異原についての評価系は確立されていない。薬物の予期せぬ副作用のみならず、主作用の解明にも従来のパラダイムに加えてエピジェネティック解析が重要であることは間違いない。

おわりに

クローン動物における、また化学物質による DNA メチル化状態の変化と表現型との相関は、エピジェネティック制御が個体発生や細胞分化において重要な役

割を担っていることを示している。これまで再生医療用などの細胞種の同定では、形態的な特徴および特定の mRNA、蛋白質または糖鎖など細胞内で作られる数種類の分子のみを指標として用いている。本稿で示したとおり、T-DMR による DNA メチル化解析では数百のゲノム領域において解析可能であり、新しい細胞の同定法として期待される。エピジェネティック情報はこのような細胞の正常性評価に加え、化学物質(薬剤、環境汚染物質など)のリスクアセスメント、病気の診断、創薬標的探索など多岐にわたる応用が見込まれる。今後、ヒト、実験動物(マウス、ラット)、家畜などのゲノム全域を対象としたエピジェネティック情報の解析とデータベース整備が重要であり、ポストゲノム時代においてエピジェネティクスは生命科学領域の基盤となるはずである。

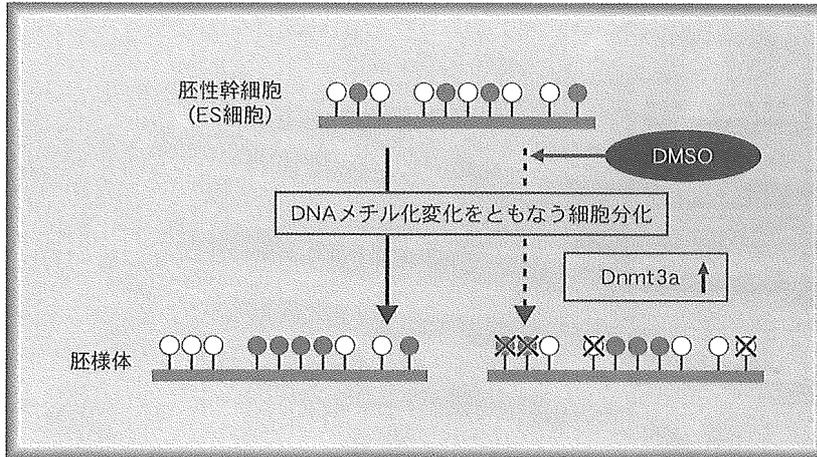


図4 DMSOがエピジェネティック制御系に及ぼす影響

組織、細胞がもつ固有のDNAメチル化プロファイルはDNAメチル基転移酵素、ヒストン修飾酵素などを含むさまざまなエピジェネティック制御因子によって形成、維持されている。DMSO処理によって、DNAメチル基転移酵素のひとつであるDnmt3aの発現が上昇し、さらに細胞のDNAメチル化プロファイルが変化することが明らかとなった。このように、化学物質によるゲノムレベルでの影響を調べるにはエピジェネティック解析が重要である。

○：非メチル化T-DMR，●：メチル化T-DMR。

References

- 1) Gruenbaum Y, Stein R, Cedar H, Razin A : Methylation of CpG sequences in eukaryotic DNA. *FEBS Lett* 124 : 67-71, 1981
- 2) Ehrlich M, Wang RY : 5-Methylcytosine in eukaryotic DNA. *Science* 212 : 1350-1357, 1981
- 3) Li E : Chromatin modification and epigenetic reprogramming in mammalian development. *Nat Rev Genet* 3 : 662-673, 2002
- 4) Gardiner-Garden M, Frommer M : CpG islands in vertebrate genomes. *J Mol Biol* 196 : 261-282, 1987
- 5) Cross SH, Bird AP : CpG islands and genes. *Curr Opin Genet Dev* 5 : 309-314, 1995
- 6) Imamura T, Ohgane J, Ito S et al : CpG island of rat sphingosine kinase-1 gene : tissue-dependent DNA methylation status and multiple alternative first exons. *Genomics* 76 : 117-125, 2001
- 7) Shiota K, Kogo Y, Ohgane J et al : Epigenetic marks by DNA methylation specific to stem, germ and somatic cells in mice. *Genes Cells* 7 : 961-969, 2002
- 8) Wakayama T, Yanagimachi R : Cloning of male mice from adult tail-tip cells. *Nat Genet* 22 : 127-128, 1999
- 9) Tanaka S, Oda M, Toyoshima Y et al : Placentomegaly in cloned mouse concepti caused by expansion of the spongiotrophoblast layer. *Biol Reprod* 65 : 1813-1821, 2001
- 10) Ohgane J, Wakayama T, Kogo Y et al : DNA methylation variation in cloned mice. *Genesis* 30 : 45-50, 2001
- 11) Shiota K, Yanagimachi R : Epigenetics by DNA methylation for development of normal and cloned animals. *Differentiation* 69 : 162-166, 2002
- 12) Ohgane J, Wakayama T, Senda S et al : The Sall3 locus is an epigenetic hotspot of aberrant DNA methylation associated with placentomegaly of cloned mice. *Genes Cells* 9 : 253-260, 2004
- 13) Senda S, Wakayama T, Yamazaki Y et al : Skewed X-inactivation in cloned mice. *Biochem Biophys Res Commun* 321 : 38-44, 2004
- 14) Holliday R : Mutations and epimutations in mammalian cells. *Mutat Res* 250 : 351-363, 1991
- 15) Zaheer HA, Gibson FM, Bagnara M et al : Differential sensitivity to cryopreservation of clonogenic progenitor cells and stromal precursors from leukemic and normal bone marrow. *Stem Cells* 12 : 180-186, 1994
- 16) Bouquet M, Selva J, Auroux M : Effects of cooling and equilibration in DMSO, and cryopreservation of mouse oocytes, on the rates of in vitro fertilization, development, and chromosomal abnormalities. *Mol Reprod Dev* 40 : 110-115, 1995
- 17) Si W, Zheng P, Li Y et al : Effect of glycerol and dimethyl sulfoxide on cryopreservation of rhesus monkey (*Macaca mulatta*) sperm. *Am J Primatol* 62 : 301-306, 2004
- 18) Goffin J, Eisenhauer E : DNA methyltransferase inhibitors-state of the art. *Ann Oncol* 13 : 1699-1716, 2002
- 19) Yoshida M, Furumai R, Nishiyama M et al : Histone deacetylase as a new target for cancer chemotherapy. *Cancer Chemother Pharmacol* 48 : S20-S26, 2001