

# 2021 天使病院 遺伝セミナー5

2021 09 02

## エピジェネティクス

- 1 始まりはPWSの染色体異常
- 2 Rob NichollsのUPDの発見
- 3 様々なインプリンティング病
- 4 DNAのメチル化
- 5 DNAのメチル化は細胞分化に関与
- 6 ヒストンの修飾
- 7 エピジェネティクスと適応

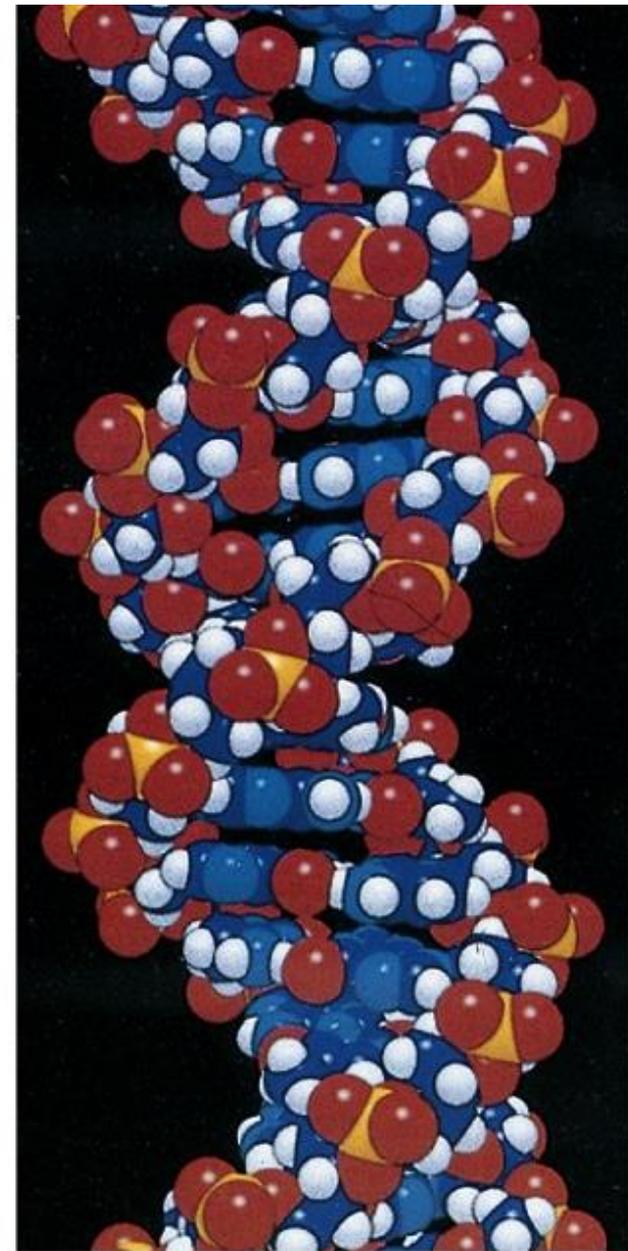
R=O

Y=P

W=H

B=

DB=



# Chapter 1 Prader-Willi syndrome

胎児期・新生児期・乳児期

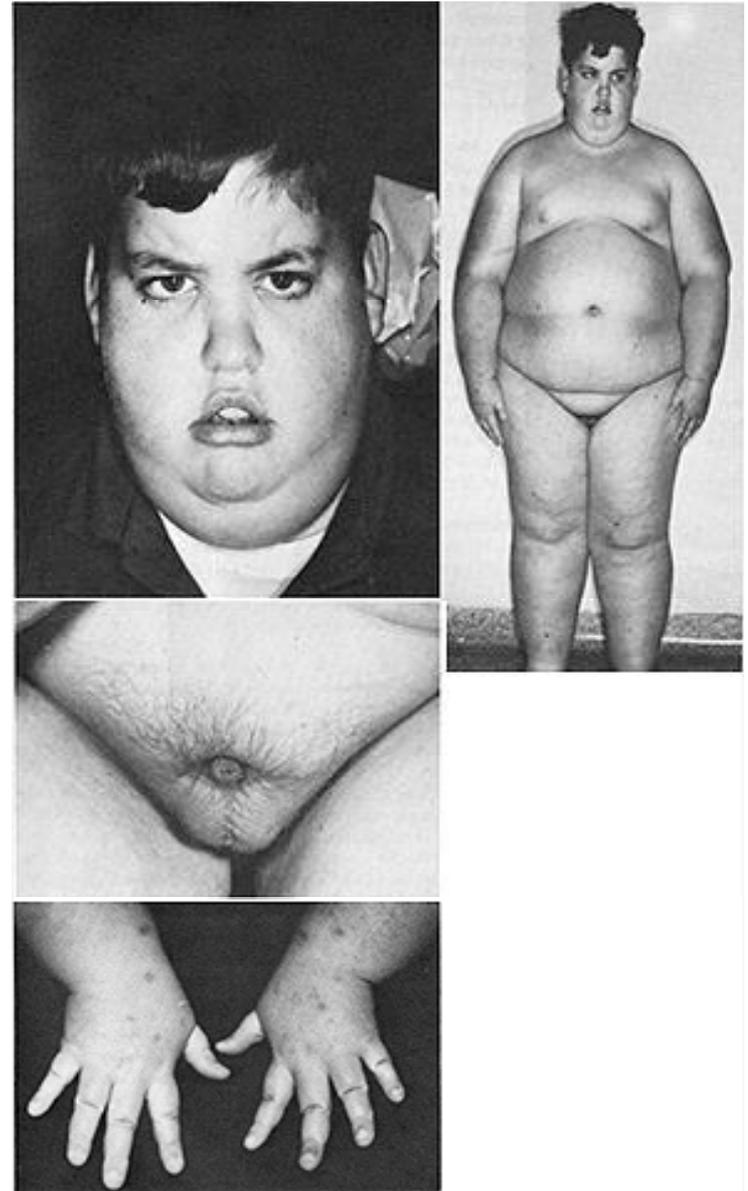
胎動の減少・低出生体重・筋緊張低下・哺乳障害・呼吸障害・体重増加不良

乳児期

肌の色が白い・手足が小さい・特異顔貌・男児では停留睪丸・小さい陰茎

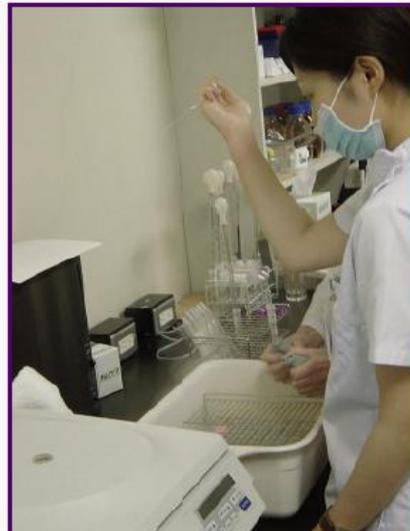
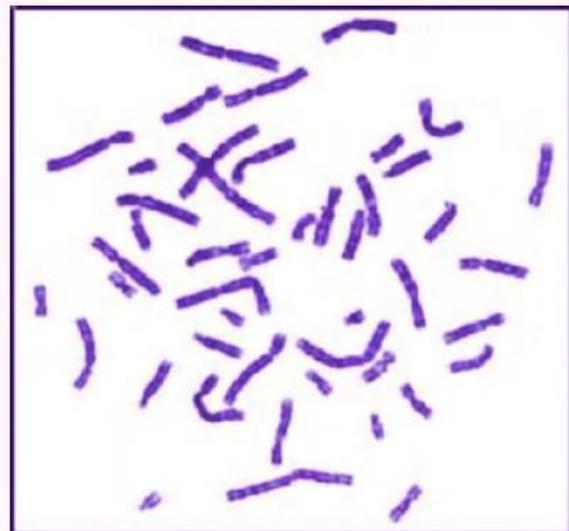
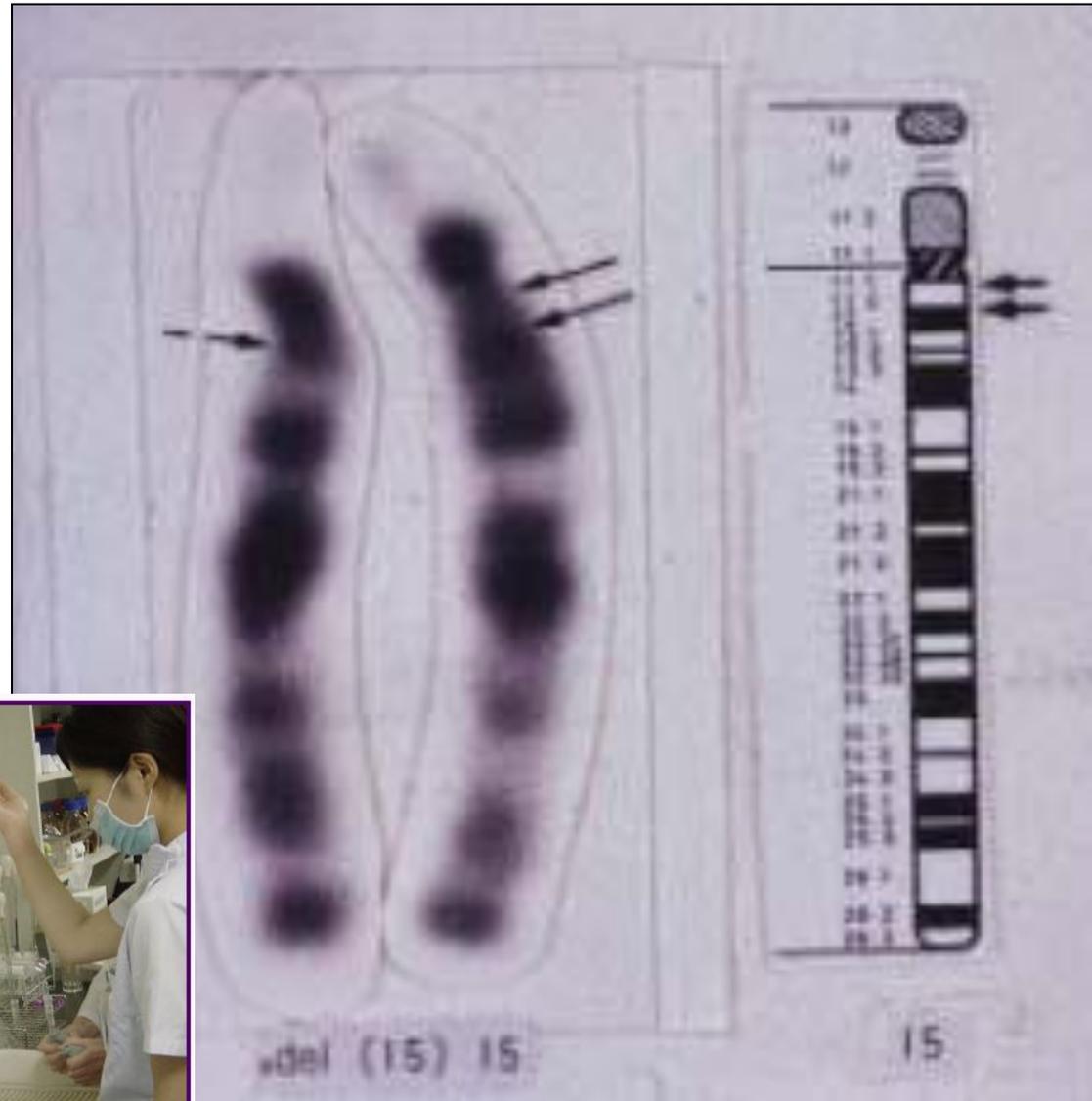
幼児期以降

過食・肥満・糖尿病・Pickwick症候群・精神運動発達遅滞・低身長・痛覚鈍麻・行動異常・適応障害



# Prader-Willi syndromesに染色体異常発見

del(15)(q11-q12)



# Angelman syndromeの症状

操り人形のような失調性歩行

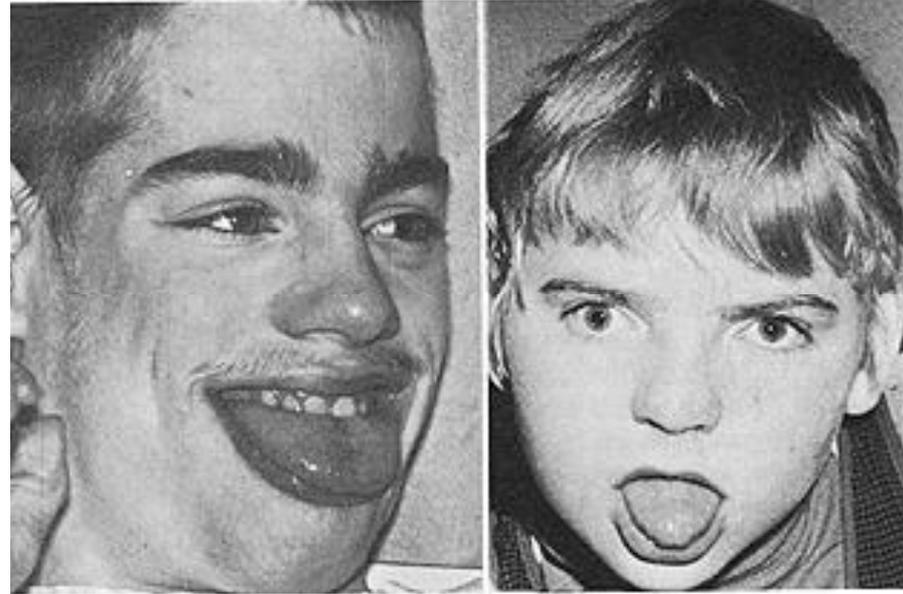
容易に誘発される発作的な笑い

大きな突出した顎

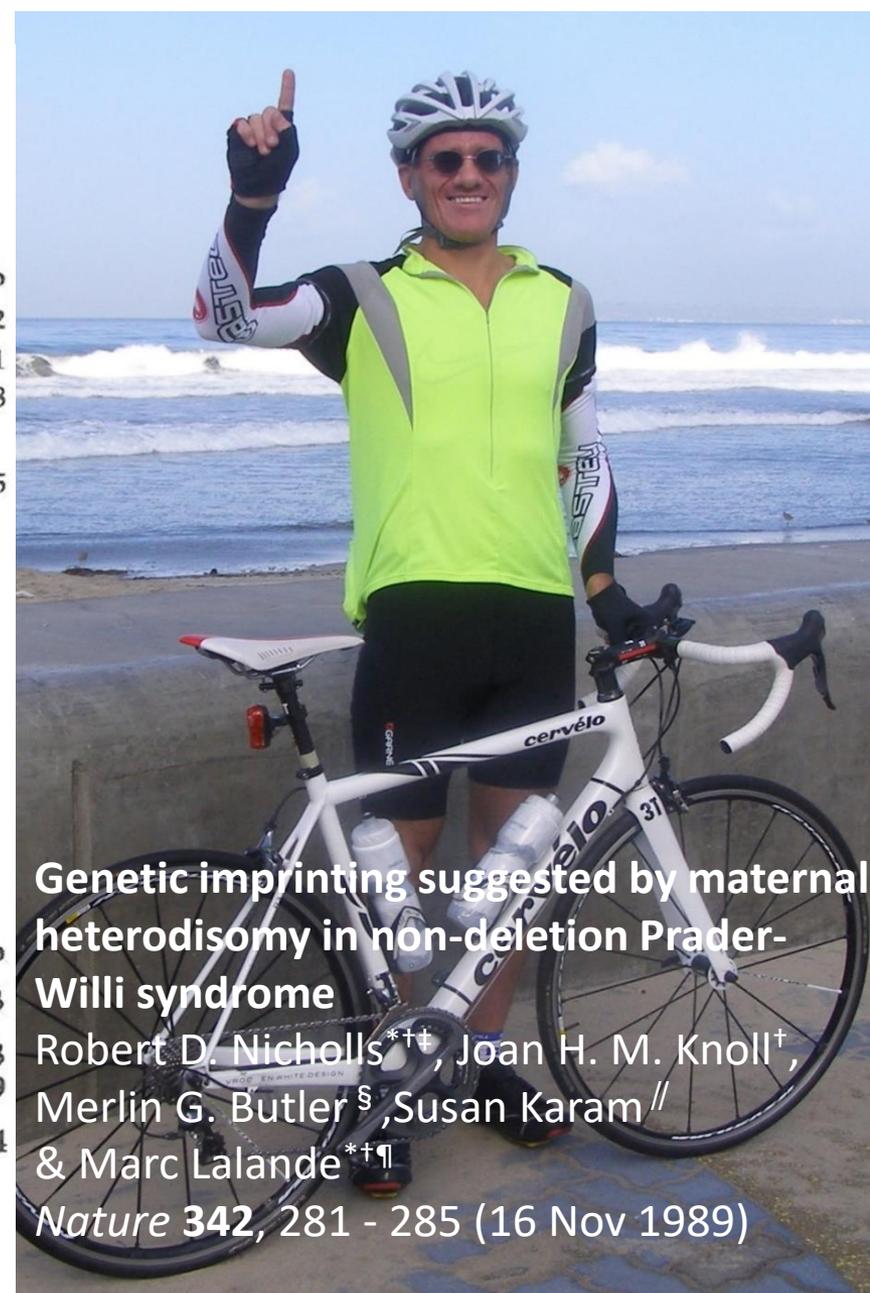
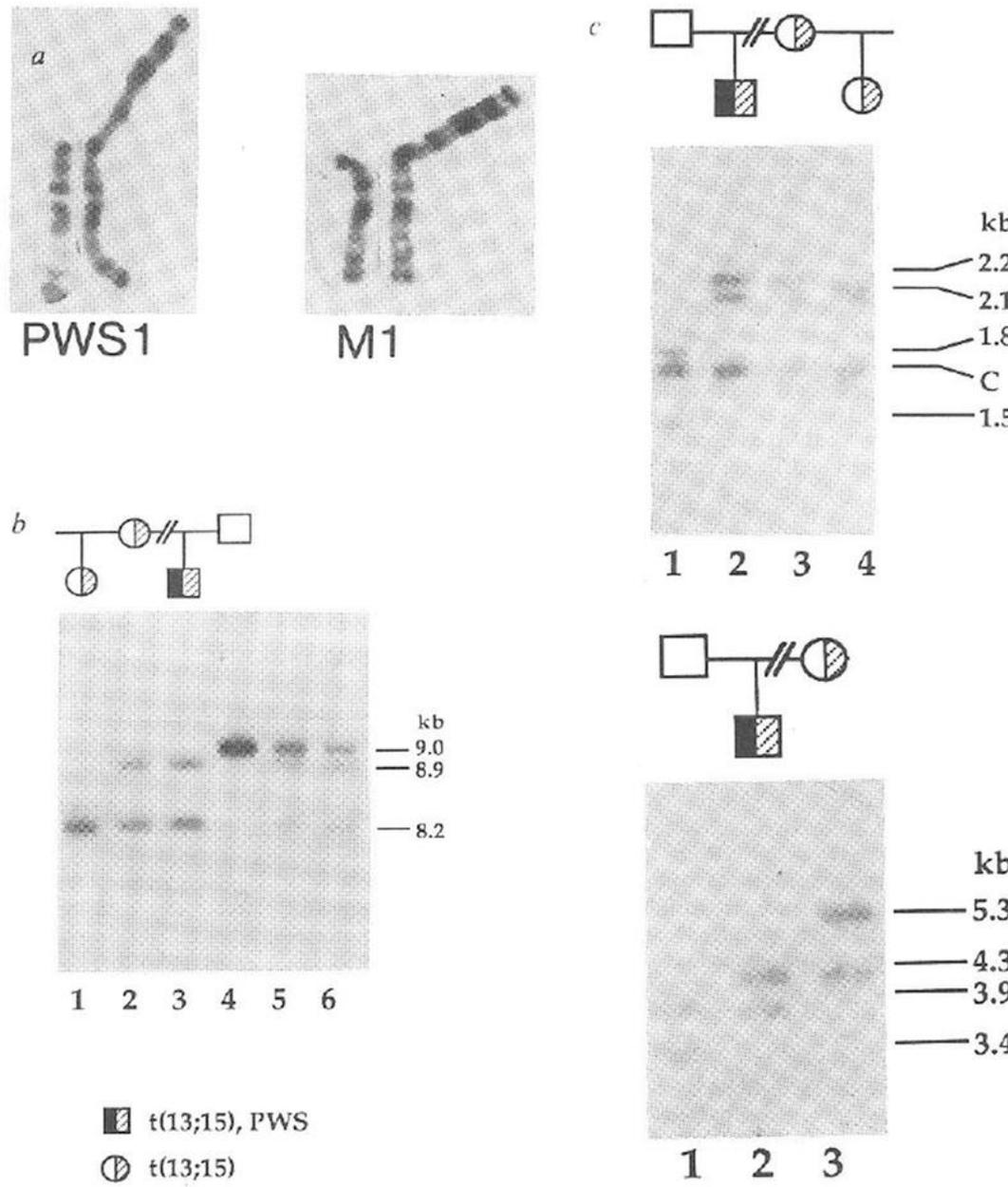
流涎をともなう舌挺出

重度精神発達遅滞

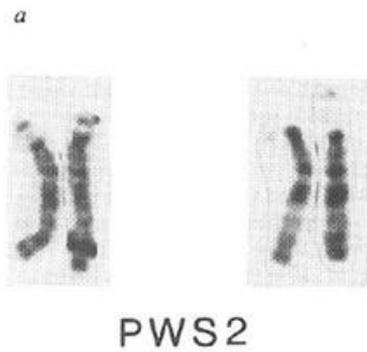
けいれん



# PWSにはお父さん由来の15番染色体がない人がいる

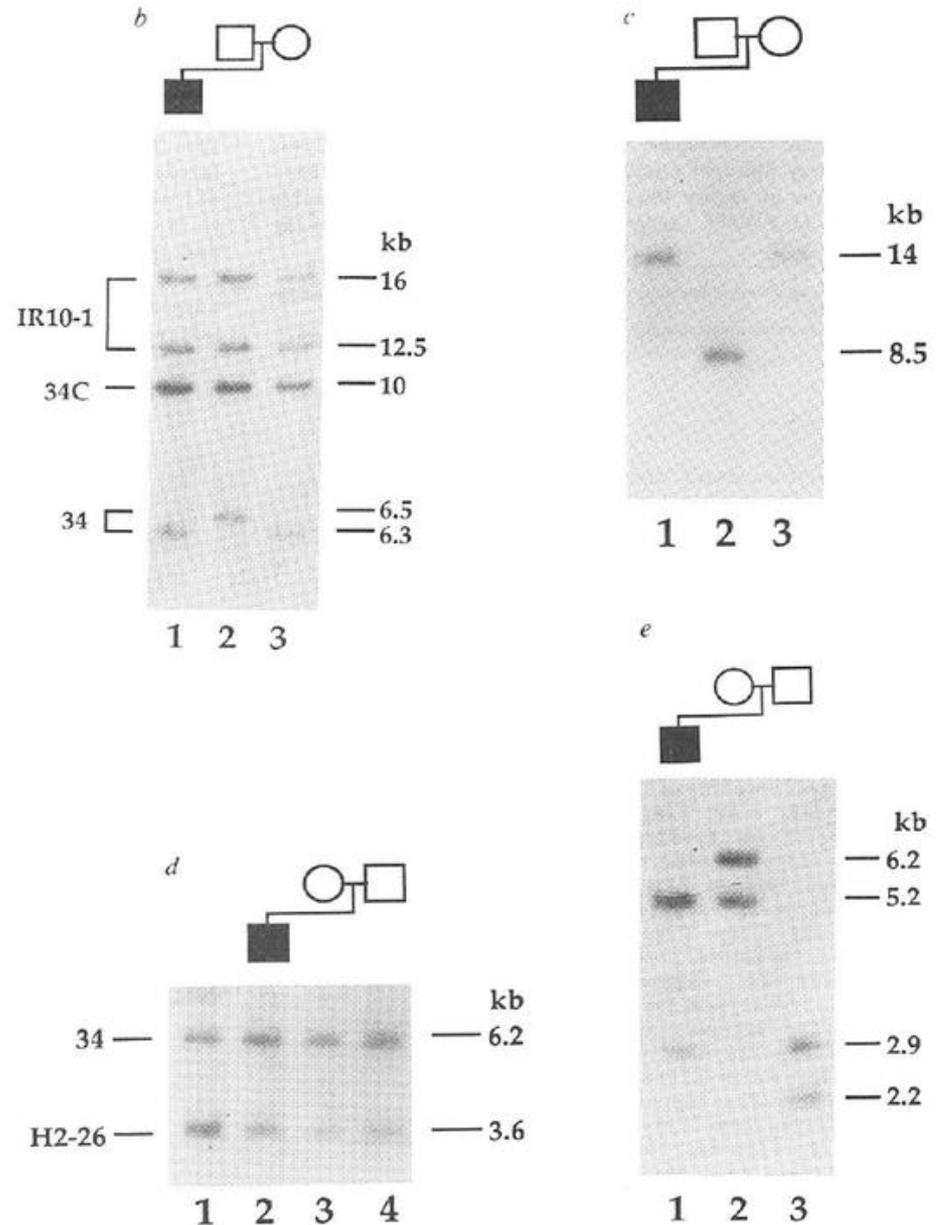


# Capter 2 RD NichollsのUPDの発見



RFLPを用いたPWS患者の  
Maternal UPDの証明

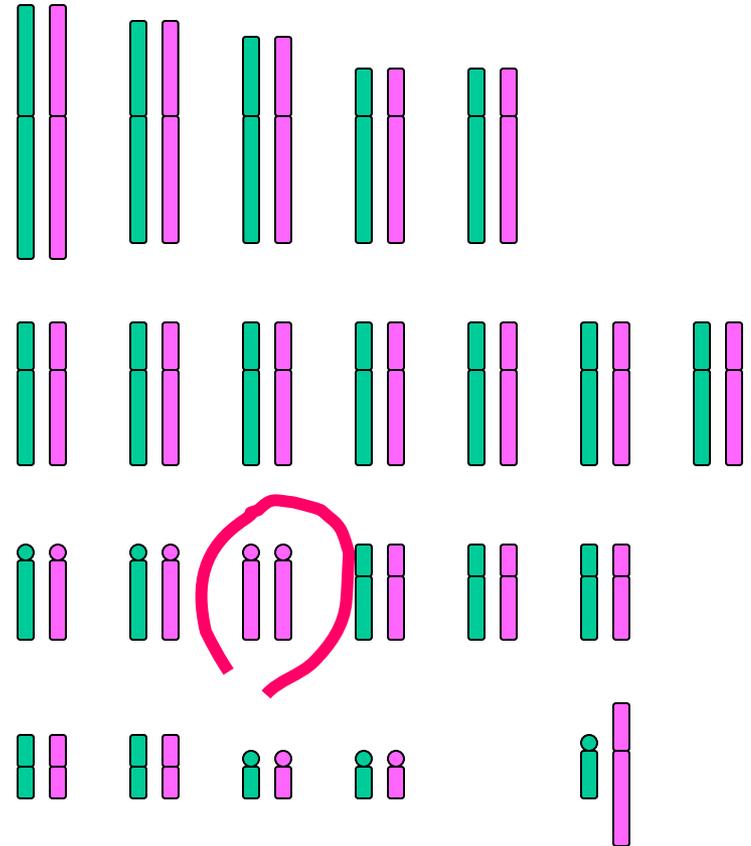
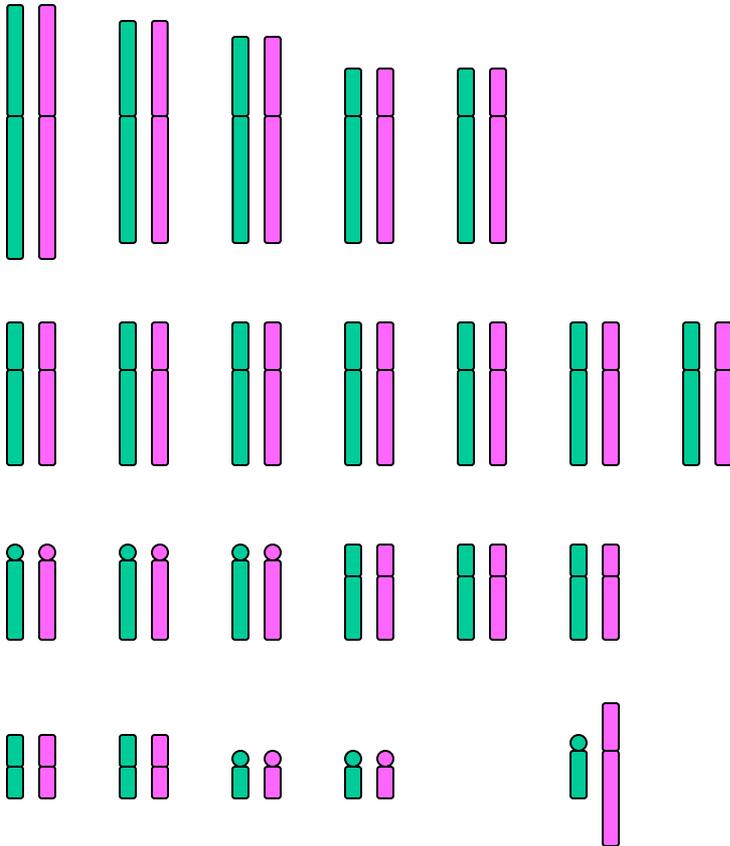
Robert D. Nicholls<sup>\*†‡</sup>, Joan H.  
M. Knoll<sup>†</sup>, Merlin  
G. Butler<sup>§</sup>, Susan Karam<sup>//</sup>  
& Marc Lalande<sup>\*†¶</sup>  
*Nature* **342**, 281 - 285 (16  
Nov 1989)



# Prader-Willi 症候群のUPDは母由来

一般集団

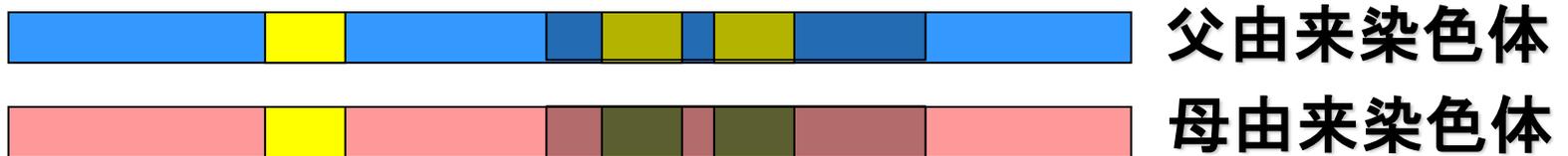
PWS



# Prader-Willi 症候群のゲノム異常

- ◆ 15q11.2の微細染色体欠失 70 %  
高精度分染法, FISH  
父親由来15番染色体の欠失
- ◆ 15番染色体のUPD(母由来片親性ダイソミー) 30 %
- ◆ 15q11.2領域の刷り込み変異 わずか

## Genomic Imprintingとは

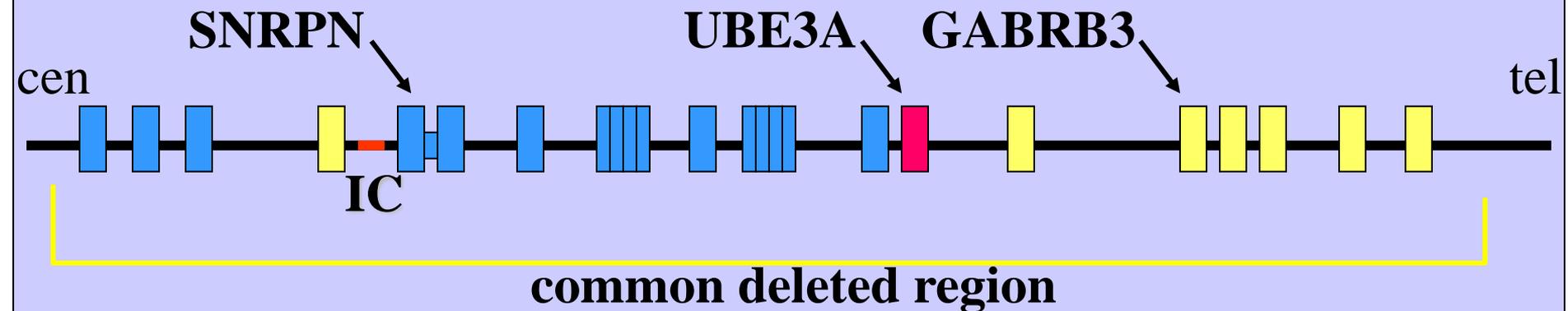


不活化アレルではシトシンのメチル化

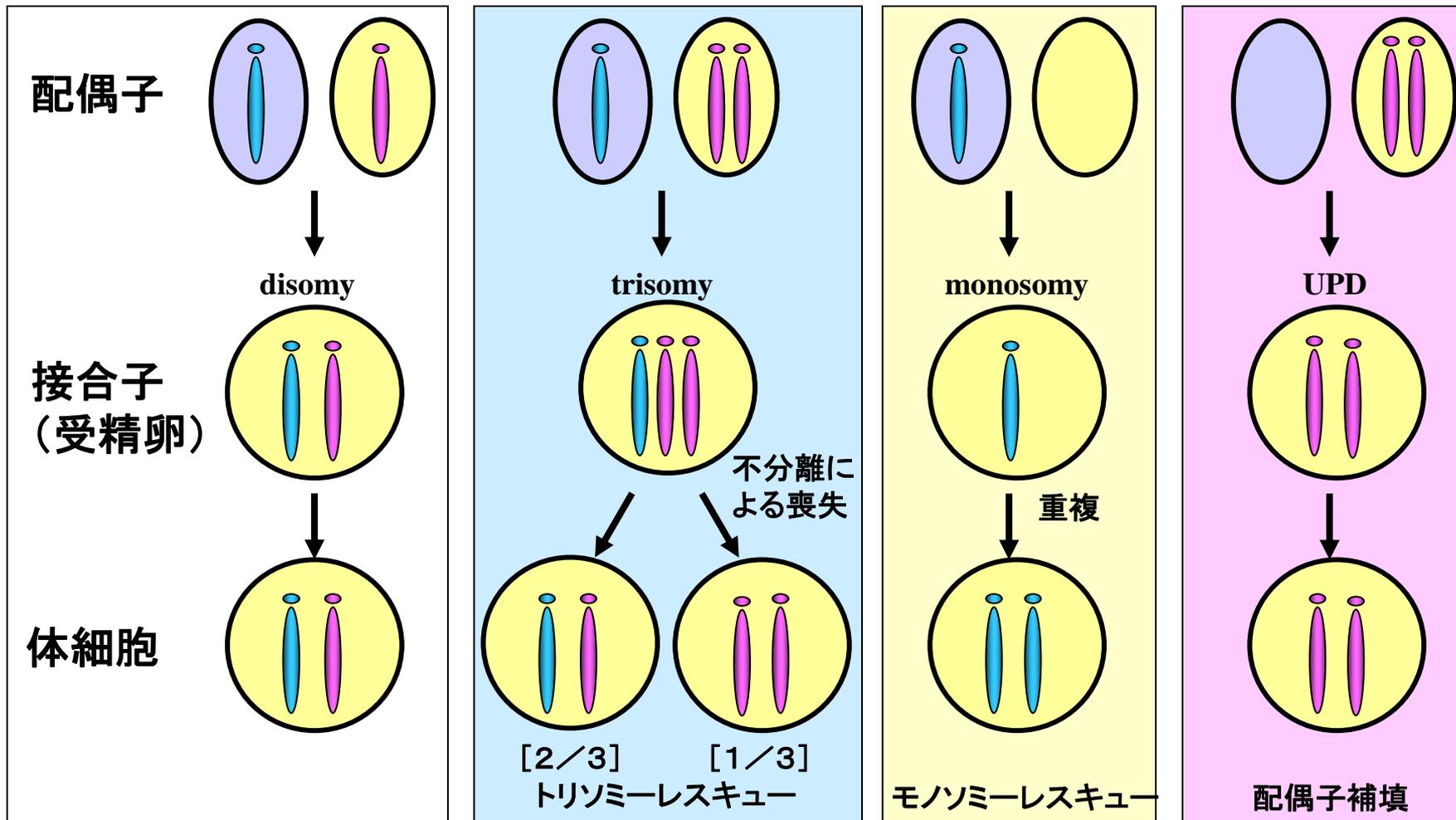
# Angelman症候群の原因

- ◆ 15q11.2の微細染色体欠失 70 %  
高精度分染法, FISH  
**母親**由来15番染色体の欠失
- ◆ 15染色体UPD(**父由来片親性ダイソミー**) 2 %
- ◆ 15q11.2領域の刷り込み変異 5 %
- ◆ **UBE3A(母性発現)の変異** 5 – 10 %

Imprinted genes in 15q11.2 region



# UPDの成立機構



## Chapter 3 様々なインプリンティング病

Prader Willi syndrome

Angelman syndrome

Beckwith Wiedemann syndrome

Silver Russell syndrome

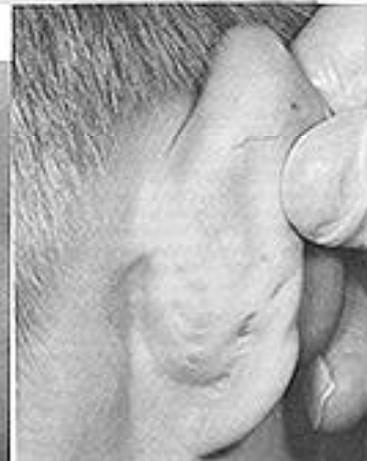
Kagami Ogata syndrome

Temple syndrome

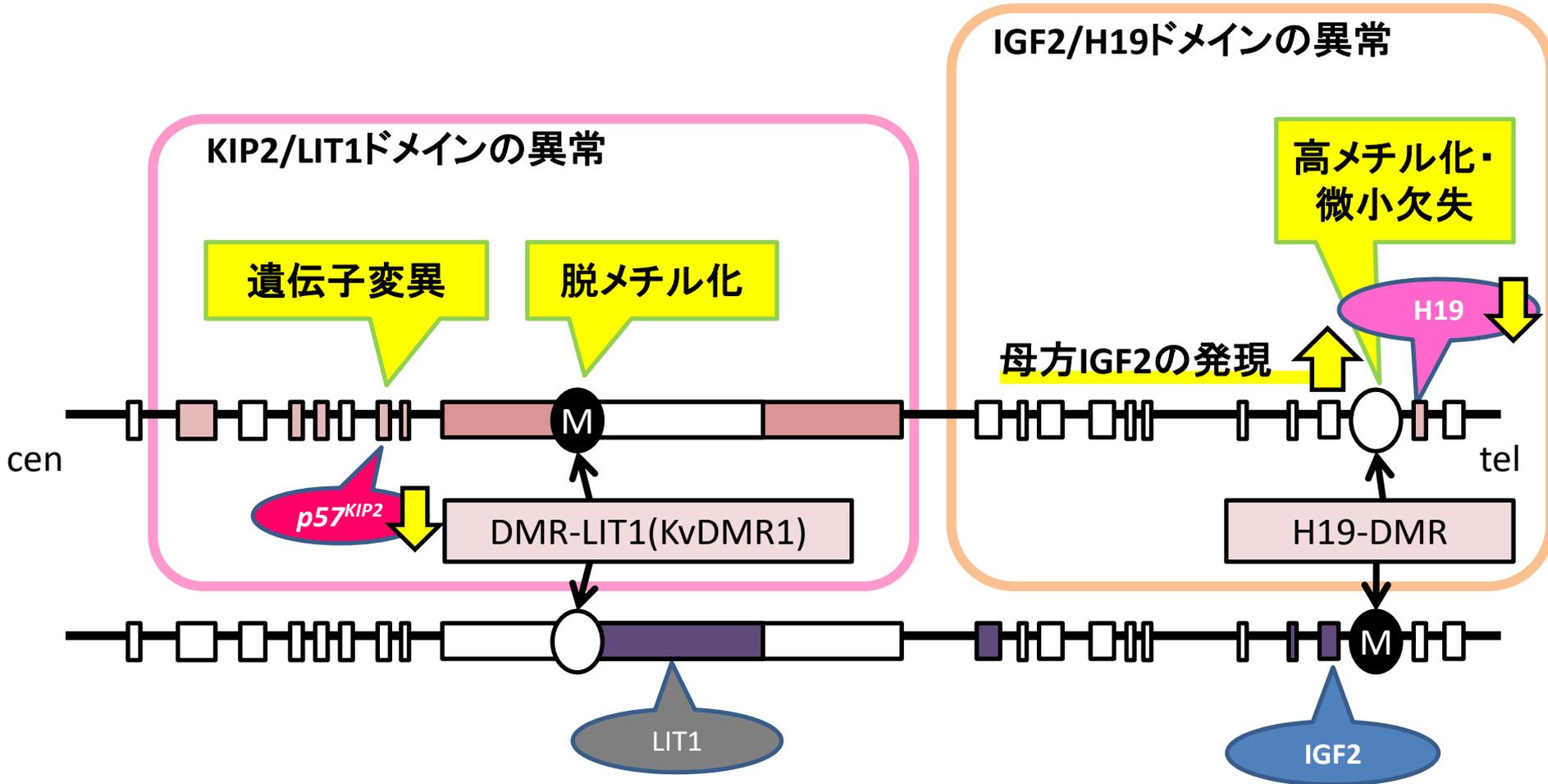
Pseudohypoparathyroidism

# Beckwith-Wiedemann 症候群

症状 高出生体重  
臍ヘルニア  
巨舌  
新生児低血糖  
耳朶, 耳輪の溝  
片側肥大  
前額の火炎状血管腫  
ウィルムス腫瘍の合併

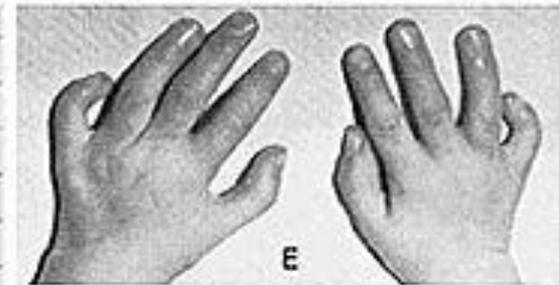
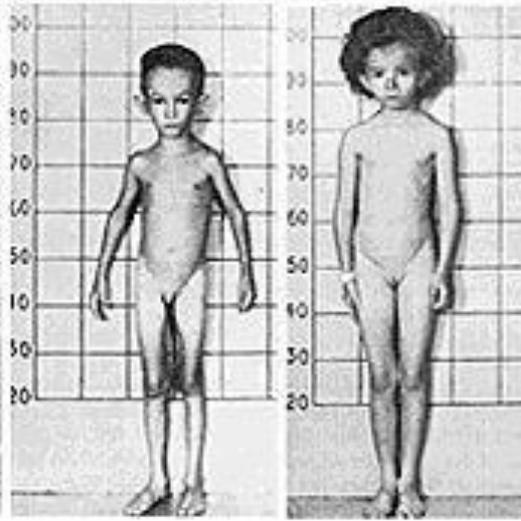


# Beckwith-Wiedemann syndromeの 多彩なインプリンティング異常

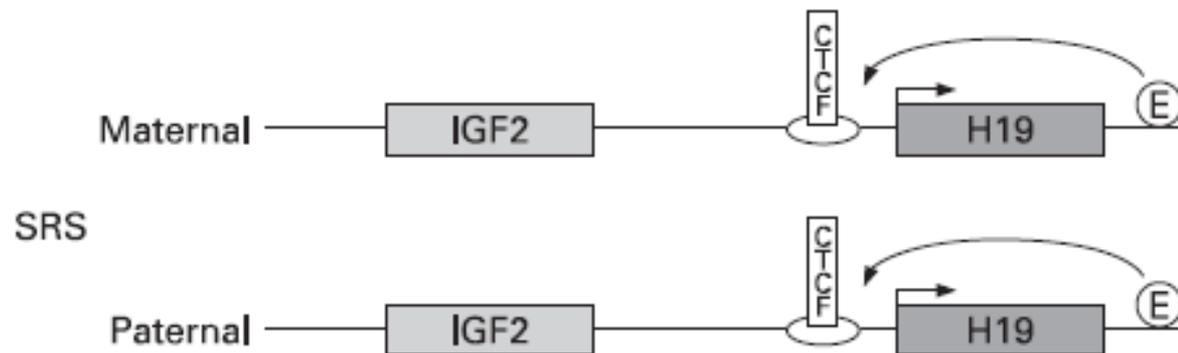
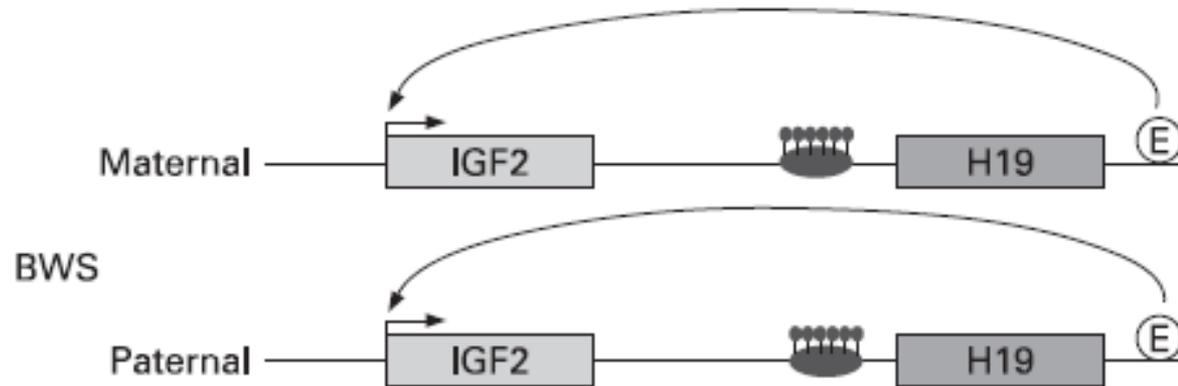
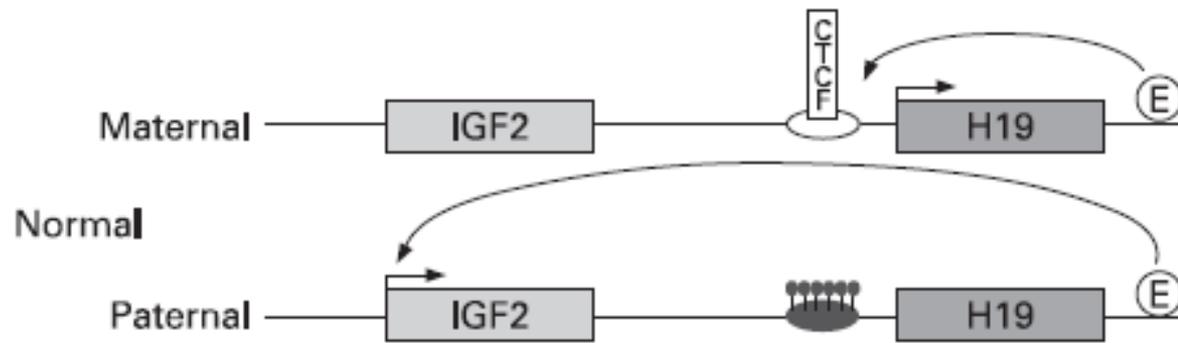


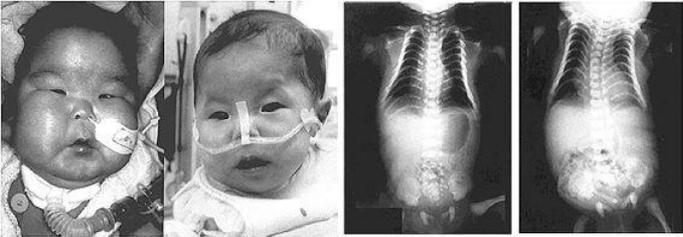
# Silver – Russell 症候群

- 出生前から始まる成長障害
- 逆三角形の顔貌
- 第5指の弯指症
- 左右非対称



# H19- DMRのメチル化異常による疾患モデル





# Kagami-Ogata syndromeの特徴

全国300施設への一次調査にて25例を同定

原因 14番染色体父性片親性ダイソミー関連疾患は、14q32.2に存在するインプリンティング遺伝子の発現異常により生じる

- 14番染色体片親性ダイソミー upd(14)pat :
- 微小欠失: 母親由来14q32.2のIG-DMRとMEG3-DMRを含む微小欠失
- エピ変異: upd(14)patの表現型を示し、IG-DMR、MEG3-DMRの過剰メチル化を示すが、ダイソミーも微小欠失も認めない症例。そのメカニズムは不明である。

## 症状

- 胎児期: 羊水過多
- 胎盤の過形成
- 出生後はベル型と形容される小胸郭による呼吸障害。ほとんどの症例で数ヶ月にわたる人工呼吸管理を必要とするが経過とともに胸郭異常は改善する。
- 臍帯ヘルニアや腹直筋の離開
- 特徴的な顔貌: 前額部突出、眼瞼裂の縮小、平坦な鼻梁、小顎といった特徴的な顔貌
- 多くの症例で哺乳不良
- 長期生存例では精神発育遅滞

# Temple syndromeの特徴



【遺伝】78%は母方UPD(14)による  
2%はエピ変異による  
10%は父方14q32.2欠失による

## 【一般】

低身長 (79%)  
低出生体重 (87%)  
子宮内発育遅滞 (IUGR 75%)  
人生後半は過体重 (中央 BMI 26.6)  
食事摂取障害/弱い吸啜 (43%)  
運動発達遅滞 (83%)  
発語遅滞 (59%)  
軽度の精神遅滞 (39%)  
巧緻運動/協調運動障害 (12%)  
未熟産 (30%)

【頭】比較的大頭 (56%)  
水頭症 (11%)

【顔】前頭突出 (33%)  
目立つ額 (33%)  
短い人中 (18%)  
小顎 (24%)

【鼻】幅広い鼻 (12%)

【口】高口蓋 (26%)

【耳】耳介後方回転 (一部の患者で)

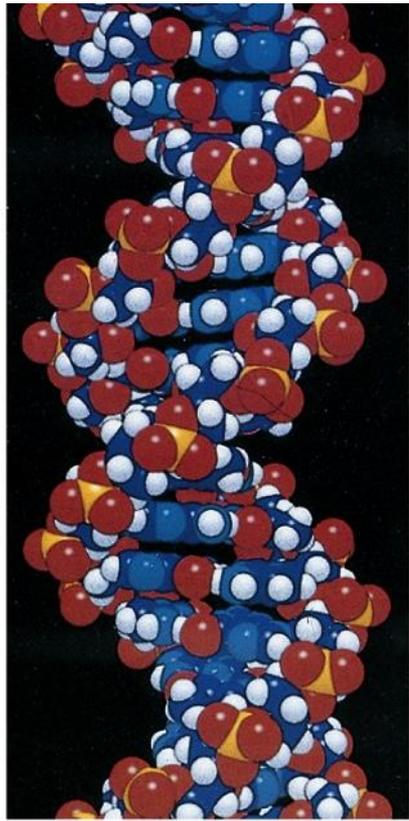
【四肢】関節過伸展 (63%)  
小さな手 (87%)  
弯指 (31%)  
小さな足 (96%)

【X線】側弯 (23%)

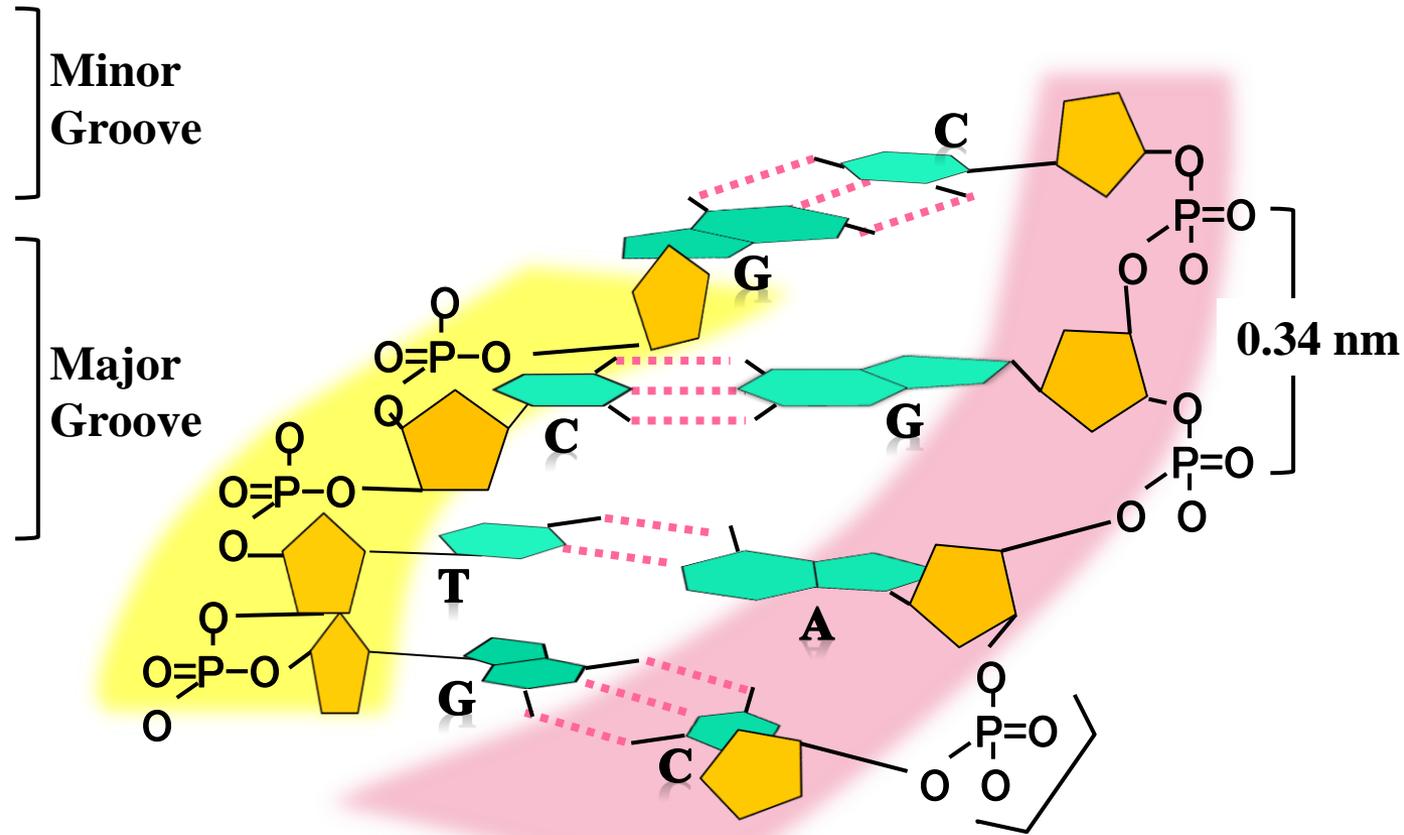
【内分泌】思春期早発 (86%)

【神経】筋緊張低下 (93%)

# Chapter 4 DNAのメチル化

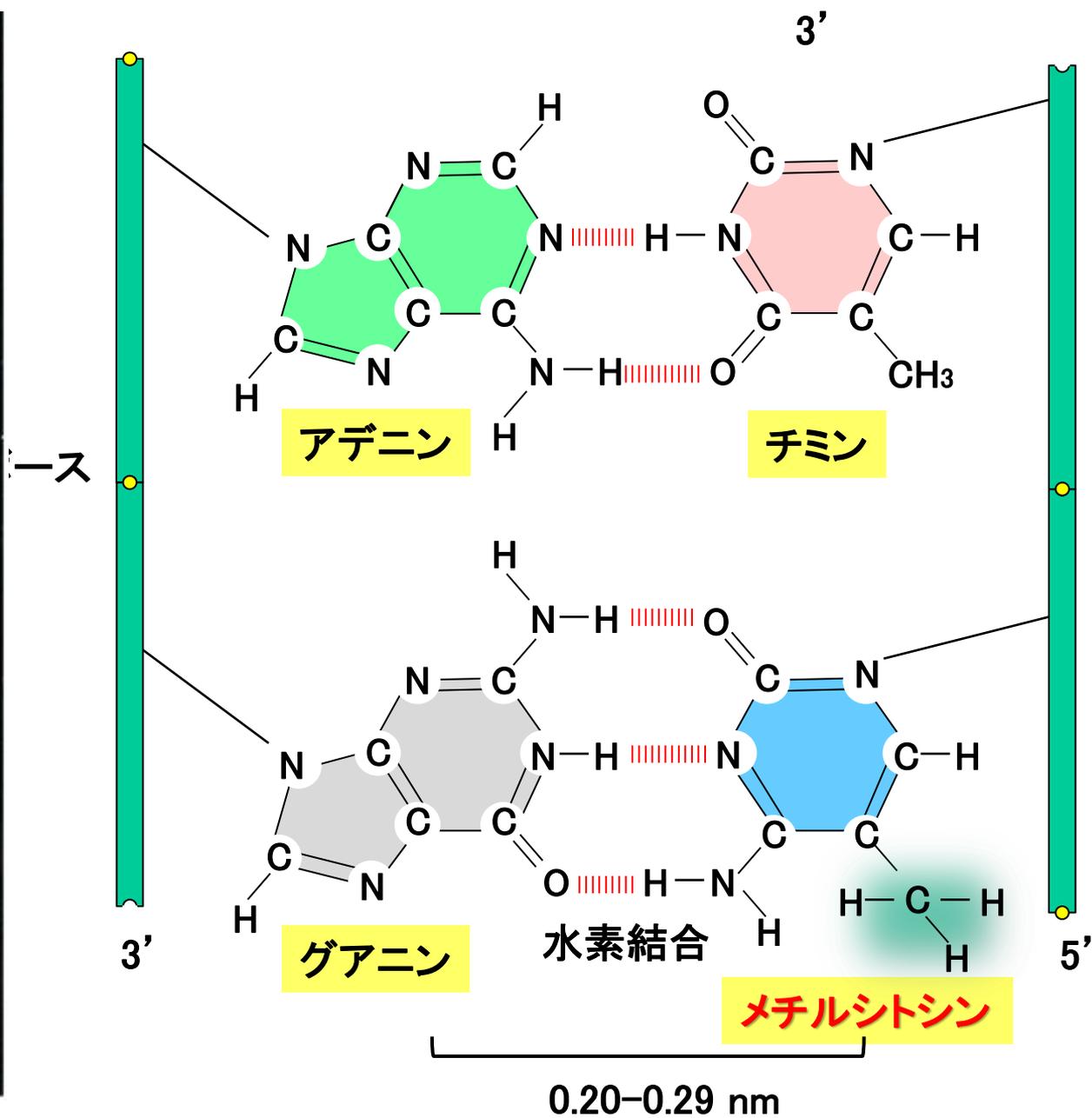
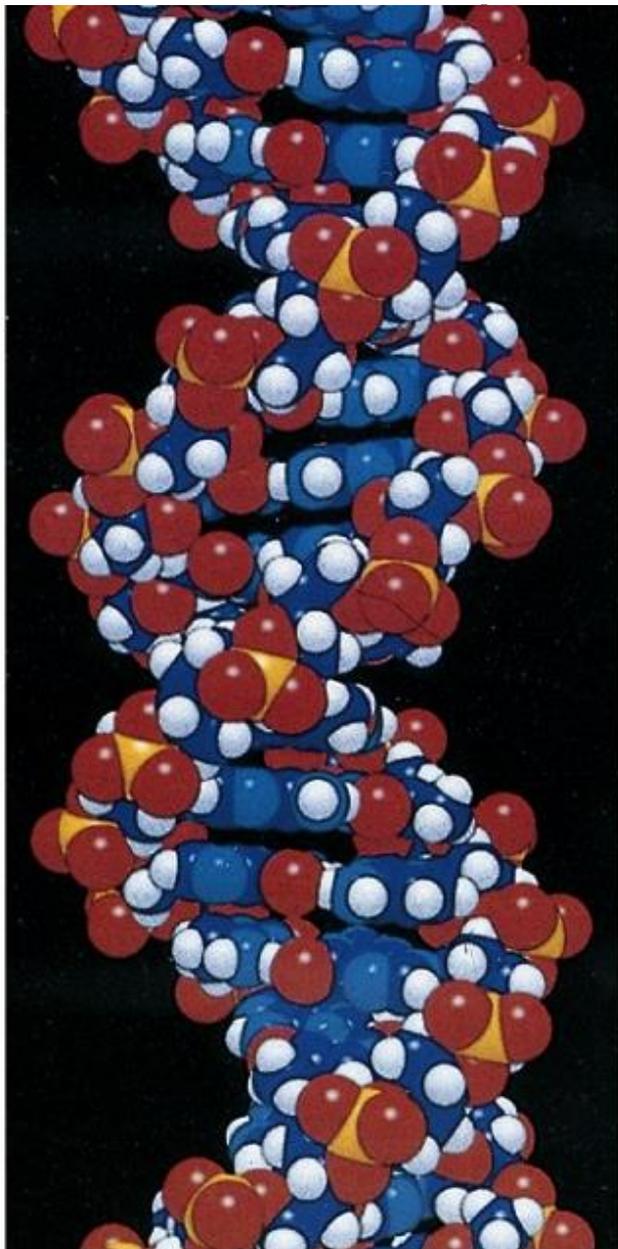


← 2nm →



Molecular Biology of the Cell  
5<sup>th</sup> edition より転載

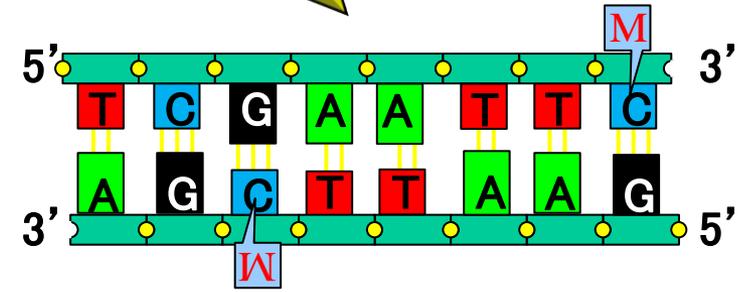
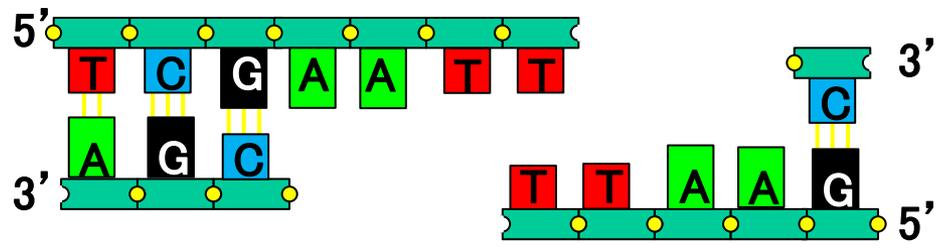
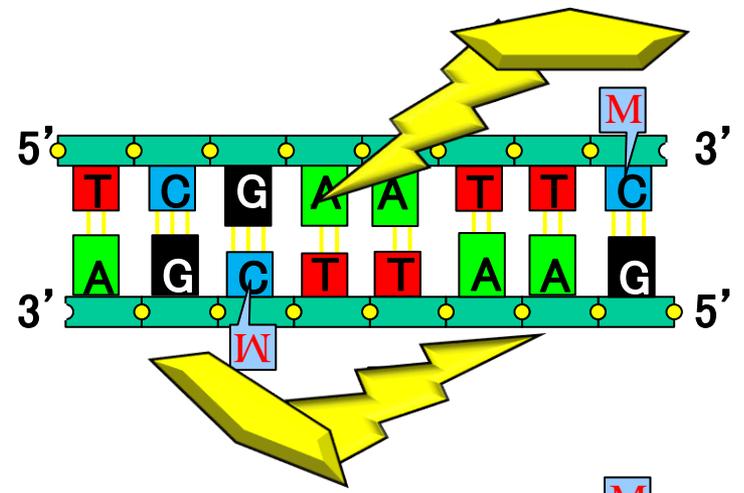
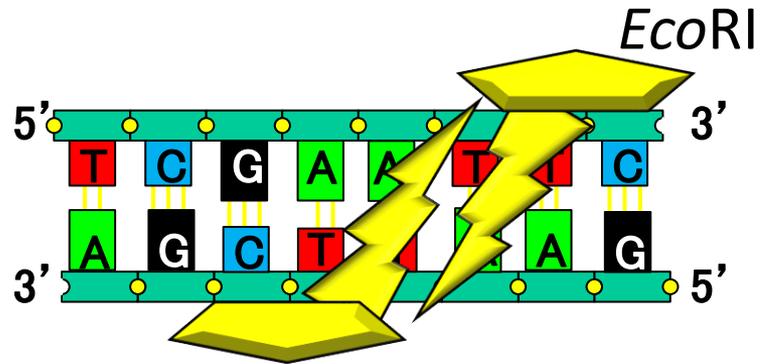
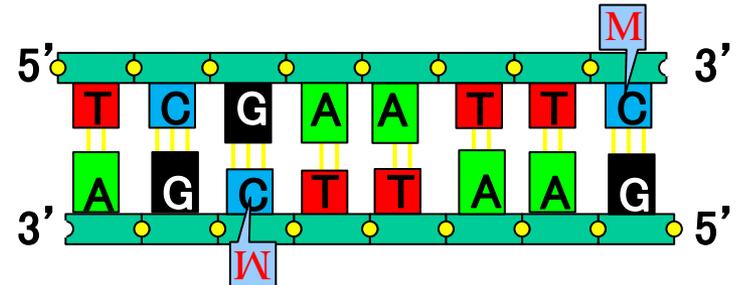
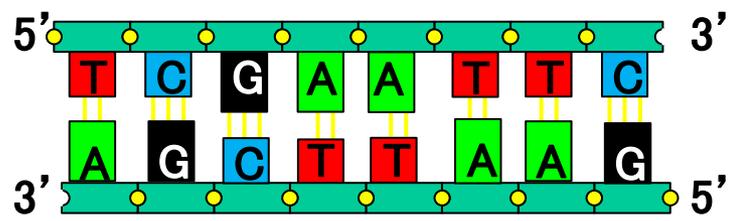
# DNAの構造模式図



# メチレーションは自己と非自己の区別

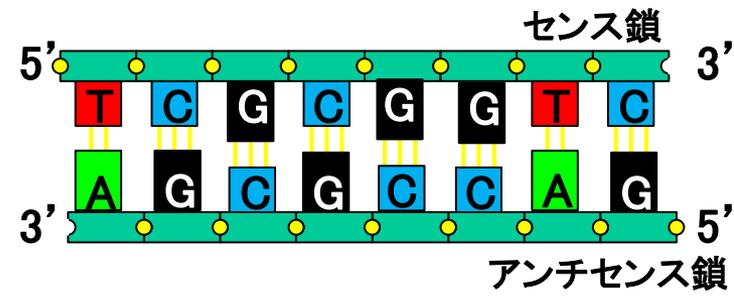
非メチル化  
外来DNA

メチル化  
宿主DNA

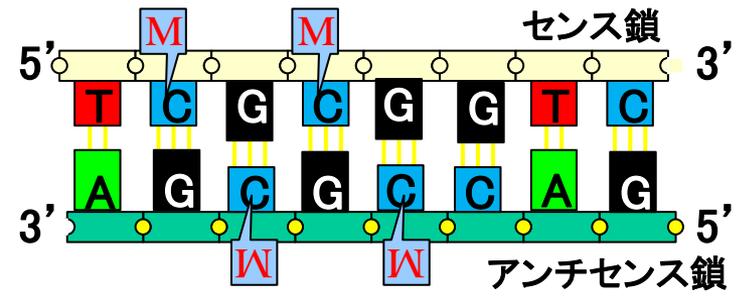
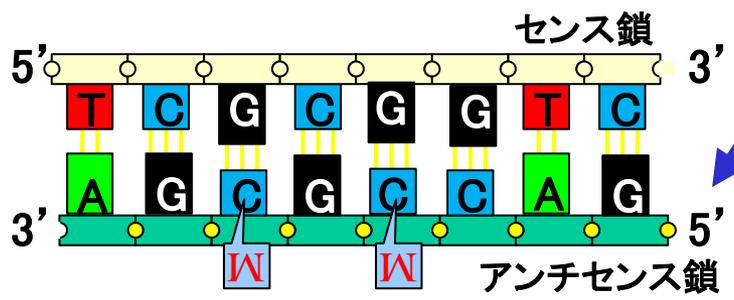
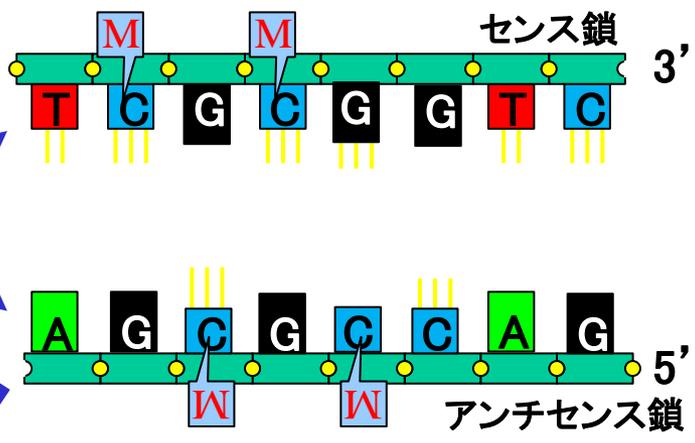
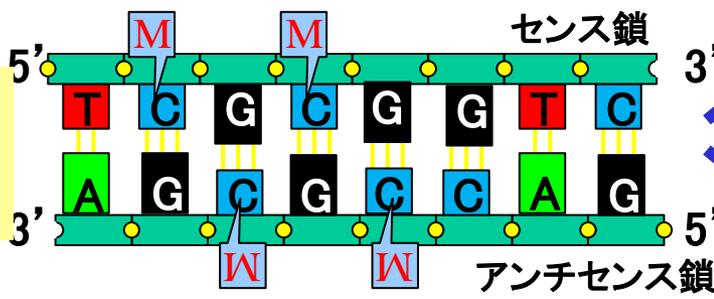


# メチレーションはDNA複製時に維持される

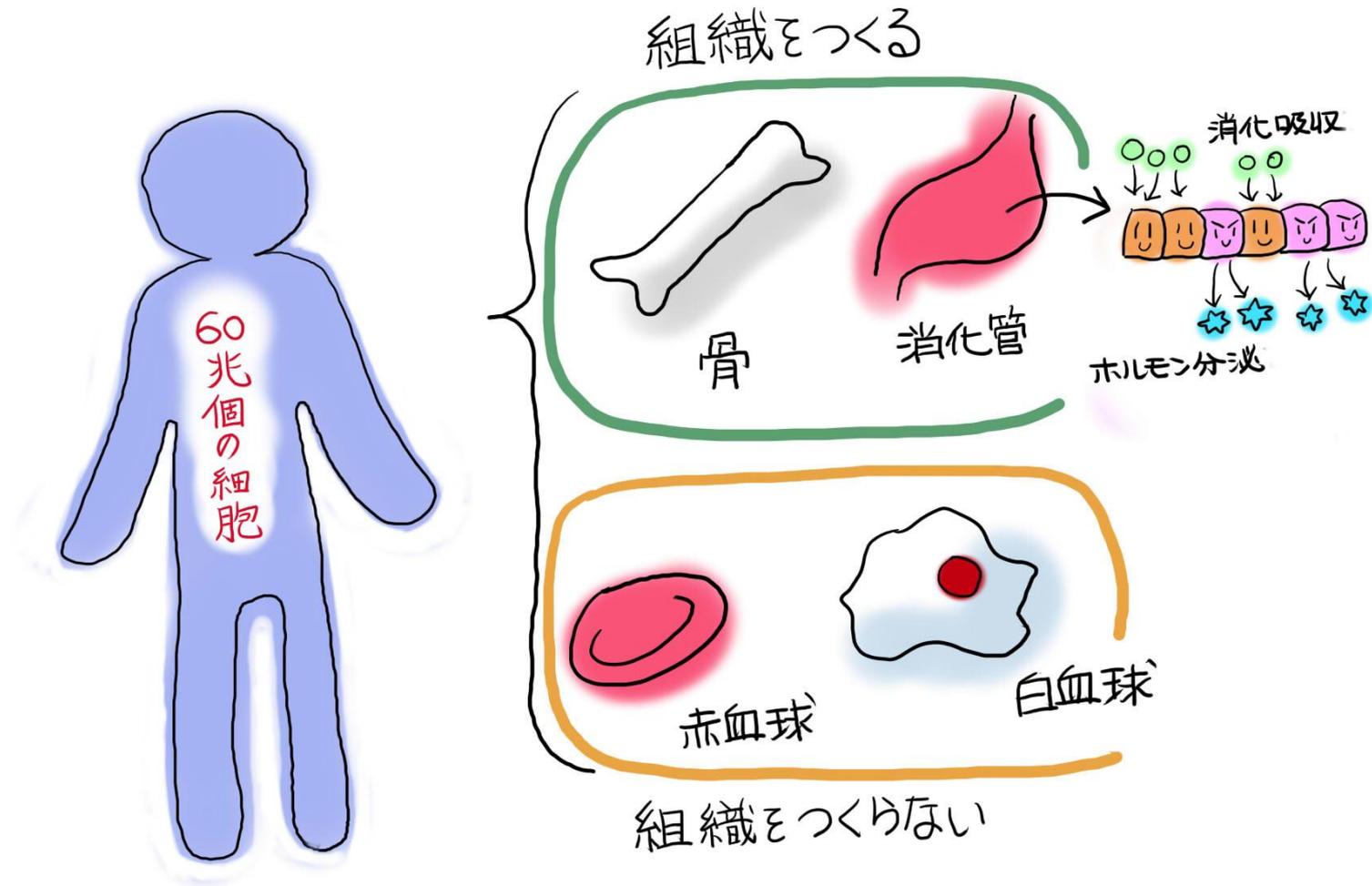
DNA



メチル化DNA  
at CpG



# Chapter 5 DNAメチル化は細胞分化に関与： 偽性副甲状腺機能低下症



細胞ごとに必要な遺伝子とそうでない遺伝子がある

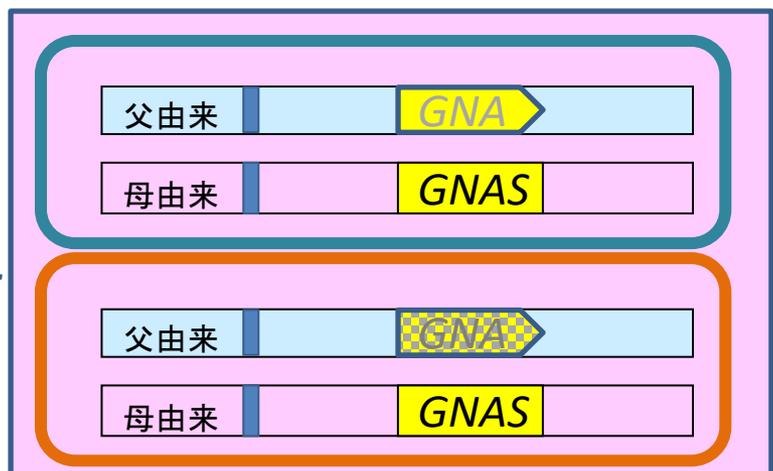
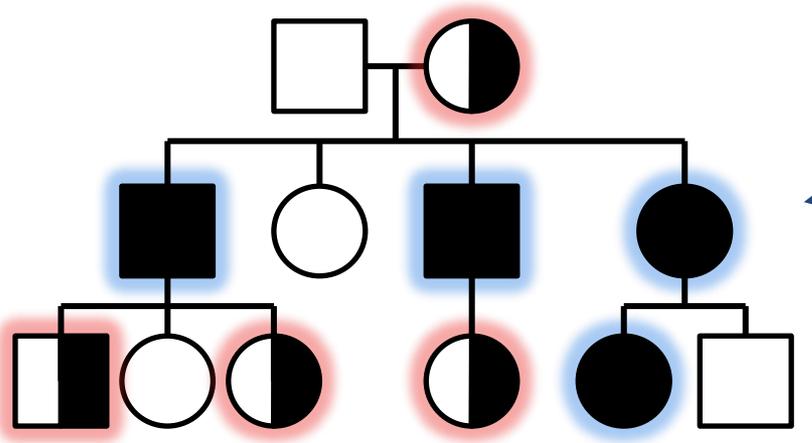
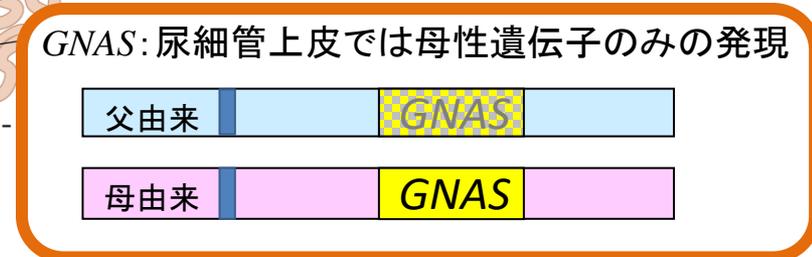
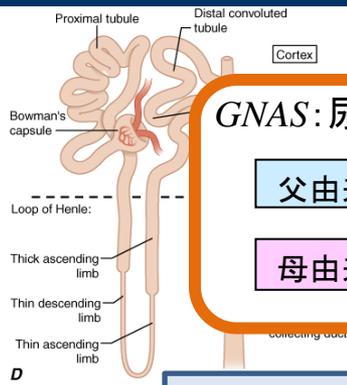
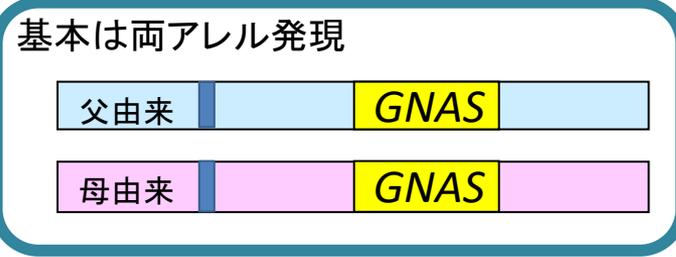
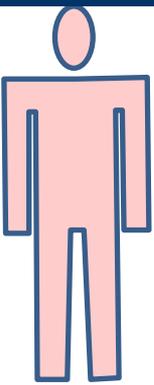
# 偽性副甲状腺機能低下症と偽性偽性副甲状腺機能低下症

疾患	表現型	分子基盤
正常	正常	GNASは腎ではPTHシグナルの細胞内伝達に関与. 腎および内分泌組織でインプリンティングを受ける. 父アレルが不活化, 母アレルが発現する,
AHO	肥満・低身長 皮下石灰化・短指症	GNASの構成的ハプロ不全
PHP1a	AHOの表現型＋ 尿細管のPTH抵抗性 Ca代謝異常, PTH高値	母親から受け継いだGNASの構成的ハプロ不全. インプリンティングを受ける腎および内分泌組織で 発現が完全に喪失
PPHP	PHP1aを生じる家系の 構成員がAHOのみを呈 する場合	父親から受け継いだGNASの構成的ハプロ不全. インプリンティングを受ける腎では母由来アレルが 完全発現する.
PHP1b	PHP1aの内分泌異常の みでAHOの症状を伴わ ない	母由来GNASインプリティングセンターの変異. インプリンティングを受ける腎および内分泌組織で 発現が完全に喪失 他の組織ではGNASがbiallelicに発現

AHO:Albright hereditary osteodystrophy

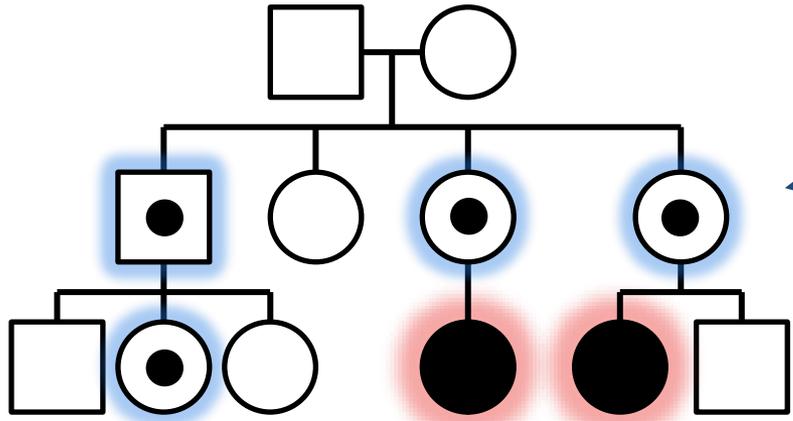
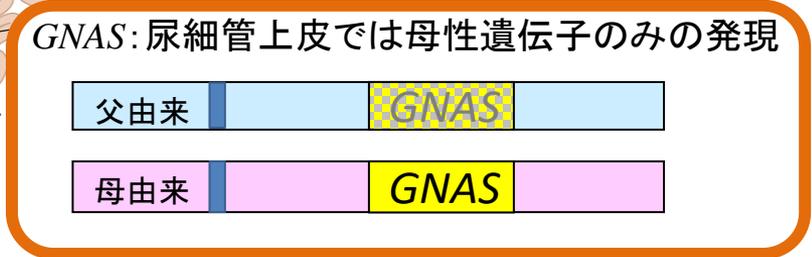
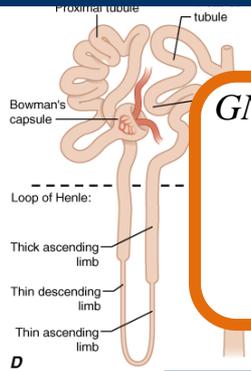
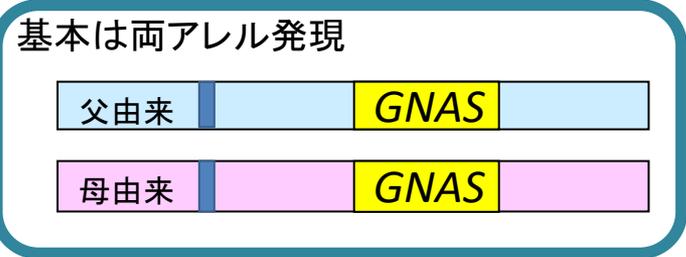
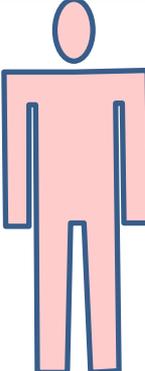
PHP:pseudohypoparathyroidism

# 偽性副甲状腺機能低下症1aのインプリンティング異常



AHO  
 PTH抵抗性の低Ca血症

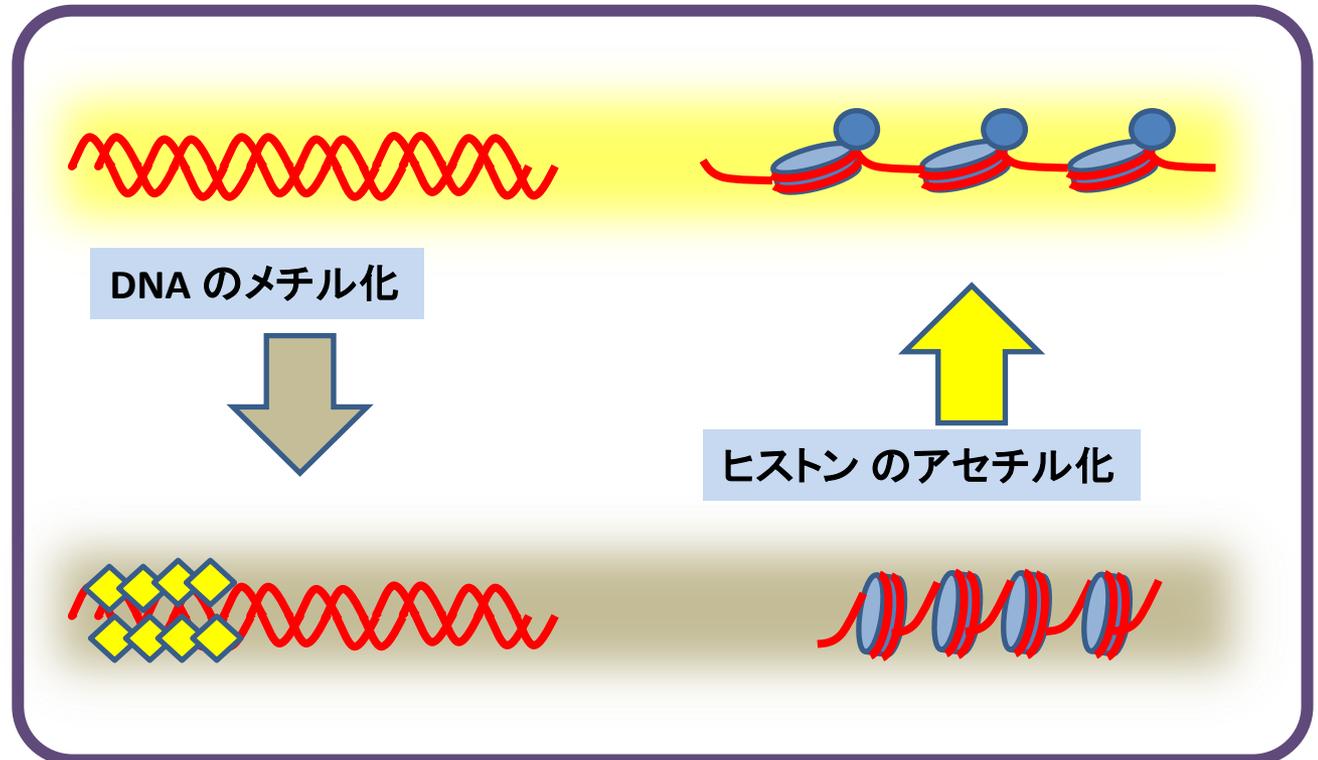
# 偽性副甲状腺機能低下症1bのインプリンティング異常



# Chapter 6 ヒストンの修飾

DNAの塩基配列の変化以外による遺伝子発現の調節機構

- DNAのメチル化
- ヒストンのアミノ酸の修飾



# Kabuki syndrome

臨床症状

特異顔貌

精神遅滞

指腹のパッド

低身長

側弯症

責任遺伝子

MLL2 KMT2D

KDM6A



# ヒストンとヌクレオソーム

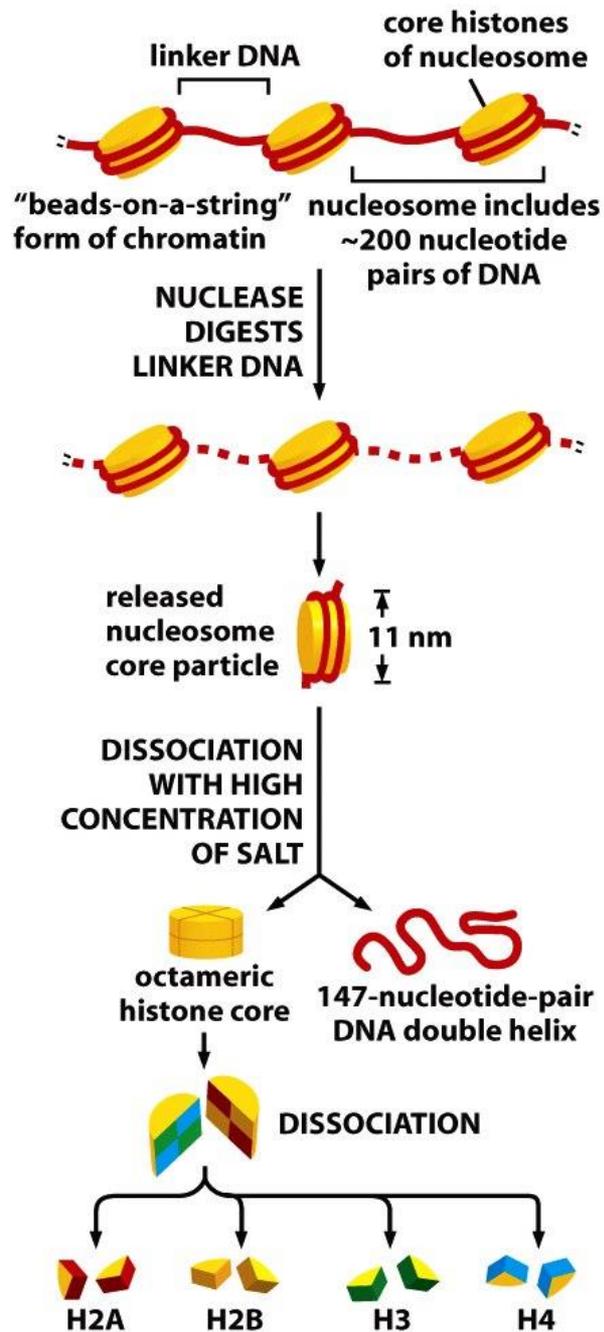
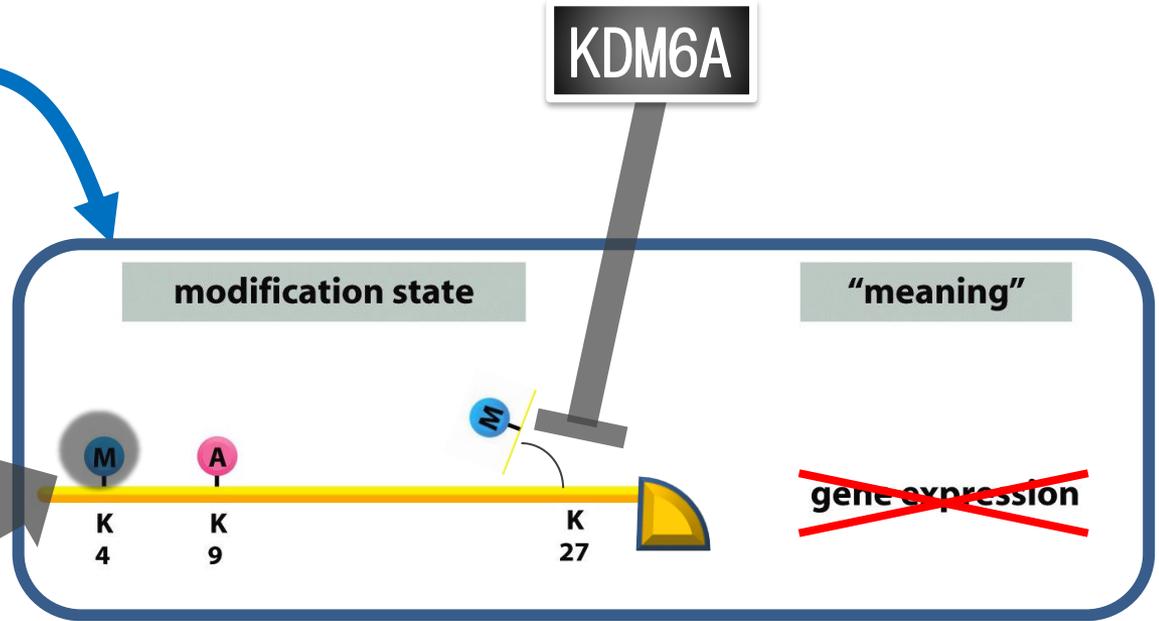
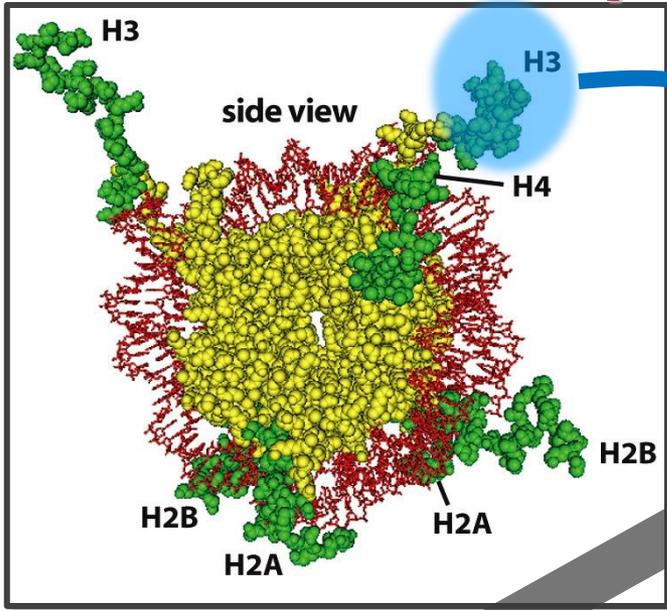
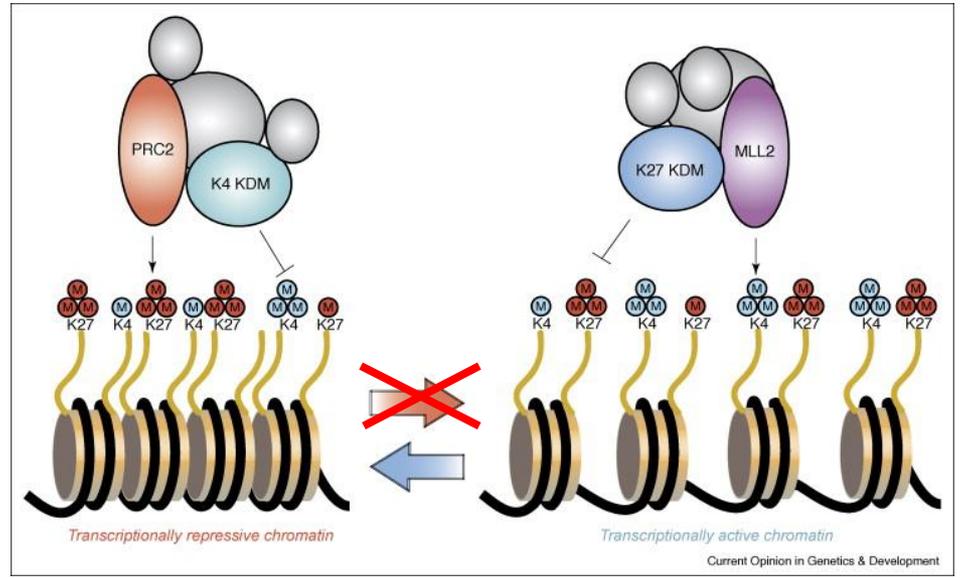
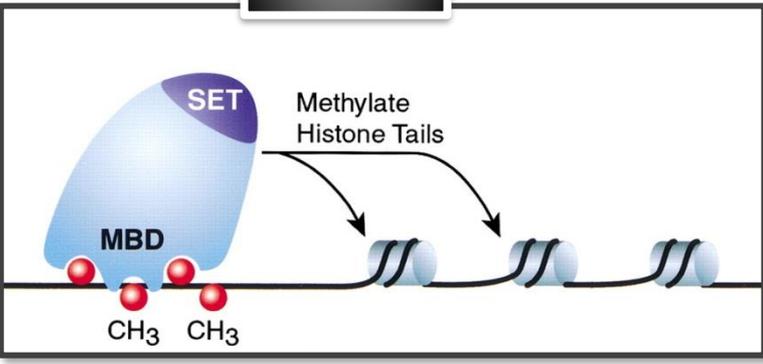


Figure 4-23 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

# Kabuki syndrome の遺伝子変異の効果



**KMT2D**



# ヒストンH3 N terminal tail の修飾とその意味

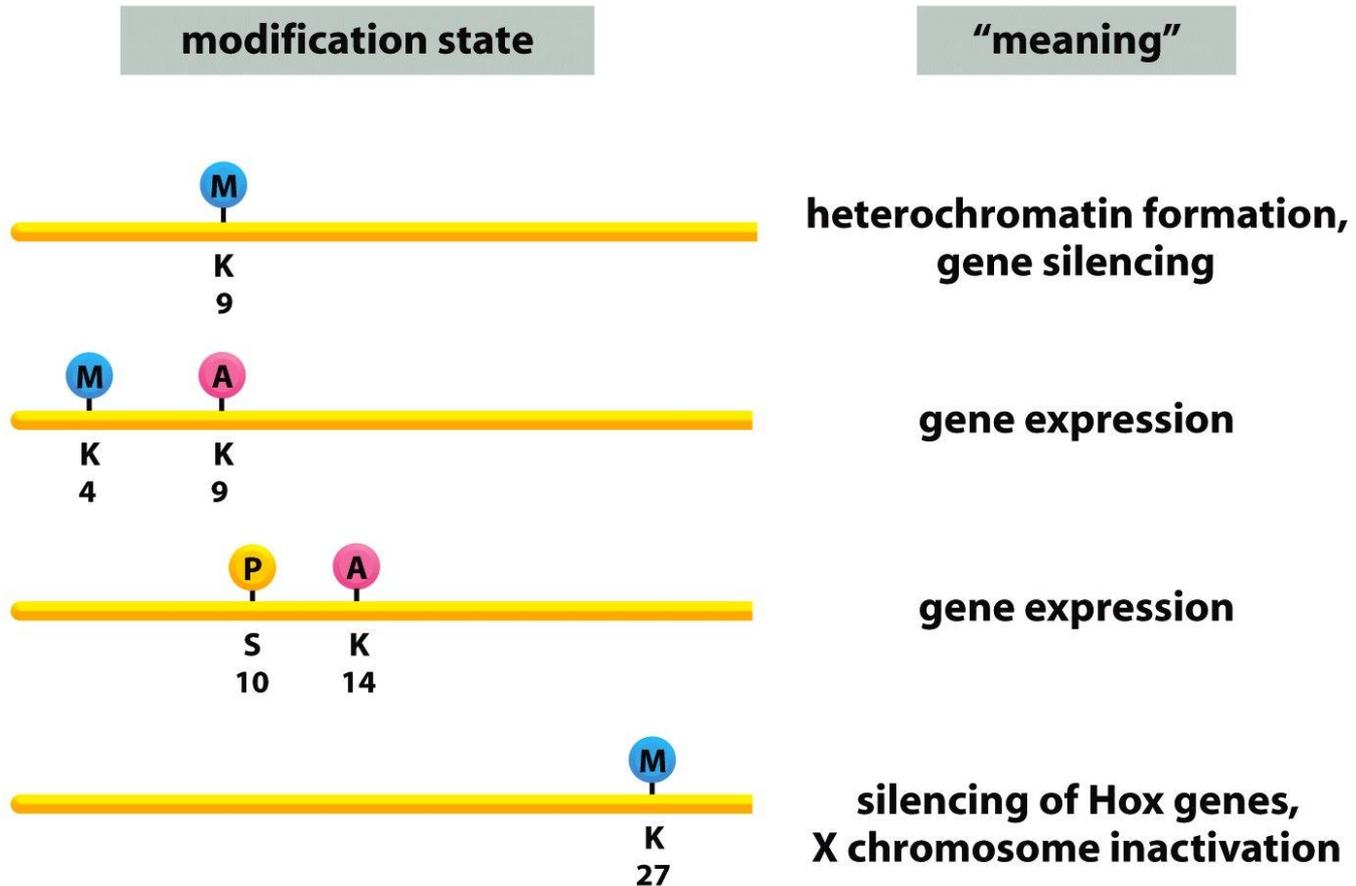


Figure 4-44b Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

# Chapter 7 エピジェネティクスと適応

栄養素

働き蜂



女王蜂



ローヤルゼリー

ローヤルゼリーはDNAを全般的に低メチル化  
(DNAメチル化酵素の働きを人為的に抑えても女王蜂に)

# 塩基の修飾と遺伝子の不活化

- 遺伝子には塩基配列を変化させることなく修飾することで機能を変化させる機構がある.
- **遺伝子調節領域のシトシン塩基のメチル化**
- **エンハンサー結合に関与する領域のメチル化あるいは脱メチル化**
- これらは構造的に転写因子/エンハンサーの結合を妨げる.
- これらの修飾はアレル特異的に起こる. (X染色体不活化では染色体特異的に起きる)
- これらの機構は細胞分裂を越えて、維持されるが、世代が変わるとき(生殖細胞で)一度リセットされる.

## 遺伝子の発現調節の分子機構

1. 遺伝子の転写開始点周囲ならびにその5'側 2,000 bpほどの領域にはCpG island のシトシンの非メチル化⇒転写の促進
2. 同領域のメチル化⇒転写の抑制
3. ヒストンテイルのアセチル化⇒クロマチン構造の緩み⇒転写の促進
4. ヒストンテイルのメチル化・脱メチル化⇒クロマチン構造の変化
5. DNA上の特定の非遺伝子領域のメチル化・脱メチル化⇒エンハンサーの阻害
6. miRNAによるmRNAの阻害

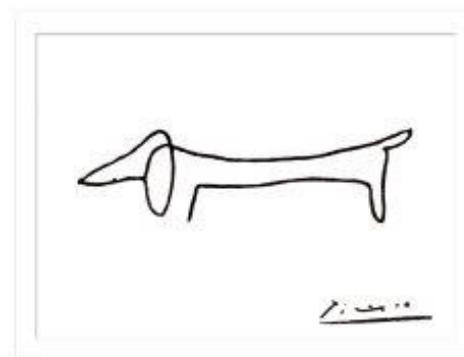
1. 使わない遺伝子の転写開始点周囲のCpGはメチル化される
2. CpGメチル化は組織体細胞レベルで遺伝子特異的に規定される。
3. CpGメチル化はDNA複製で維持される。
4. がん組織ではしばしば特定の遺伝子のメチル化異常による発現障害が起きる
5. X染色体の不活化はXICに支配されるメチル化により起こる。
6. 特定の遺伝子(領域15q11-13, 11p11.5など)ではメチル化による遺伝子の不活化が対立遺伝子の親由来に特異的に起きる。

1. CpGメチル化は遺伝子発現調節を介した細胞分化を規定する。
2. メチル化は細菌では外来種の排除システムである。宿主は制限酵素認識部位のメチル化で切断を回避。

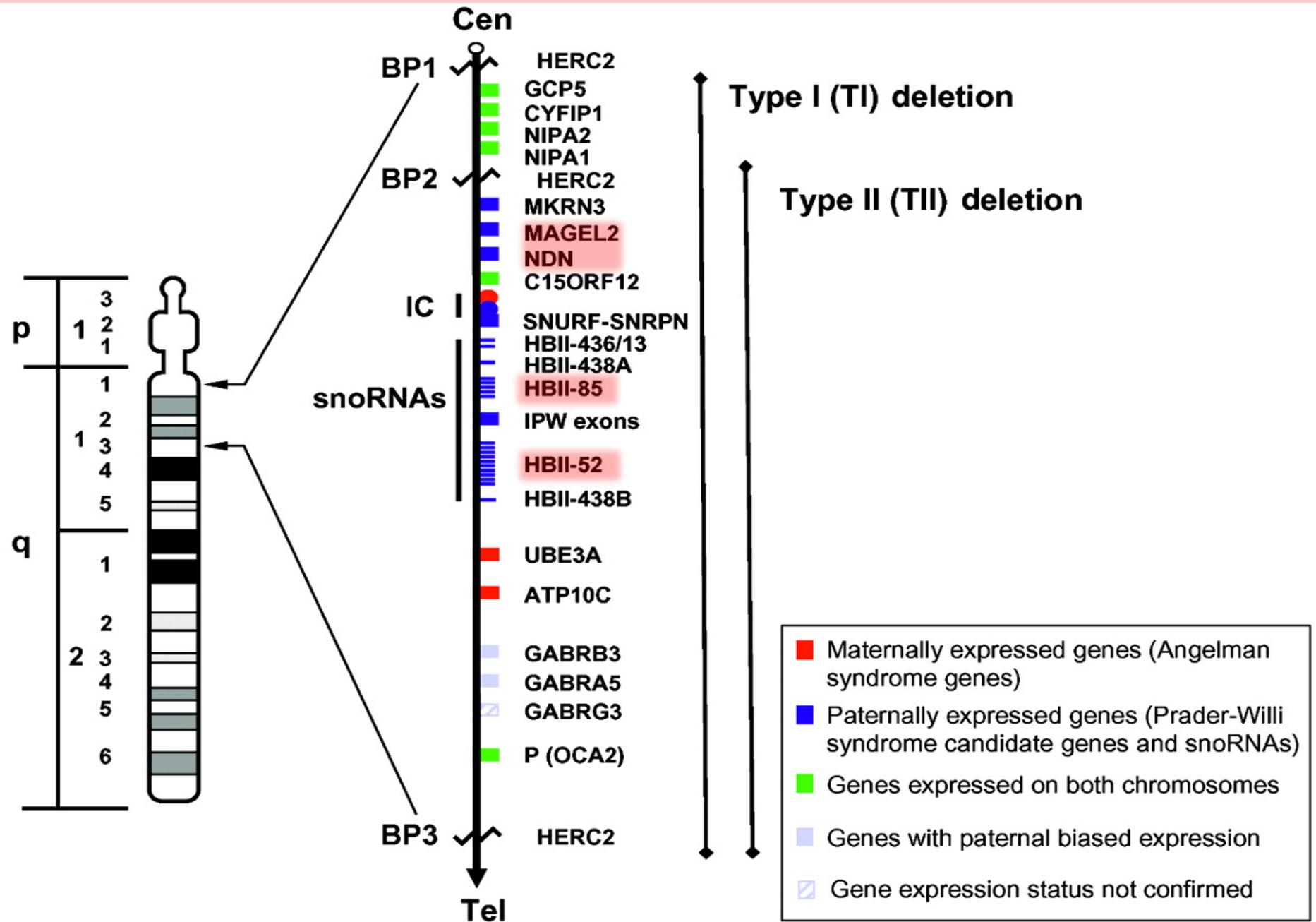
# エピジェネティクス

- DNAの塩基配列の変異 ➡ 選択と進化  
稀にかつランダムに起こり時間がかかる
- メチル化
  - 自己非自己の区別
  - 構造的な遺伝子の不活化(量補正)
  - 細胞の分化
  - 環境の変化に対する適応？
- メチル化以外にも遺伝子発現の調節機構がある
  - ヒストンの修飾
  - miRNA: 転写後発現調節

- おまけ



# PWS遺伝子の働き: 21世紀になってわかってきたこと



# PWSの責任遺伝子の働きー1

**NECDIN** : DNA結合タンパク, 神経の発達・神経突起伸長  
ノックアウトマウスはPWS様の症状が出る:(痛覚鈍麻,  
搔破行動, 空間認識力増加)が, 過食・肥満や生殖能力  
低下はなし

**MAGEL2**: 詳細不明

自閉症スペクトラム障害, 認知障害, 肥満±過食

Schaff-Yang syndrome: **MAGEL2**のみの機能喪失変異

ノックアウトマウスでは新生児期の発達遅滞, 哺乳力低  
下, 離乳後の過度の体重増加,

成人後の脂肪組織の増加と代謝の変化

日内周期に関係

レプチンする反応性の低下

# PWSの責任遺伝子の働きー2

## **SNORD116 : snoRNA HBII-85**

ノックアウトマウスは過食

この遺伝子を選択的に欠く患者はPWSの症状／非PWS  
(高身長, 頭囲アップ, 特異顔貌がないなど)

200以上の遺伝子の発現に影響

## **SNORD115 : snoRNA HBII-52**

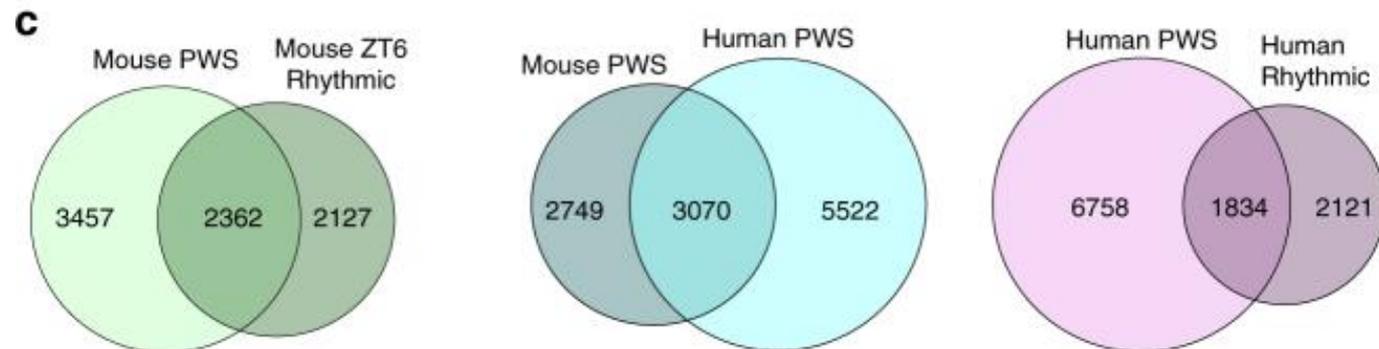
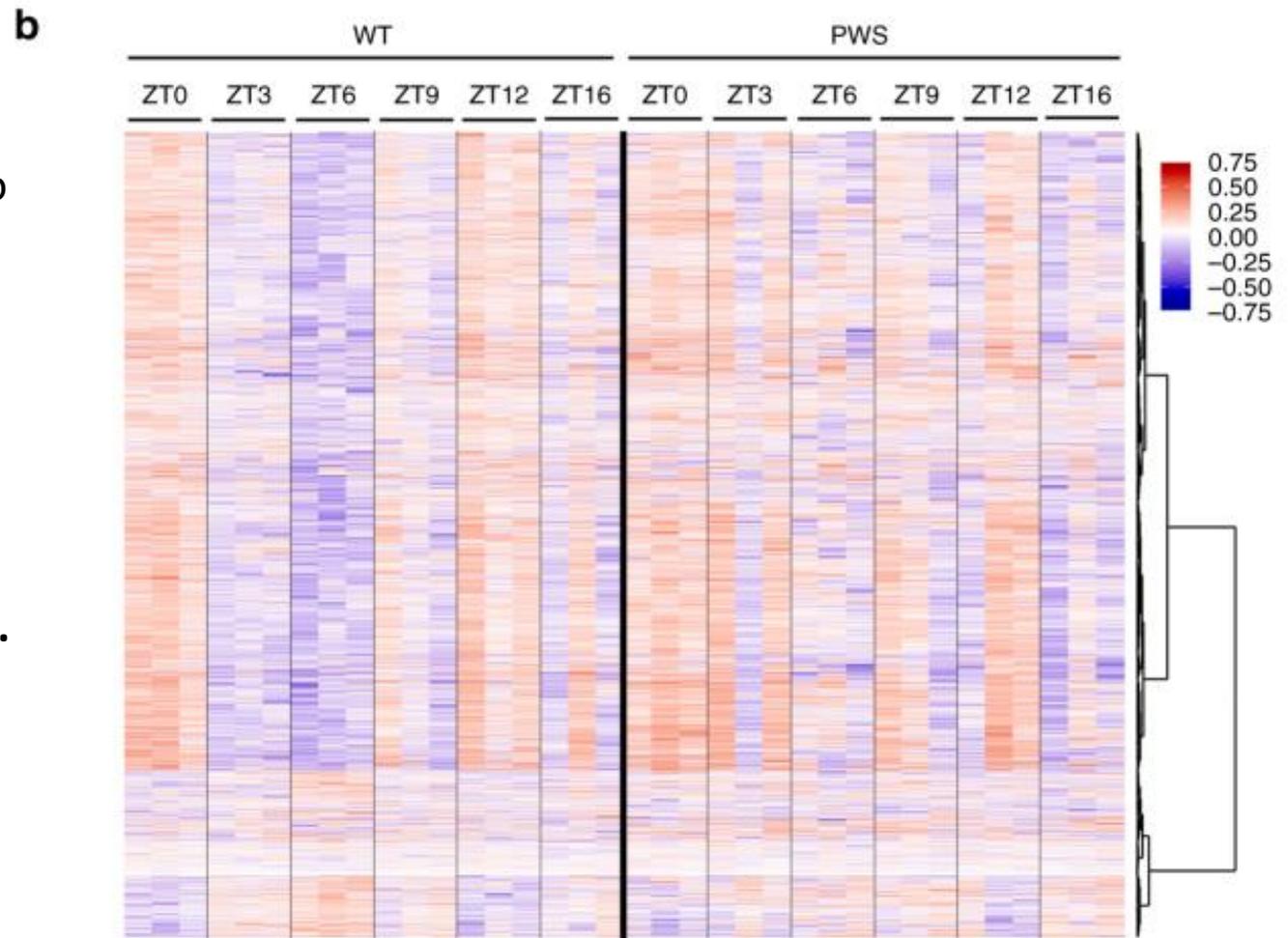
serotonin 受容体2cの発現を阻害

もうすぐ終わるよ



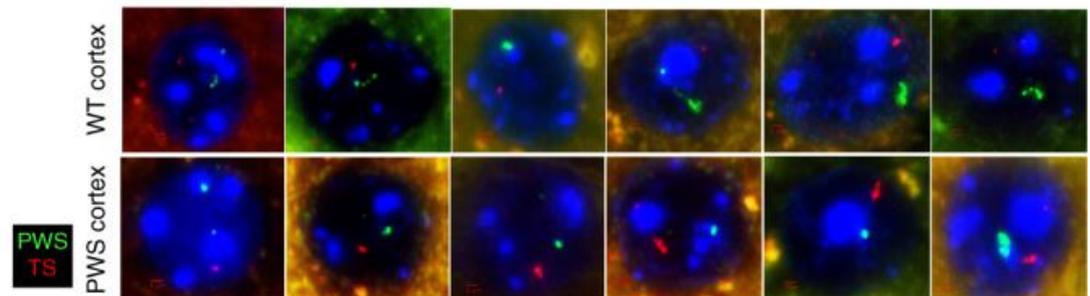
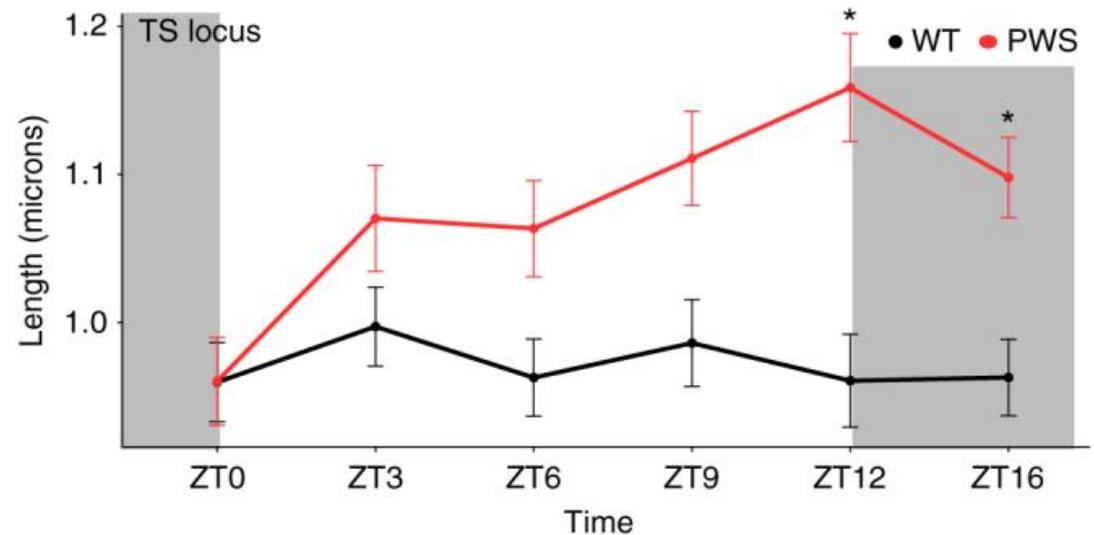
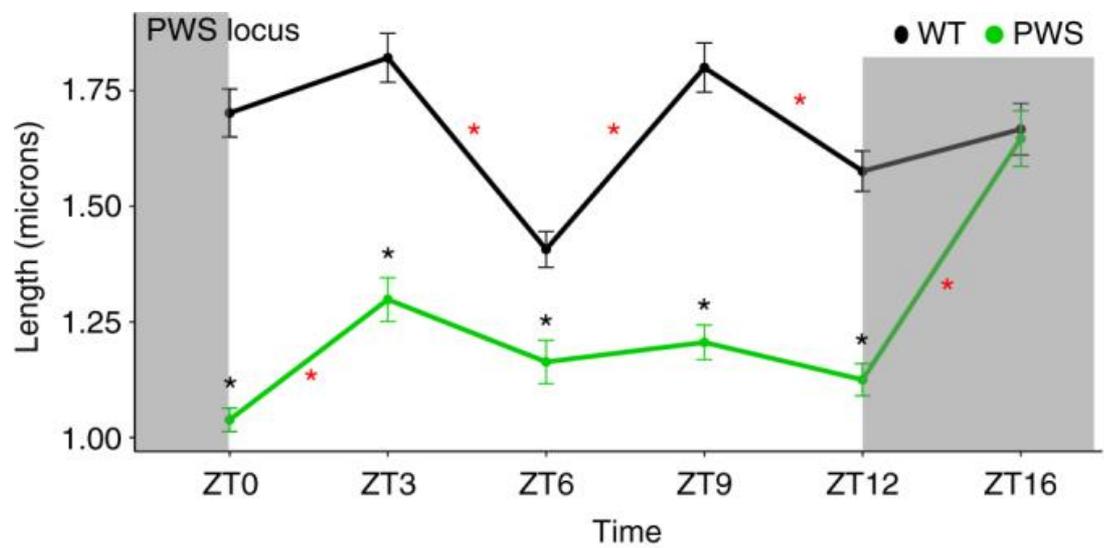
Overall, 0.35% of potential DMRs (meeting coverage requirements to be considered for DMR calling) in the WT cortex exhibit light-specific rhythmic methylation, with 97% of these disrupted in *Snord116*<sup>+/-</sup> cortex.

**Rochelle L. Coulson et al.**  
**Nat Commun. 2018; 9:**  
**1616**



DNA FISH for the diurnal decondensation of the paternal PWS (green) and maternal TS (red) loci, including representative images for each condition. Compact silent alleles of each locus are much smaller and fainter than decondensed active alleles.

**Rochelle L. Coulson et al**  
**Nat Commun. 2018; 9: 1616**



# エピジェネティクスの時代だ

- 塩基配列は不変であるが、転写の調節領域やプロモーター領域のシトシンがメチル化されるとその遺伝子是不活化される。
- メチル化は染色体特異性、領域特異性、アレル特異性、組織特異性に起きる。
- いくつかのゲノム領域のメチル化は動的である。
- がん化や環境への対応、日内リズム年内リズムに関与している。