

平成 27 年 5 月 20 日現在

機関番号：82401

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2010～2014

課題番号：22125005

研究課題名（和文）ゲノムアダプテーションにおけるストレス誘導性エピジェネティック変化の役割

研究課題名（英文）Role of stress-induced epigenetic change in genome adaptation

研究代表者

石井 俊輔（Ishii, Shunsuke）

独立行政法人理化学研究所・石井分子遺伝学研究室・上席研究員

研究者番号：00124785

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 99,900,000円

研究成果の概要（和文）：熱ショックストレスなどによるエピゲノム変化がATF-2ファミリー転写因子を介して誘導されるメカニズムが明らかにされ、それが次世代に遺伝することが示された。そしてATF-2ファミリー転写因子が、自然免疫系の免疫記憶、精神ストレスによるテロメア短縮にも関与することが示された。さらに、栄養条件や精神ストレスによっても、ATF-2ファミリー転写因子を介してエピゲノム変化が誘導され、それが次世代に遺伝することを私達は観察している。このように、ATF-2ファミリー転写因子が「多様な環境要因によるエピゲノム変化とその記憶」に大きく関わっていることが示された。

研究成果の概要（英文）：It was shown that transcription factor ATF-2 mediates the heat shock stress-induced epigenetic change which is transmitted to next generation. The ATF-2 family transcription factors are also involved in the innate immune memory and the psychological stress-induced telomere shortening. Furthermore, they mediate the epigenome change induced by nutritional condition and psychological stress which are transmitted to next generation. Thus, ATF-2 family transcription factors contribute to the epigenome change induced by various environmental factors and its inheritance.

研究分野：生物学

キーワード：エピゲノム 遺伝 ストレス 環境要因

## 1. 研究開始当初の背景

ストレスにより誘導されたエピゲノム状態の変化が遺伝するかどうかは、ラマルクによる「獲得形質の遺伝」にも関連し、生物の多様性獲得のメカニズムを理解する上で重要である。植物では、温度や日照変化によって生じる形質変化が遺伝することが知られており、エピジェネティックな現象であることが分かりつつある。しかし昆虫や動物では、このような現象の明確な例は報告されておらず、遺伝子レベルでの解析例がなく、一般には受け入れられていない。ストレス応答性の ATF-2 ファミリー転写因子は、私達が最初に同定した転写因子で、b-ZIP タイプの DNA 結合ドメインと、ストレス応答性キナーゼ p38 によるリン酸化部位を持つ。分裂酵母では ATF-2 ホモログがヘテロクロマチン形成に関与することが報告されており、ATF-2 ファミリー転写因子を介して、ヘテロクロマチンのエピゲノム状態が制御される可能性が示唆されていた。

## 2. 研究の目的

本研究では、ストレスによるエピゲノム状態の変化が、ATF-2 ファミリー転写因子を介して生じるかどうか、またその変化はどれくらいの期間持続するかなどについて明らかにする。ストレスの影響が世代を超えて遺伝することが分かれば、社会的にも大きなインパクトを与え得る。

## 3. 研究の方法

マウスとショウジョウバエを用いて、発生過程の色々な時期に、熱ショックなどの外部環境ストレスや精神ストレスを与えたり、病原体感染や高栄養などの多様な環境要因に曝す。その後、同じ世代で長期間を経た後や次世代での遺伝子発現パターンをアレイ解析や RNA-seq 法により解析する。同時にヒストン H3K9me などのヒストン修飾状態を

ChIP-seq 法や ChIP-qPCR 法により解析する。同様の解析を ATF-2 ファミリー転写因子の変異体を用いて行い、野生型の場合と比較する。

## 4. 研究成果

ショウジョウバエを用いて、熱ショックストレスにより誘導されるエピゲノム変化が次世代に遺伝されることを明らかにした (Cell, 2011)。転写が不活発なヘテロクロマチン領域では、ヒストン H3K9 がトリメチル化されている。ショウジョウバエ ATF-2 (dATF-2) はヒストン H3K9 トリメチル化酵素をヘテロクロマチンにリクルートしてヘテロクロマチンの形成・維持に関与する事を明らかにした。熱ショックストレスや高浸透圧ストレスなどの環境ストレスを、特に発生初期段階で与えると、dATF-2 がヘテロクロマチンから外れ、ヘテロクロマチン構造が壊れ転写が誘導されること、またその壊れた状態は完全には復元せず、部分的に壊れたヘテロクロマチン状態が次世代に遺伝することが分かった。親の世代だけで熱ショックストレスを受けると、その影響は子供にだけ遺伝し、孫には遺伝しないが、二世代にわたって熱ショックストレスを受けると、その影響は子供だけでなく孫にも伝わる事が分かった。このように、ATF-2 はストレスによるエピジェネティック変化の誘導とその遺伝に重要な役割を果たすことが示された。

また動物の自然免疫系にも記憶のメカニズムが存在し、ATF-2 ファミリー転写因子の 1 つである ATF-7 が関与することを明らかにした (論文 revision 中)。ATF-7 はマウスマクロファージにおいて、多数の自然免疫系遺伝子 (ケモカイン Cxcl3 や転写因子 Stat1) に結合し、ヒストン H3K9 ジメチル化酵素 G9a をリクルートして、転写抑制状態を維持していることを明らかにした。LPS (細菌表面のリポ多糖) 投与により TLR シグナル伝達経路が活性化されると、p38 により ATF-7 がリン

酸化され、自然免疫系遺伝子から遊離する。同時に G9a も遊離し、H3K9me2 レベルが低下し、転写が誘導される。転写誘導が終了した後、H3K9me2 レベルは完全には回復せず、basal な転写レベルの高い状態が長期間（数か月）維持されることが示された。これは私達の知る限り、自然免疫系の記憶のメカニズムに関する初めての知見である。

さらに精神ストレスによるテロメア短縮に ATF-7 が関与することを見出した（論文 revision 中）。疫学調査結果から、様々な精神ストレスを受けたヒトではテロメアが短くなり、寿命が短くなる可能性が示唆されていた。多様な精神ストレスにより、抹消組織では TNF- $\alpha$  のような炎症性サイトカインのレベルが上昇することから、私達は TNF- $\alpha$  によりテロメアが短くなるかどうかを解析した。その結果、テロメア伸長に関与するテロメラーゼ (TERT) と ATF-7 の複合体が、Ku 複合体を介して、テロメアにリクルートされること、TNF- $\alpha$  刺激により、ATF-7 が p38 でリン酸化されると TERT-ATF-7 複合体が、Ku 複合体からはずれ、テロメアから遊離し、テロメアが短くなることが示された。この結果は、精神ストレスによるテロメア短縮の分子メカニズムを初めて明らかにしたものである。

##### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 15 件)

1. Shinagawa T, Huynh ML, Takagi T, Tsukamoto D, Tomaru C, Kwak HG, Dohmae N, Noguchi J & Ishii S (2015). Disruption of *Th2a* and *Th2b* genes causes defects in spermatogenesis. *Development* 142, 1287-1292. doi: 10.1242/dev.121830. 査読有
2. Makino S, Zhulyn O, Mo R, Puviindran V, Zhang X, Murata T, Fukumura R, Ishitsuka Y, Kotaki H, Matsumaru D, Ishii S, Hui CC, Gondo Y (2015). T396I

mutation of mouse Sufu reduces the stability and activity of Gli3 repressor. *PLOS One* 10, e0119455. doi: 10.1371/journal.pone.0119455. 査読有

3. Shinagawa T, Takagi T, Tsukamoto D, Tomaru C, Huynh LM, Sivaraman P, Kumarevel T, Inoue K, Nakato R, Katou Y, Sado T, Takahashi S, Ogura A, Shirahige K & Ishii S (2014). Histone variants enriched in oocytes enhance reprogramming to induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 14, 217-227. doi: 10.1016/j.stem.2013.12.015. 査読有
4. Zaman MM, Nomura T, Takagi T, Okamura T, Jin W, Shinagawa T, Tanaka Y & Ishii S (2013). Ubiquitination-deubiquitination by the TRIM27-USP7 complex regulates TNF- $\alpha$ -induced apoptosis. *Mol Cell Biol*. 33, 4971-4984. doi: 10.1128/MCB.00465-13. 査読有
5. Zaman MM, Shinagawa T & Ishii S (2013). *Trim27*-deficient mice are susceptible to streptozotocin-induced diabetes. *FEBS Open Bio*. 4, 60-64. doi: 10.1016/j.fob.2013.12.002. 査読有
6. Seong KH & Ishii S (2013). Su(fu) switches Rdx functions to fine-tune hedgehog signaling in the *Drosophila* wing disk. *Genes Cells* 18, 66-78. doi: 10.1111/gtc.12018. 査読有
7. Takao K, Kobayashi K, Hagihara H, Ohira K, Shoji H, Hattori S, Koshimizu H, Umemori J, Toyama K, Nakamura HK, Kuroiwa M, Maeda J, Atsuzawa K, Esaki K, Yamaguchi S, Furuya S, Takagi T, Walton NM, Hayashi N, Suzuki H, Higuchi M, Usuda N, Suhara T, Nishi A, Matsumoto M, Ishii S & Miyakawa T. (2013). Deficiency of schnurri-2, an MHC

- enhancer binding protein, induces mild chronic inflammation in the brain and confers molecular, neuronal, and behavioral phenotypes related to schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 38, 1409-1425. doi: 10.1038/npp.2013.38. 査読有
8. Kanei-Ishii C, Nomura T, Egoh A & Ishii S (2012). Fbxw5 suppresses nuclear c-Myb activity via DDB1-Cul4-Rbx1 ligase-mediated sumoylation. *Biochem Biophys Res Commun.* 426, 59-64. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.08.032. 査読有
9. Seong KH, Maekawa T & Ishii S (2012). Inheritance and memory of stress-induced epigenome change: roles played by the ATF-2 family of transcription factors. *Genes Cells* 17, 249-263. doi: 10.1111/j.1365-2443.2012.01587.x. 査読有
10. Staton TL, Lazarevic V, Jones DC, Lanser AJ, Takagi T, Ishii S & Glimcher LH (2011). Dampening of death pathways by Schnurri-2 is essential for T cell development. *Nature* 472, 105-109. doi: 10.1038/nature09848. 査読有
11. Seong KH, Li D, Shimizu H, Nakamura R & Ishii S (2011). Inheritance of stress-induced, ATF-2-dependent epigenetic change. *Cell* 145, 1049-1061. doi: 10.1016/j.cell.2011.05.029. 査読有
12. Nagao M, Saita Y, Hanyu R, Hemmi H, Notomi T, Hayata T, Nakamoto T, Kaneko K, Kurosawa H, Ishii S, Ezura Y & Noda M (2011). Schnurri-2 deficiency counteracts against bone loss induced by ovariectomy. *J Cell Physiol.* 226, 573-578. doi: 10.1002/jcp.22521. 査読有
13. Hou X, Omi M, Harada H, Ishii S, Takahashi Y & Nakamura H (2011). Conditional knockdown of target gene expression by tetracycline regulated transcription of double strand RNA. *Dev Growth Differ.* 53, 69-75. doi: 10.1111/j.1440-169X.2010.01229.x. 査読有
14. Egoh A, Kaneshashi S, Kanei-Ishii C, Nomura T & Ishii S (2010). Ribosomal protein L4 positively regulates activity of a c-myc proto-oncogene product. *Genes Cells* 15, 829-841. doi: 10.1111/j.1365-2443.2010.01421.x. 査読有
15. Seong KH, Akimaru H, Dai P, Nomura T, Okada M & Ishii S (2010). Inhibition of the nuclear import of cubitus interruptus by roadkill in the presence of strong hedgehog signal. *PLOS One* 5, e15365, 1-12. doi: 10.1371/journal.pone.0015365. 査読有

[学会発表] (計 17 件)

1. 前川利男、Binbin Liu、吉田圭介、仲村賢一、田久保海誉、石井俊輔：転写因子 ATF-7 を介したストレスによるテロメアの長さの制御、第 37 回日本分子生物学会年会、横浜、11 月 25 日 (2014)
2. 品川敏恵、Huynh Linh My、高木豪、塚本大輔、都丸千夏、野口純子、石井俊輔：精子形成におけるヒストンバリエント TH2A と TH2B の役割、第 37 回日本分子生物学会年会、横浜、11 月 26 日 (2014)
3. 成耆鉉、石井俊輔：父親への拘束ストレスによるエピゲノム変化と遺伝の解析、第 37 回日本分子生物学会年会、横浜、11 月 26 日 (2014)
4. 成耆鉉、石井俊輔：拘束ストレスにより誘導されるエピゲノム変化の遺伝、第 36 回日本分子生物学会年会、神戸、12 月 4 日 (2013)
5. 前川利男、Liu Binbin、吉田圭介、仲村賢一、田久保海誉、石井俊輔：転写因子

- ATF-7を介したストレスによるテロメアの長さの制御、第36回日本分子生物学会年会、神戸、12月5日 (2013)
6. 品川敏恵、高木豪、塚本大輔、都丸千夏、Huynh Linh My、Sivaraman Padavattan、Kumarevel Thirumananseri、井上貴美子、中戸隆一郎、加藤由紀、高橋智、小倉淳郎、白髭克彦、石井俊輔：卵子に大量に存在するヒストンバリエーションによる核のリプログラミング、第36回日本分子生物学会年会、神戸、12月5日 (2013)
  7. Zaman MM, Nomura T, Takagi T, Okamura T, Jin W, Shinagawa T, Tanaka Y, Ishii S: Ubiquitination-deubiquitination by the TRIM27-USP7 complex regulates TNF- $\alpha$ -induced apoptosis、第36回日本分子生物学会年会、神戸、12月4日 (2013)
  8. Ishii S: Inheritance of stress-induced epigenome changes, Small RNAs to Stem Cells & Epigenetic Reprogramming Asia-2013 Meeting, University of Tokyo, Tokyo, November 25-26 (2013).
  9. Ishii S: Inheritance of stress-induced chromatin alterations, Gordon Conference on Epigenetics: Mechanisms and Implications, Bryant University, Smithfield, RI, USA, August 5-8 (2013).
  10. Yoshida K, Maekawa T, Zhu Y, Renard-Guillet C, Chatton B, Shirahige K, and Ishii S: ATF-7 controls epigenetic memory of pathogen infection in macrophages. Gordon Conference on Epigenetics: Mechanisms and Implications, Bryant University, Smithfield, RI, USA, August 5-8 (2013).
  11. Seong KH, Li D, Ishii S: Inheritance of stress-dependent epigenetic change in drosophila melanogaster, The 8th World Congress on Developmental Origins of Health and Disease, Singapore, November 17-20 (2013).
  12. 宮川剛, 高雄啓三, 萩原英雄, 大平耕司, 昌子浩孝, 服部聡子, 小清水久嗣, 梅森十三, 高木豪, 石井俊輔: Deficiency of Schnurri-2, an MHC enhancer binding protein, induces mild chronic inflammation in the brain and confers molecular, neuronal, and behavioral phenotypes related to schizophrenia、第35回日本分子生物学会年会、福岡、12月12日 (2012)
  13. Ishii S: Role of ATF-2 family transcription factors in inheritance of epigenetic change induced by stress, Joint Meeting of the 45th JSDB & the 64th JSCB, Kobe Convention Center, Kobe, May 28-30 (2012)
  14. Ishii S: Inheritance of stress-induced epigenome change: research using fly and mouse, The 34th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, Pacifico Yokohama, Yokohama, December 13-16 (2011).
  15. 高木豪, 石井俊輔 : Positive selectionに必要な転写因子 Schnurri-2 の chip on chip法を用いた解析、第33回日本分子生物学会年会、神戸、12月9日 (2010)
  16. 野村照明、Zaman MM、石井俊輔 : Analysis of relationship between TRIM27 and USP7 through ubiquitination and deubiquitination、第33回日本分子生物学会年会、神戸、12月8日 (2010)
  17. Ishii S: Epigenetic regulation by ATF-2 family of transcription factors in response to various stresses, Symposium on “Epigenetic inheritance and genome reprogramming”, The 62nd Annual Meeting of the Japan Society for Cell Biology, Osaka International Convention Center, Osaka, Japan, May 19-21 (2010).

[その他]

ホームページ等

<http://rtcweb.rtc.riken.jp/lab/mg/mg.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

石井 俊輔 (ISHII SHUNSUKE)

独立行政法人理化学研究所・石井分子遺伝学

研究室・上席研究員

研究者番号：00124785