

アルギニンメチル化と細胞機能制御

山形 一行, 大徳 浩照, 深水 昭吉

メチル化アルギニン誘導体は30年以上も前に同定・単離されていたものの、その生理学的役割については長らく不明なままであった。ここ10年の間に、タンパク質アルギニンメチル基転移酵素 (PRMTs) の同定、またメチル化を検出する解析技術の進歩により、アルギニン残基のメチル化がシグナル伝達やRNAプロセッシング、転写制御やDNA修復など、多岐に渡る細胞機能に関与していることが示されてきた。本稿ではアルギニンメチル化酵素について概説したのち、ヒストン及び非ヒストンタンパク質のアルギニンメチル化による細胞機能の制御機構に焦点を絞り、最新の研究成果を紹介する。

1. アルギニンのメチル化とタンパク質アルギニンメチル基転移酵素

[1] タンパク質アルギニンメチル基転移酵素とは

生体分子のメチル化修飾は様々な生命現象に広く関わっていることが推察されている。1960年代にはタンパク質がメチル化されることが、1980年代にはアルギニン残基やリジン残基がメチル化の標的であることが明らかにされていたが、その酵素の実態は長らく不明であった¹⁾。1996年にGaryらが出芽酵母にてアルギニンをメチル化する酵素アルギニンメチル基転移酵素1 (RMT1) を同定し²⁾、また哺乳類においてもそのホモログが存在することが判明したことで³⁾、ようやくアルギニンメチル化酵素の本体が解明された。

タンパク質中のアルギニン残基のメチル基は、タンパク質アルギニンメチル基転移酵素 (protein arginine methyltransferases; PRMTs) がS-アデノシルメチオニン (AdoMet または SAM) をメチル基供与体として、アルギニン側鎖のδ-グアノジノ基に存在するω-窒素原子にメチル基の導

入を触媒することで生じる (図1)。PRMTは酵母からヒトまで高度に保存されたタンパク質であり、四つの特徴的なモチーフ (モチーフIとそれに続く post I, II, III), そして THW ループを持つ (図2)。モチーフIと post I, そして THW ループは SAM との結合ポケットを形成している⁴⁾。PRMTはそのメチル基転移の様式の違いからタイプIとタイプIIに分類されている (図1, 2)。タイプIに属するPRMTはPRMT1, 2, 3, 4, 6, 8が知られており、タンパク質中のアルギニン残基をモノメチル化、及び非対称性ジメチル化する。一方、タイプIIに属するPRMTはPRMT5, 7 (PRMT7はモノメチル化しか触媒しないタイプIIIのアルギニンメチル基転移酵素であると主張する報告もある⁵⁾) が知られており、これらはアルギニン残基のモノメチル化、及び対称性ジメチル化を触媒している。どちらの反応においてもタンパク質の (ジ)メチル基の転移の副産物としてS-アデノシルホモシステイン (AdoHcy) を生成する。PRMT2については、これまで酵素活性が存在するか不明であったが、ごく最近試験管においてごく弱いながらもタイプI活性を持ち、ヒストンH4をメチル化することが証明された⁶⁾。ヒストンアルギニンメチル化酵素として初めて同定されたCARM1 (coactivator-associated arginine methyltransferase 1) は、4番目に見つかったPRMTであり、PRMT4とも呼ばれている。Jak2 (Janus activating kinase 2) と相互作用する因子として同定されたJBP1はヒストンをメチル化しうる酵素であることが報告され、その後PRMTファミリーに属することが明らかとなり、後にPRMT5と改名されている⁷⁾。さらにゲノム配列の比較か

筑波大学先端学際領域研究センター生命情報機能研究アスペクト (〒305-8577 茨城県つくば市天王台1-1-1 筑波大学先端学際領域研究センターB棟1階)

Regulation of cellular functions by arginine methylation
Kazuyuki Yamagata, Hiroaki Daitoku and Akiyoshi Fukamizu (Center for Tsukuba Advanced Research Alliance, Aspect of Functional Genomic Biology, University of Tsukuba, Ten-noudai 1-1-1, Tsukuba, Ibaraki 305-8577, Japan)

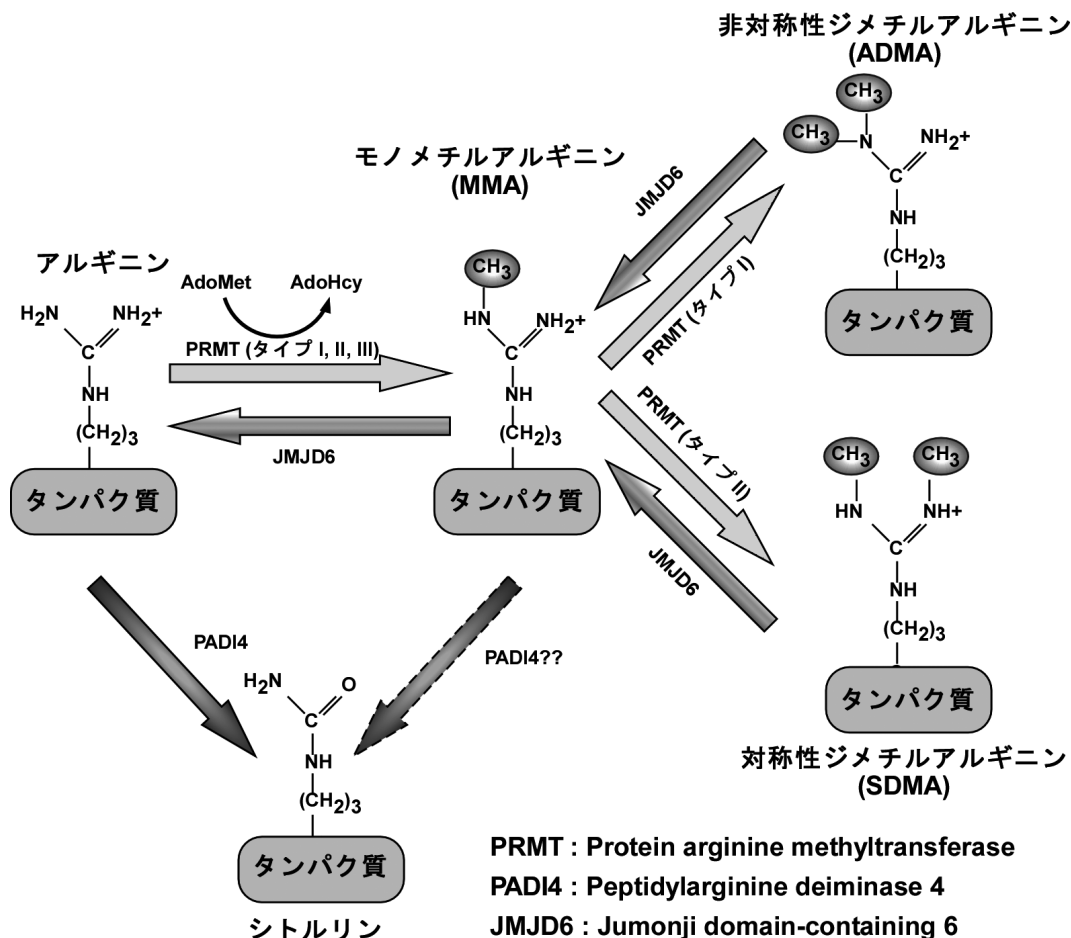


図1 アルギニンメチル化の反応機構

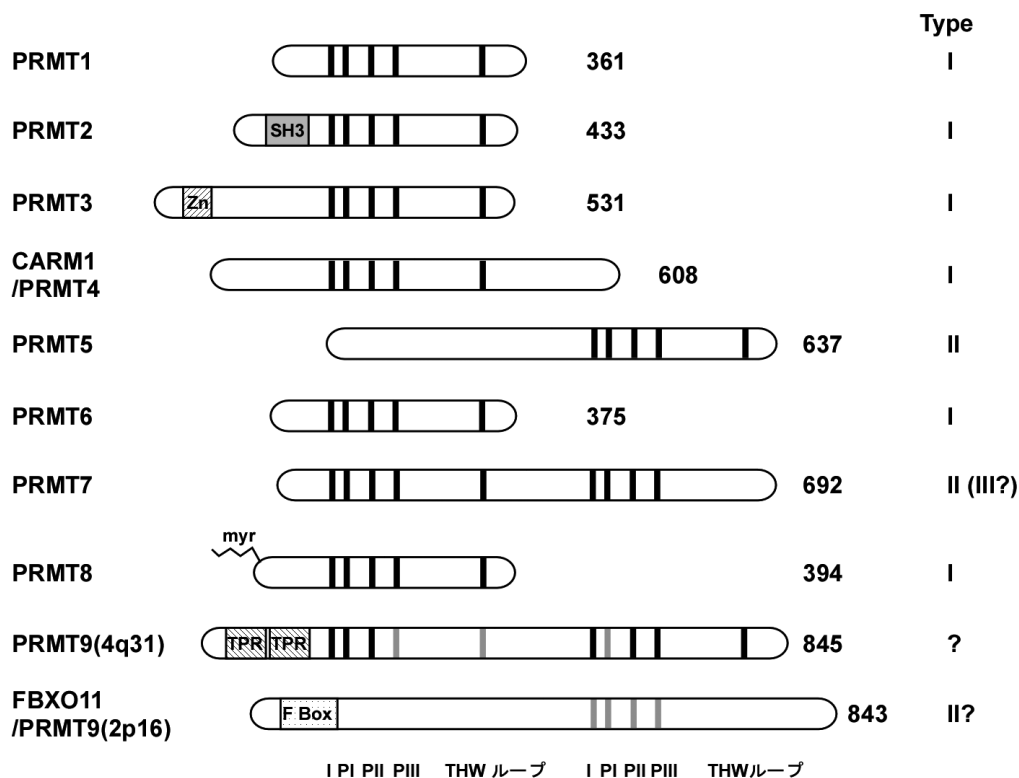
タイプ I, II, III の PRMT はアルギニン側鎖の δ -グアノジノ基に存在する ω -窒素原子にメチル基を一つ導入する (MMA)。次いでタイプ I PRMT は同一の ω -窒素原子に二つ目のメチル基を導入する (ADMA)、タイプ II PRMT はメチル基が導入されていない ω -窒素原子に二つ目のメチル基を導入する (SDMA)。PADI4 はアルギニン残基をシトルリンに置換する。JMJD6 はヒストンの特定のアルギニン残基においてメチル化アルギニンの脱メチル化を触媒する (図3 参照)。

ら、ヒトの 4q31 に存在する遺伝子 [AAH64403 (genbank)] が PRMT7 とホモロジーがあることが確認され PRMT9 と命名されているが⁹⁾、酵素活性などの生化学的な解析についての報告はなされていない。また、ヒトの 2p16 に存在する F ボックスを持つ *FBXO 11* 遺伝子がアルギニンメチル化酵素であることが報告されているが⁹⁾、PRMT 特有の THW モチーフを持たないことや、その酵素活性の再現性を疑問視する報告もあり¹⁰⁾、更なる検証が必要である。一方、遊離の L-アルギニンを直接メチル化する酵素については、現在のところ見出されていない。

[2] アルギニンメチル基転移酵素の標的配列

タンパク質のアルギニンメチル化は、GAR ドメインという RNA 結合タンパク質によく見られるグリシン-アルギニンに富む領域 (RG, RGG, RGR の繰り返し配列であることが多い) に生じることが 1990 年代に報告された¹¹⁾。細胞内においては、PRMT1 が最も主要なアルギニンメチ

ル化酵素であると考えられており¹²⁾、最も解析が進んだ PRMT の一つである。この PRMT1 をはじめとした PRMT ファミリーは GAR ドメインをメチル化する場合が多い。しかしながら、ヒストンのように GAR ドメインを持たないタンパク質も数多くメチル化されることが明らかにされており、標的配列のルールについては、未だはっきりとした結論は得られていない。和田らは PRMT1 によってアルギニンメチル化されるタンパク質をスクリーニングする手法を開発し、GAR ドメインのみならず R-X-R モチーフもメチル化の標的になり得ることを示した¹³⁾。また、PRMT1 の基質のプロファイリングにより、PRMT1 のメチル化はこれまで考えられてきたよりも配列特異性が低いことが報告されている¹⁴⁾。一方、メチル化アルギニンを認識する抗体が複数作成され、網羅的にメチル化タンパク質を同定する試みが行われた¹⁵⁾。その結果、多数のタンパク質がアルギニンメチル化されていること、様々な配列中のアル



特徴的なPRMTのモチーフ

モチーフ I (I): VLD/EVGxGxG | 保存されたモチーフ I、
post I (PI): V/IxG/AxD/E | postI, postII, postIII,
post II (PII): VLD/EVGxGxG | THW ループを示す
post III (PIII): LR/KxxG | 想定上のモチーフ I、
THW ループ | postI, postII, postIII,
 THW ループを示す

PRMTに存在するドメイン・モチーフ

SH3 SH3ドメイン
Zn Znフィンガードメイン
myr ミリスチル化
TPR Tetra-trico-peptide repeatモチーフ
F Box Fボックスモチーフ

図2 タンパク質アルギニンメチル基転移酵素 (PRMTs) の構造模式図

これまで報告されている PRMT の構造と酵素活性を列挙した。PRMT には高度に保存された四つのモチーフ (モチーフ I, post II, post III) と THW ループが存在する。FBXO11 はアルギニンメチル化酵素であると報告されたが、モチーフの保存性が低くなく、THW ループも欠いている。

ギニン残基がメチル化されていることが明らかになった。これまでのアルギニンメチル化サイトの配列情報を基に、任意のタンパク質のアルギニンメチル化サイトを予測するプログラム (MeMO) が開発され、Web 上 (<http://www.bioinfo.tsinghua.edu.cn/~tigerchen/memo.html>) で公開されている¹⁶⁾。

[3] アルギニンメチル基転移酵素の酵素活性の制御

PRMT そのものの酵素活性の制御機構についてはまだまだ未解明な点が多いが、タンパク質間相互作用やシグナル伝達はその酵素活性に寄与している報告がいくつかなされている。Rmt1 及び PRMT1 の立体構造が明らかにされ、多量体を形成していること、それが酵素活性に重要であることが報告されている^{4,17)}。さらに、細胞増殖の抑制に関わる BTG1 及び BTG2 が PRMT1 と相互作用し、*in vitro* で

その酵素活性を増強することが明らかとなった³⁾。また、BTG1 結合タンパク質である hCAF1 も同様に PRMT1 の酵素活性を増強するとの報告がなされた¹⁸⁾。Xu らは CARM1/PRMT4 (coactivator-associated arginine methyltransferase 1; 詳細は 2-[1]にて後述) 複合体を精製したところ、CARM1 単体ではフリーのヒストンしかメチル化できないのに対し、CARM1 複合体はヌクレオソームのヒストンもメチル化できることを明らかにした¹⁹⁾。この CARM1 はリン酸化 (酵素はまだ未同定) によってその酵素活性が抑制されることが報告されている²⁰⁾。PRMT5 は hSWI/SNF 複合体やコリプレッサー複合体に含まれており²¹⁾ (詳細は 2-[2]で後述)、PRMT5 はその複合体中において酵素活性が増強されていることが知られている。また、ゲノムインプリンティングに寄与していると考えられている

CTCF1 は、PRMT7 の酵素活性を増強することが報告されている²²⁾ (詳細は 2-[2]で後述)。

[4] アルギニンメチル基転移酵素の生物学的意義

哺乳類の PRMT について、現在 PRMT1, PRMT2, PRMT3 そして CARM1 のノックアウト (KO) マウスが作成されている²³⁾。PRMT1 の KO マウスは胎生初期に致死であり、PRMT1 依存的なアルギニンメチル化は発生において極めて重要な役割を果たしていると思われる²⁴⁾。一方、PRMT1 を KO した ES 細胞は生存することから、細胞の生存には必須ではないらしい²⁵⁾。PRMT2 の KO マウスはメンデルの法則に従い正常に生まれ、現在までのところマウス個体の異常などは見出されていない²⁵⁾。細胞レベルでは PRMT2 は NFκB の機能を抑制し、PRMT2-null のマウス胚線維芽細胞は野生型と比較してアポトーシス耐性になる²⁶⁾。PRMT3 の KO マウスは胎児がやや小さいものの正常に生まれ、その後野生型と同等の体形に戻るものが報告されている²⁷⁾。CARM1 の KO マウスは体形が小さく、胎生後期あるいは出産後すぐ致死になること²⁸⁾、胸腺における T 細胞の発生が阻害されていることが報告されている²⁹⁾。

2. ヒストンのアルギニンメチル化の制御機構

核内において、ヒストンは DNA を巻きつけ、クロマチン構造を維持する上で必須のタンパク質である。ヒストンは古くから様々な翻訳後修飾を受けることが知られてお

り³⁰⁾、近年、翻訳後修飾がヒストンの構造や局在する遺伝子座の転写活性を制御することが明らかにされつつある。ヒストンの翻訳後修飾による制御機構は「ヒストンコード仮説」として知られ³¹⁾、現在世界中で活発に研究が進められている³²⁾。ここではヒストンのアルギニンメチル化修飾に焦点を当て、これまでの知見を俯瞰する。なお本稿では、ヒストンのアルギニンメチル化について、ヒストンの種類 (例: H3)、アルギニン残基の位置 (例: R2)、メチル化の数 (例: me2) と種類 (非対称性ジメチル化: a, 対称性ジメチル化: s) の順で表記する。また、ヒストンのアルギニンメチル化とその酵素を図 3 にまとめたので参照されたい。

[1] ヒストンの非対称性アルギニンメチル化機構

ヒストンのリジン残基やアルギニン残基がメチル化されていることは古くから知られていたが、その酵素についての実体は長らく不明なままであった。ヒストンのリジンメチル化酵素については、2000 年に SUV39H1 が H3K9 のメチル化酵素として同定されたのを皮切りに、30 種類以上のヒストンリジンメチル化酵素が同定されている³³⁾。一方、ヒストンのアルギニンメチル化酵素については、1999 年 Chen らがステロイドホルモンレセプターのコアクチベーター GRIP1 と相互作用する因子がヒストンアルギニンメチル化酵素であることを見出し、これを CARM1 (coactivator-associated arginine methyltransferase 1) と名付けた³⁴⁾。Chen らは CARM1 が H3 の R2, R8, R17 をメチ

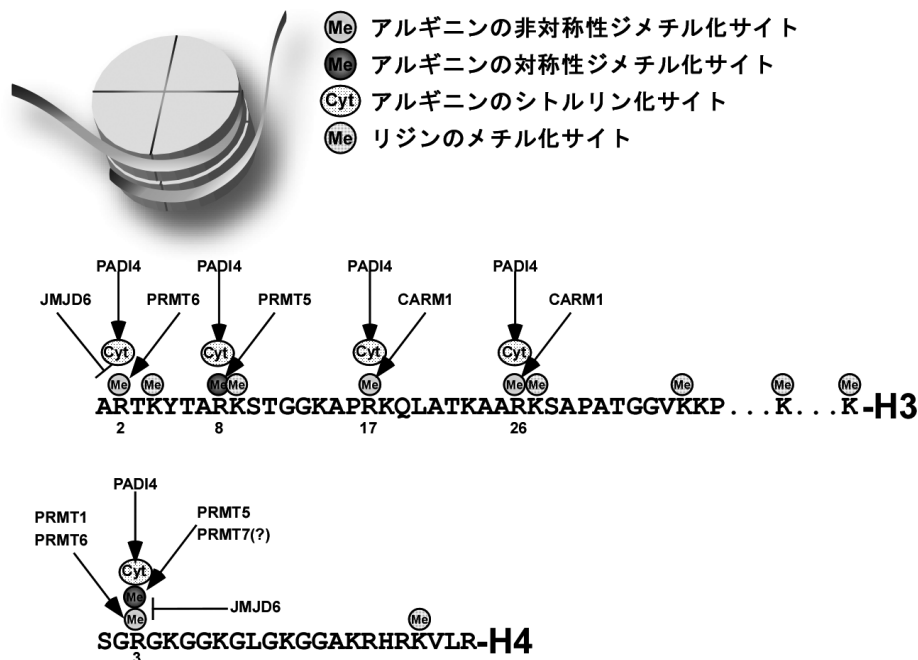


図 3 ヒストンのアルギニン残基の修飾

ヒストンのアルギニンの修飾サイトを示した。参考までに、ヒストンのリジンのメチル化サイトも記載した (詳細は文献 33) を参照のこと)。

ル化し、核内受容体型転写因子と協調して転写活性化に寄与していることを明らかにした。一方、WangらはHeLa細胞の核抽出液からヒストンをメチル化する酵素を探索した結果、42kDaのタンパク質がヒストンH4をメチル化する酵素活性を担っており、これがPRMT1であることを明らかにした³⁵⁾。PRMT1はH4R3のメチル化酵素であり、H4R3の非対称性ジメチル化(H4R3me2a)は非修飾のヒストンH4と比較して、*in vitro*においてヒストンアセチル化酵素p300によるアセチル化を受けやすいことが判明した。また、CARM1と同様に、PRMT1は核内受容体による転写活性を促進した。以上の報告から、PRMT1及びCARM1によるヒストンのアルギニンに対する非対称性ジメチル化は転写の活性化に寄与することが明らかになった。

CARM1は*in vitro*においてH3R2, R17, R26の主要なメチル基転移酵素として同定され、転写のコアクチベーターとして機能していることが報告された³⁴⁾。しかしその後の解析から、CARM1によるヒストンのメチル化にはH3R17, R26me2aに指向性があること³⁶⁾、ChIP on Chip解析の結果、H3R17, R26me2aがアクティブな遺伝子座に多いのに対し、H3R2me2aがサイレントな遺伝子座に多いことから³⁷⁾、細胞内でのH3R2のメチル化についてCARM1が寄与している可能性が疑問視されていた。ごく最近、哺乳類におけるH3R2me2aの主要なメチル化酵素がPRMT6であることが明らかとなり³⁸⁻⁴⁰⁾、H3R2me2aとH3K4me3が相互排他的な関係にあることが明らかとなった⁴¹⁾。PRMT6によるH3R2me2a修飾はH3K4me1及びH3K4me2に強く生じ、H3K4me3では弱いことが*in vitro*で確かめられた⁴⁰⁾。一方H3R2me2a修飾は、H3K4メチル化酵素であるMLL1複合体中に含まれるH3認識を担うWDR5との相互作用を減弱させ、その結果H3K4のメチル化を遮断した³⁸⁾。まとめると、これらの報告によりPRMT6がH3R2me2aを介してアクティブマークであるH3K4の*de novo*のメチル化を遮断する転写抑制因子であることが明らかになった。付け加えて、H3R2me2a修飾は*in vitro*においてH3K4メチル化依存的なChromoドメイン、WD40ドメイン、Tudorドメイン、PHDドメインの結合を阻害するという報告がなされた⁴⁰⁾。中でも、Chromoドメインを持つCHD1はヒストンアセチル化酵素複合体SAGAに含まれ、メチル化H3K4を認識することでアセチル化による遺伝子座の転写活性に寄与していることから、PRMT6によるH3R2me2a修飾はヒストンのアセチル化も抑制している可能性がある。このように、ヒストンのリジンメチル化同様アルギニンメチル化も、クロマチン制御の場において複雑な制御系が存在することが強く示唆され、今後の研究の進展が期待される。

[2] ヒストンの対称性アルギニンメチル化機構

Palらは、Sin3Aを含むSWI/SNF複合体中にPRMT5が含まれていることを見出し、この複合体中でPRMT5はH3R8とH4R3を対称性ジメチル化(H3R8me2s, H4R3me2s)すること、それががん抑制遺伝子である*ST7*及び*NM23*の発現抑制に重要であることを報告した⁴²⁾。この複合体中にはヒストン脱アセチル化酵素HDAC(histone deacetylase)も含まれており、PRMT5はH3R8のメチル化とヒストンリジンの脱アセチル化に共役して標的遺伝子座の抑制に寄与する転写抑制因子の一つであると考えられている。この考えを裏付けるように、遺伝子の発現が低くH3K4me3が少ない領域においてはH4R3me2sに富むこと³⁷⁾、PRMT5が別の転写抑制因子Blimp1やSnailを介した転写抑制複合体にも含まれることが明らかにされている^{43,44)}。ごく最近、Zhaoらはγグロビン遺伝子の発現制御を担うNF-E4の相互作用因子としてPRMT5を同定し、H4R3me2sを伴ってγグロビン遺伝子の発現を抑制することを見出した⁴⁵⁾。驚くべきことにPRMT5はDNMT3A(DNA methyltransferase 3A)と相互作用し、DNMT3AのADDドメインがH4R3me2sを認識することで、γグロビン遺伝子座のDNAをメチル化することが判明した。さらに、PRMT5は発生に伴うγグロビン遺伝子座のサイレンシングに重要な役割を果たしていることも明らかにされた。

一方、PRMT7は対称性アルギニンメチル化酵素であり、H2AとH4をメチル化することが報告された⁴⁶⁾。興味深いことに大腸菌から精製したPRMT7は活性がほとんどなく⁵⁾、哺乳類細胞から調製したときに強い活性を示した(同じく対称型PRMTのPRMT5についても同様の報告がなされている⁴²⁾)。最近、PRMT7の相互作用因子としてCTCFL(CCCTC-binding factor like)が同定され、ゲノムインプリンティングとヒストンのメチル化に関連があることが報告された²²⁾。CTCF(CCCTC-binding factor)はH19遺伝子座でのインプリンティングに重要な役割を果たしているタンパク質である⁴⁷⁾が、CTCFLは精巢特異的に発現するCTCFファミリータンパク質である。JelinicらはCTCFとCTCFLの相同性に着目し、CTCFL特異的な領域をbaitとした酵母ツーハイブリッドスクリーニングを行ったところ、PRMT7がCTCFLの相互作用因子であることを見出した。CTCFLは試験管内でヒストンH1, H2, H3と相互作用し、PRMT7のヒストンに対するメチル化酵素活性を増強した。また、対称性メチル化アルギニンを認識する抗体を用いて解析した結果、*Xenopus*卵母細胞においてCTCFLとPRMT7は協調してH4R3をジメチル化すること、マウスの発生に従って精巢の対称性ジメチルアルギニンが増加することを確認した。さらに、*Xenopus*卵母細胞を用いた解析からCTCFLとPRMT7はDnmt3a/b/LによるH19遺伝子座のDNAメチル化に重要であることも明

らかにされた。

以上の報告から、PRMT5 及び PRMT7 による H4R3me2s は転写抑制複合体を介した転写活性の抑制に寄与しているのみならず、DNA メチル化によるゲノムインプリンティングに重要な役割を果たしていることが強く示唆され、今後の更なる研究の発展が期待される。

[3] ヒストンのアルギニン脱イミン化 (シトルリン化) 機構

タンパク質のアルギニン残基は PADI (peptidylarginine deiminase) と呼ばれる酵素によって脱イミン化され、シトルリンに置換されることが知られている。萩原らはプロテオミクス的手法によってシトルリン化されたタンパク質を探索した結果、ヒストンのアルギニン残基がシトルリンに置換されていることを見出した⁴⁸⁾。この発見が契機となり、PADI4 (peptidylarginine deiminase 4) が Ca^{2+} 依存的にヒストンのアルギニン残基をシトルリン化する責任因子であることが報告された^{49,50)}。PADI4 はアルギニンメチル化を受ける H3R2, R8, R17 と H4R3 をシトルリンに変換することで、CARM1 や PRMT1 によるそれらのサイトの非対称性ジメチル化を遮断することから、ヒストンのアルギニンが PRMT によるメチル化を受けるのを防ぐ修飾であると考えられている。一方、Wang らによると、PADI4 はモノメチル化された H3 及び H4 のアルギニンもシトルリンに置換できると報告したが⁵⁰⁾、*in vitro* では PADI4 はモノメチルアルギニンやジメチルアルギニンをシトルリンに変換できないとする報告もなされ⁵¹⁾、PADI4 がメチルアルギニンをシトルリンにできるのか疑問視されている。

[4] メチル化アルギニンの脱メチル化機構

タンパク質のメチル化はこれまで長い間不可逆であると考えられてきたが、2004 年に Shi らによる FAD 結合ドメインを持つ H3K4 脱メチル化酵素 LSD1/KDM1 の発見⁵²⁾、及び東田らによる Jmj (Jumonji) ドメインを持つ H3K36 脱メチル化酵素 JHDM1/KDM2 の発見以降⁵³⁾、ヒストンリジン脱メチル化とその生物学的意義について急速に理解が進んでいる^{54~56)}。Chang らは JMJD6 がヒストンアルギニン脱メチル化酵素であることを見出した⁵⁷⁾。JMJD6 はもともと細胞膜に局在するアポトーシス細胞の認識・除去に関わる因子ホスファチジルセリンレセプター (PSR) としてクローニングされていたが⁵⁸⁾、その後そもそもこの因子が核に局在すること⁵⁹⁾、KO マウスの解析からアポトーシス細胞の除去に差がなかったことなど⁶⁰⁾、アポトーシスにおける JMJD6 の機能に対して懐疑的な報告がなされていた。Chang らは JMJD6/PSR に Jmj ドメインが存在することから、ヒストンの脱メチル化酵素であると考えて検討を行ったところ、JMJD6 が H3R2me2 と H4R3me2 を脱メチル化することを明らかにした。FAD 結合ドメインや Jmj ドメインを持つ他の因子がヒストンの他のアルギニンメチル化

サイトを脱メチル化できるのか、今後の研究の展開が注目される。

3. 非ヒストンタンパク質のアルギニンメチル化の制御機構

細胞外から受け取ったシグナルは、細胞内の様々な因子によって伝達され、最終的に転写因子や転写共役因子の機能を調節することで遺伝子発現を制御する。また、細胞内外のストレスにより生じた DNA 損傷は、速やかに DNA 修復酵素によって修復される。これらの因子は、リン酸化、アセチル化、メチル化などの翻訳後修飾によって厳密に制御されている。本稿では非ヒストンタンパク質のうち転写因子、転写共役因子、DNA 修復酵素に焦点を当て、アルギニンメチル化と細胞内機能の制御機構について論ずる。

[1] インターフェロンシグナルとアルギニンメチル化

PRMT1 はインターフェロンレセプター (IFNAR) と相互作用する因子として酵母ツーハイブリッドスクリーニングによって同定された経緯があり⁶¹⁾、インターフェロン (IFN) シグナルとアルギニンメチル化の関係はかねてから注目されていた。Mowen らは PRMT1 が IFN シグナルを受容する STAT1 をメチル化することを発見した⁶²⁾。Mowen らは、PRMT1 依存的な STAT1 のメチル化は STAT1 の DNA 結合能を阻害する PIAS1 との相互作用を減弱させ、IFN 依存的な STAT1 の標的遺伝子の転写活性化に重要であるとした。また、STAT6 もアルギニンメチル化 (酵素は不明) され、その機能が正に制御されていること⁶³⁾、ヘルパー T 細胞における IFN γ やインターロイキン 4 (IL-4) の産生においては、転写コファクター NIP45 の PRMT1 依存的なメチル化が重要であるという報告もなされた⁶⁴⁾。しかしながら、STAT1 のメチル化に関しては、その再現性に疑問を呈する報告がいくつかなされている^{65,66)}。付け加えて、Weber らは STAT1 の機能阻害に関わる PIAS1 が PRMT1 によってメチル化され、それが PIAS1 による STAT1 依存的な標的遺伝子の発現の抑制に重要であると報告した⁶⁷⁾。このようにインターフェロンシグナルとアルギニンメチル化による制御機構については現在混沌としており、今後更なる詳細な研究が望まれる。

[2] TGF- β シグナルとアルギニンメチル化

トランスフォーミング増殖因子- β (TGF- β) は多くの細胞の増殖を抑制するサイトカインであり、その受容体を介して転写因子 Smad により核内へシグナルが伝達される。稲光らは、抑制型 Smad である Smad6 が PRMT1 によってメチル化されることを見出した⁶⁸⁾。*in vitro* におけるメチル化反応の結果 Smad6 がメチル化されること、変異体や質量分析法を用いた解析から、R74 が Smad6 の重要なメチル化サイトであることが判明した。しかしながら、

Smad6 R74A 変異体は転写活性や既知の相互作用因子との結合には影響しなかったことから、Smad6 のアルギニンメチル化の機能については更なる解析が待たれるところである。一方、田畑らは転写抑制因子 Ski の複合体を精製した結果、Smad2/3/4 や、転写抑制にかかわる N-CoR、HDAC3 や PRMT5 といった因子と相互作用していることを見出した⁶⁹⁾。Ski 複合体は試験管内でヒストン脱アセチル化活性及び H3 メチル化活性を有し、Smad2/3/4 の標的遺伝子である *Smad7* の TGF- β 非存在下における発現抑制に寄与していた。以上の報告より PRMT によるアルギニンメチル化は TGF- β シグナルに関与していることが示唆され、今後更なる解析が期待される。

[3] 血球細胞の分化とアルギニンメチル化

骨髄における造血幹細胞から血球細胞への正常な分化は、転写因子が重要な役割を果たしている。FOXO (Forkhead box O) ファミリーはインスリンシグナルの最下流に存在する転写因子であり、アポトーシスや細胞周期制御、糖代謝や酸化ストレス除去酵素など、様々な標的遺伝子を制御している^{70,71)}。Bakker らは FOXO3a が赤血球分化誘導に重要な役割を果たすことを明らかにした⁷²⁾。FOXO3a は PRMT1 の酵素活性を増強する BTG1 の発現を誘導し、分化に従い細胞内タンパク質のアルギニンメチル化を上昇させた。メチル化阻害剤の添加により血球分化が阻害されたことから、細胞内のアルギニンメチル化活性の上昇が血球分化に重要な役割を果たしていることが示唆された。一方、Zhao らは二次造血の進展に不可欠の因子である RUNX1 (runt-related transcription factor 1) が PRMT1 によってアルギニンメチル化を受けることを報告した⁷³⁾。PRMT1 は RUNX1 と細胞内で相互作用し、転写抑制因子 SIN3A との相互作用に重要な領域に存在する R206 と R210 をメチル化した。RUNX1 のメチル化は SIN3A との相互作用を抑制し、RUNX1 の標的遺伝子である *CD41* や *PU-1* の発現上昇やそれに続く *CD34*⁺ の血球細胞の分化に重要な役割を果たしていることが明らかになった。このようにアルギニンメチル化が血球細胞の分化に重要な役割を果たしていることが明らかとなり、今後他の細胞の分化においてもアルギニンメチル化が関与しうるか注目される。

[4] 核内受容体とアルギニンメチル化

核内受容体型転写因子は脂溶性ホルモンを直接受容し、標的遺伝子の発現を制御するが、近年、翻訳後修飾によってもその機能が厳密に制御されることが明らかにされつつある。Barrero らは PRMT1 が HNF4 (hepatocyte nuclear factor 4) の DNA 結合領域に存在する R91 をメチル化することを見出した⁷⁴⁾。PRMT1 による HNF4 のメチル化は標的 DNA 配列への結合を増強し、ヒストン H4R3 のメチル化を促進することで標的遺伝子の転写を活性化することが明らかとなった。一方、Le Romancer らはエストロジェンを

受容するエストロゲンレセプター (ER) が PRMT1 によってメチル化されることを報告した⁷⁵⁾。PRMT1 はエストロゲン依存的に DNA 結合領域の R260 をモノメチル化する。興味深いことに ER のメチル化はエストロゲン依存的に細胞質で起こり、チロシンキナーゼである Src、及びホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ (PI3K) の p85 サブユニットと複合体を形成することで Akt を活性化することが明らかとなった。また、メチル化されない ER の変異体や siRNA による PRMT1 のノックダウン時ではエストロゲンによる Akt の活性化が見られなかった。以上の報告より、アルギニンメチル化は核内受容体による標的遺伝子の制御のみならず、核内受容体によるシグナル伝達制御の場においても重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

[5] 転写共役因子とアルギニンメチル化

転写共役因子は転写因子と結合することでその活性を制御する因子であり、転写の活性化に寄与するコアクチベーターと転写の抑制に寄与するコリプレッサーに分類される。Teyssier らは GAR ドメインを持つコアクチベーター PGC-1 α が PRMT1 によってアルギニンメチル化され、ER 依存的な転写の活性化に必須であることを明らかにした⁷⁶⁾。筆者らのグループは、転写共役因子 CBP と協調して HNF4 の転写活性を上昇させる EWS (Ewing sarcoma) が PRMT1 と相互作用することを見出した⁷⁷⁾。PRMT1 は EWS の GAR ドメインをメチル化し、その局在を核から細胞質に変化させることでその機能を抑制した⁷⁸⁾。Xu ら、及び Chevillard-Briet らはそれぞれ独立に、転写共役因子 CBP/p300 が CARM1 によってアルギニンメチル化され、それが転写制御に重要な役割を果たすことを報告した^{79,80)}。特に Xu らは、CARM1 による p300 のメチル化は核内受容体アンドロゲンレセプター (AR) 依存的な転写を正に制御するのに対し、CREB (cAMP response element-binding protein) 依存的な転写は負に制御することを明らかにし、アルギニンメチル化が転写共役因子による転写制御のスイッチになるとして話題を呼んだ⁸¹⁾。一方、Mostaqul Huq らは、コリプレッサーである RIP140 (receptor interacting protein 140) が PRMT1 によってメチル化され、RIP140 と HDAC との相互作用の減弱とそれに続く核から細胞質への局在変化によって、そのリプレッサーとしての機能を抑制できることを明らかにした⁸²⁾。このように、PRMT は転写共役因子をメチル化することで遺伝子発現制御の調節を行っていると考えられている。

[6] DNA 損傷応答とアルギニンメチル化

DNA は様々なストレスにより損傷を受けており、細胞はそれを様々な形で修復する仕組みが備わっている。Boisvert らはアルギニンメチル化を認識する抗体を用いてメチル化されるタンパク質を網羅的に探索した。その結

果、相同組換え修復と非同末端結合修復反応の両方に関与する DNA 修復酵素である MRE11 がメチル化されることを見出し¹⁵⁾、PRMT1 による MRE11 のメチル化がその修復活性に重要な役割を果たすことを示した⁸³⁾。El-Andaloussi らは塩基除去修復に関わる DNA ポリメラーゼ β が PRMT6、及び PRMT1 によってアルギニンメチル化されることを示し、それが塩基除去修復を正に制御することを明らかにした^{84,85)}。

p53 は DNA 障害ストレスに応答し、DNA 修復や細胞周期停止、アポトーシス関連遺伝子の遺伝子発現を制御する転写因子である。p53 は DNA 傷害に応答して様々な翻訳後修飾を受けることで、その機能が厳密に制御されている⁸⁶⁾。Jansson らは、PRMT5 が p53 のコファクターの一つである Strap と相互作用し、その複合体内で p53 をアルギニンメチル化することを明らかにした⁸⁷⁾。PRMT5 を RNA 干渉法で減少させた細胞は p53 のアポトーシス関連の標的遺伝子がやや上昇し UV 依存的なアポトーシスが亢進することから、PRMT5 による p53 のメチル化は p53 のアポトーシス誘導能を抑制していると考えられる。興味深いことに、PRMT5 による p53 のメチル化は標的遺伝子の一つである p21 の発現を上昇させ、p53 による細胞周期停止能を活性化した。すなわち、PRMT5 による p53 のメチル化は p53 のアポトーシス誘導と細胞周期停止という二つの機能をスイッチさせる役割があるようである。他方、内在性の p53 の質量分析により PRMT5 によるメチル化サイトとは別のアルギニンがモノメチル化されることが報告されており⁸⁸⁾、そのメチル化酵素の同定と p53 に与える影響についての詳細な解析が待たれる。

[7] インスリンシグナル・酸化ストレス応答とアルギニンメチル化

FOXO はインスリンシグナルや酸化ストレスに応答して様々な翻訳後修飾を受け、その機能が厳密に制御されている。特に Akt によるリン酸化は、FOXO の核外移行やそれに引き続くタンパク質分解を引き起こす、機能抑制に必須の修飾である。筆者らはこれまで、リン酸化・アセチル化・ユビキチン化修飾によって FOXO1 の機能が調節されていることを報告してきたが^{89~92)}、ごく最近、FOXO ファミリーが PRMT1 によってアルギニンメチル化を受けることを見出した⁹³⁾。PRMT ファミリーによる FOXO1 のメチル化を検討した結果、PRMT1 は FOXO1 を *in vitro*、及び *in vivo* でメチル化した。続いてメチル化されるアルギニンを同定した結果、興味深いことに Akt のリン酸化コンセンサス (R-X-R-X-X-S/T) 中のアルギニン残基が主要なメチル化サイトであることを確認した (図 4)。この Akt リン酸化コンセンサス中のアルギニンメチル化は、Akt 依存的なリン酸化を遮断し、FOXO1 の転写活性を上昇させた。このメチル化は酸化ストレスによって増強し、FOXO1 依

存的なアポトーシス誘導に重要な役割を果たした。以上の結果から、筆者らは PRMT1 による FOXO1 のアルギニンメチル化は、インスリンシグナルに応答した Akt による FOXO1 のリン酸化を遮断し、酸化ストレスによるアポトーシスを実行させる役割を持つことを明らかにした (図 4)。

4. 今後の展望

[1] ヒストンの特定のアルギニンメチル化を認識するドメイン・タンパク質は存在するのか？

PRMT1 は H4R3 の非対称性ジメチル化酵素であり遺伝子座の活性化に寄与しているのに対し、PRMT5 は H4R3 の対称性ジメチル化酵素であり遺伝子座の転写の抑制に寄与している。このことから H4R3 ジメチル化の対称性と非対称性は、ヒストンに刻印されたコードとして遺伝子発現の場において異なる機能を発揮していると考えられている。しかし、ヒストンテールの同一のアルギニン残基における化学的に見て非常に小さな修飾の違い (図 1, 3) が、どのように遺伝子発現の変化に結び付くのだろうか？ 現在までのところ、H3K4 のメチル基を認識する CHD1 や WDR5、H3K9 のメチル基を認識する HP1 のように (詳細は文献⁹⁴⁾を参照のこと)、DNMT3A が H4R3me2s を認識して結合すると報告されている⁴⁵⁾。また、ヒストンのアセチル化を認識する Bromo ドメイン、ヒストンのリジンメチル化を認識する Chromo ドメインや PHD ドメインのように、Tudor ドメインはメチルアルギニンを認識し、結合することが知られている^{94,95)}。DNMT3A は ADD ドメインを介して H4R3me2s を認識することから、ヒストンの対称性・非対称性アルギニンメチル化を区別・認識してクロマチンの状態を変化させるタンパク質及び特異的なドメインの解明について、今後の更なる研究の進展が期待される。

[2] アルギニンを脱メチル化する他の酵素は存在するのか？

LSD1 や JHDM1 の発見により、ヒストンのリジンの脱メチル化についての研究が飛躍的に進んできているが、ヒストンのアルギニン脱メチル化酵素は現在までのところ JMJD6 しか知られていない。おそらく、FAD 結合ドメインや Jmj ドメインを持つタンパク質がヒストンの他のアルギニンメチル化サイトを脱メチル化すると期待される。ヒストンに限らず、細胞内では多数のタンパク質がメチル化されている^{15,96)}が、これらのタンパク質は脱メチル化されるのか、非常に興味深い問題である。

[3] Akt の基質は PRMT によるアルギニンメチル化の制御を受けるのか？

筆者らは FOXO ファミリーの Akt リン酸化コンセンサス中のアルギニン残基がメチル化され Akt 依存的なリン酸化を遮断することを見出した。Akt は広範な標的タンパク

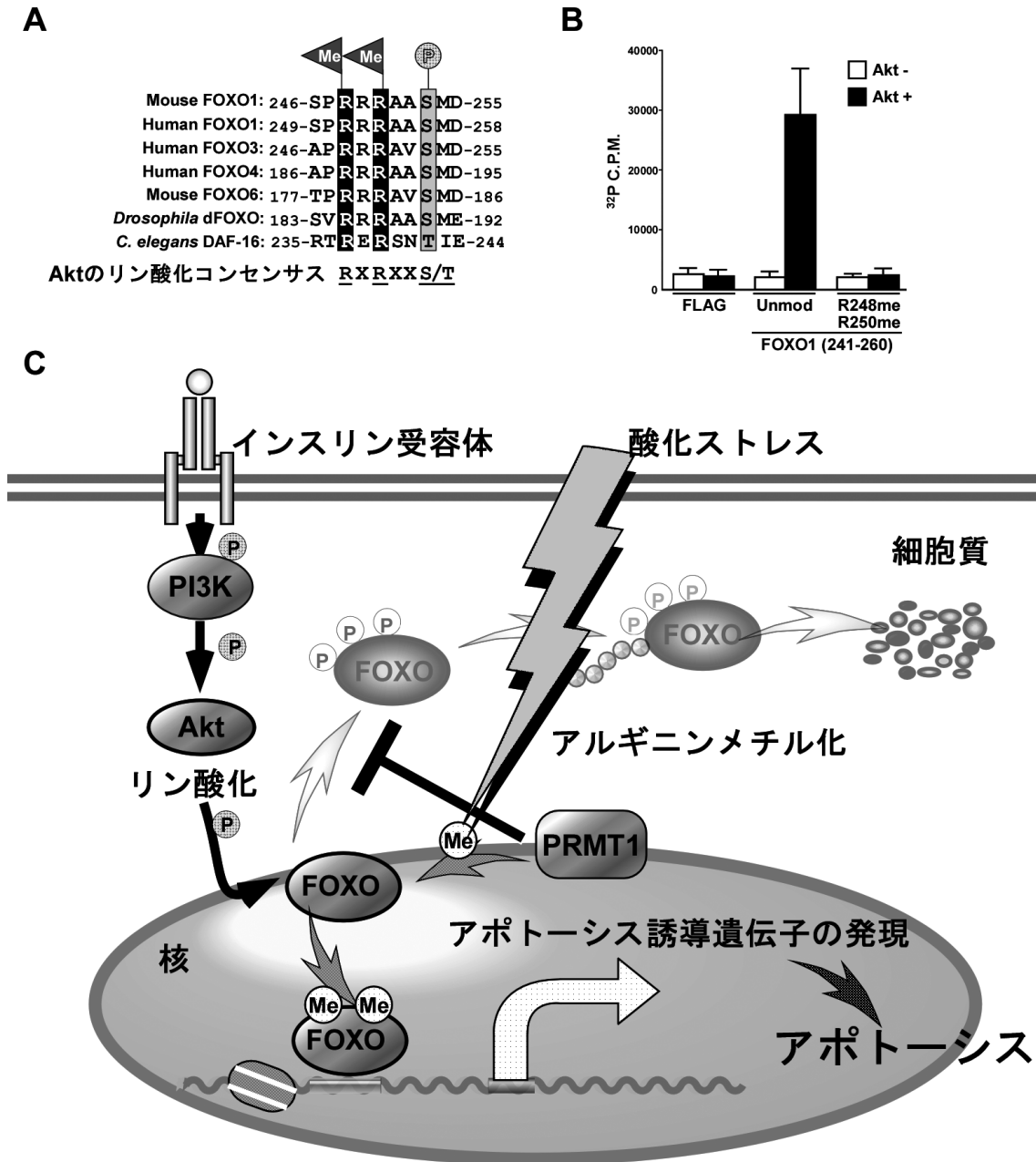


図4 アルギニンメチル化による FOXO の制御機構

A. PRMT1 によってアルギニンメチル化を受ける FOXO の配列は種を超えて高度に保存されている。B. 予めメチル化させたペプチドでは Akt によるリン酸化が完全に阻害される。C. アルギニンメチル化による FOXO の制御機構の模式図。

質をリン酸化し、多岐にわたる生命現象を制御している⁹⁷⁾。Akt の標的タンパク質は多くの場合リン酸化コンセンサス「R-X-R-X-S/T」が存在していることから、FOXO 以外の Akt の標的タンパク質もアルギニンメチル化を受け、Akt によるリン酸化制御に影響を与える可能性がある(図5)。事実、筆者らは *in vitro* において PGC-1 α のアルギニンメチル化が Akt 依存的なリン酸化を阻害することを確認しており⁹³⁾、Akt 基質全般にアルギニンメチル化による制御機構が存在する可能性が考えられる。

[4] PRMT 活性の制御機構は？

他のヒストン修飾酵素のようにアルギニンメチル化酵素は酵素単体よりも複合体を形成した方がより強い活性を持つ場合が報告されているが、アルギニンメチル化酵素そのものの活性制御についての知見はまだ乏しいのが現状である。しかしながら、「3. 非ヒストンタンパク質のアルギニンメチル化の最前線」でも紹介したとおり、アルギニンメチル化は IFN シグナル、TGF シグナル、インスリンシグナル、DNA 損傷応答や酸化ストレス応答など、多

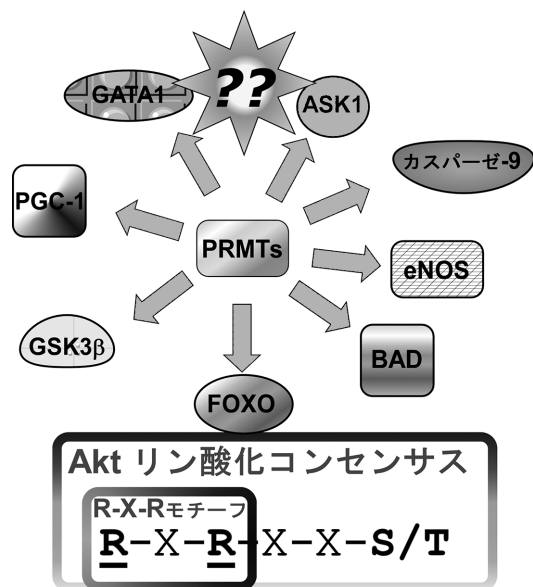


図5 Akt 基質のアルギニンメチル化仮説

筆者らはFOXOのAktリン酸化コンセンサスに含まれるアルギニンがメチル化されることを示した⁹³⁾。このコンセンサスは他のAkt基質にも高度に保存されていることから、Akt基質はアルギニンメチル化によって制御を受けている可能性がある。

岐にわたるシグナル経路の影響を受けていると考えられる。特にLe Romanceらがエストロジェンシグナル⁷⁵⁾、筆者らが酸化ストレス依存的に基質のアルギニンメチル化の上昇を観察していることから⁹³⁾、これらのシグナルにตอบสนองしてPRMTの酵素活性が制御されている可能性は十分考えられる。

[5] 遊離型の非対称性ジメチルアルギニン (ADMA) はどこから、どのようにに産生されるのか？

今回紙面の都合上紹介できなかったが、メチル化タンパク質の分解の結果生じると考えられている遊離型の非対称性ジメチルアルギニン (ADMA) は内因性のeNOS (endothelial nitric oxide synthase) の阻害剤となり得ることが知られている (詳細は上田らの総説⁹⁸⁾を参照のこと)。しかしながら、ADMAがいったいつ、どこで、どのようにして産生されるのか、未だ詳細が明らかにされていない。血中ADMA量と心不全などの心疾患の増悪化は密接に関連しているため⁹⁸⁾、ADMA産生の制御機構の解明は新たな創薬のターゲットの可能性を秘めている。

このようにリジンメチル化と比較し、アルギニンメチル化研究はまだ解析が進んでいないのが現状である。しかしながら、アルギニンメチル化研究は基礎から臨床へと直結する知見が得られる可能性を秘めたフロンティア領域であると筆者は考えている。本稿でアルギニンメチル化研究に興味を持って頂き、皆様の研究の一助になれば望外の喜びである。

補足説明

本稿の校訂中に、桐野らがショウジョウバエのdPRMT5がpiwi-interacting RNAs (piRNAs) 結合タンパク質として知られるAgo3とAubをメチル化し、それらのタンパク質の安定性及び機能発揮に不可欠であることを報告した⁹⁹⁾。この発見は、small RNAの制御機構にもアルギニンメチル化が寄与していることを示すものであり、今後の更なる研究の進展が期待される。

謝辞

本総説で紹介致しました我々の研究成果⁹³⁾は、加香孝一郎先生、高橋悠太君の御助言・御助力と、共同研究者の久武幸司先生 (筑波大学)、向井秀仁先生 (京都薬科大学)、並木香奈先生、粕谷善俊先生 (千葉大学) の御尽力によって、初めて成し得ることができました。また本研究及び本稿は、日本学術振興会、内藤記念科学振興財団、井上科学振興財団、上原記念生命科学財団から多大な御支援を頂きました。この場を借りまして、心より御礼申し上げます。

文 献

- 1) Paik, W.K., Paik, D.C., & Kim, S. (2007) *Trends Biochem. Sci.*, **32**, 146–152.
- 2) Gary, J.D., Lin, W.J., Yang, M.C., Herschman, H.R., & Clarke, S. (1996) *J. Biol. Chem.*, **271**, 12585–12594.
- 3) Lin, W.J., Gary, J.D., Yang, M.C., Clarke, S., & Herschman, H.R. (1996) *J. Biol. Chem.*, **271**, 15034–15044.
- 4) Zhang, X. & Cheng, X. (2003) *Structure*, **11**, 509–520.
- 5) Miranda, T.B., Miranda, M., Frankel, A., & Clarke, S. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 22902–22907.
- 6) Lakowski, T.M. & Frankel, A. (2009) *Biochem. J.*, **421**, 253–261.
- 7) Pollack, B.P., Kotenko, S.V., He, W., Izotova, L.S., Barnoski, B.L., & Pestka, S. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 31531–31542.
- 8) Lee, J., Sayegh, J., Daniel, J., Clarke, S., & Bedford, M.T. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 32890–32896.
- 9) Cook, J.R., Lee, J.H., Yang, Z.H., Krause, C.D., Herth, N., Hoffmann, R., & Pestka, S. (2006) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **342**, 472–481.
- 10) Fielenbach, N., Guardavaccaro, D., Neubert, K., Chan, T., Li, D., Feng, Q., Hutter, H., Pagano, M., & Antebi, A. (2007) *Dev. Cell*, **12**, 443–455.
- 11) Najbauer, J., Johnson, B.A., Young, A.L., & Aswad, D.W. (1993) *J. Biol. Chem.*, **268**, 10501–10509.
- 12) Tang, J., Frankel, A., Cook, R.J., Kim, S., Paik, W.K., Williams, K.R., Clarke, S., & Herschman, H.R. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 7723–7730.
- 13) Wada, K., Inoue, K., & Hagiwara, M. (2002) *Biochim. Biophys. Acta*, **1591**, 1–10.
- 14) Wooderchak, W.L., Zang, T., Zhou, Z.S., Acuna, M., Tahara, S.M., & Hevel, J.M. (2008) *Biochemistry (Mosc)*, **47**, 9456–9466.
- 15) Boisvert, F.M., Cote, J., Boulanger, M.C., & Richard, S. (2003) *Mol. Cell Proteomics*, **2**, 1319–1330.
- 16) Chen, H., Xue, Y., Huang, N., Yao, X., & Sun, Z. (2006) *Nu-*

- cleic Acids Res.*, **34**, W249-253.
- 17) Weiss, V.H., McBride, A.E., Soriano, M.A., Filman, D.J., Silver, P.A., & Hogle, J.M. (2000) *Nat. Struct. Biol.*, **7**, 1165-1171.
 - 18) Robin-Lespinasse, Y., Sentis, S., Kolytcheff, C., Rostan, M.C., Corbo, L., & Le Romancer, M. (2007) *J. Cell Sci.*, **120**, 638-647.
 - 19) Xu, W., Cho, H., Kadam, S., Banayo, E.M., Anderson, S., Yates, J.R., 3rd, Emerson, B.M., & Evans, R.M. (2004) *Genes Dev.*, **18**, 144-156.
 - 20) Higashimoto, K., Kuhn, P., Desai, D., Cheng, X., & Xu, W. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **104**, 12318-12323.
 - 21) Pal, S. & Sif, S. (2007) *J. Cell. Physiol.*, **213**, 306-315.
 - 22) Jelinic, P., Stehle, J.C., & Shaw, P. (2006) *PLoS Biol.*, **4**, e355.
 - 23) Bedford, M.T. & Clarke, S.G. (2009) *Mol. Cell*, **33**, 1-13.
 - 24) Pawlak, M.R., Scherer, C.A., Chen, J., Roshon, M.J., & Ruley, H.E. (2000) *Mol. Cell. Biol.*, **20**, 4859-4869.
 - 25) Yoshimoto, T., Boehm, M., Olive, M., Crook, M.F., San, H., Langenickel, T., & Nabel, E.G. (2006) *Exp. Cell Res.*, **312**, 2040-2053.
 - 26) Ganesh, L., Yoshimoto, T., Moorthy, N.C., Akahata, W., Boehm, M., Nabel, E.G., & Nabel, G.J. (2006) *Mol. Cell. Biol.*, **26**, 3864-3874.
 - 27) Swiercz, R., Cheng, D., Kim, D., & Bedford, M.T. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 16917-16923.
 - 28) Yadav, N., Lee, J., Kim, J., Shen, J., Hu, M.C., Aldaz, C.M., & Bedford, M.T. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **100**, 6464-6468.
 - 29) Kim, J., Lee, J., Yadav, N., Wu, Q., Carter, C., Richard, S., Richie, E., & Bedford, M. T. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 25339-25344.
 - 30) 岩井浩一, 三田 隆編 (1979) クロマチン, 講談社サイエンスフィク.
 - 31) Strahl, B.D. & Allis, C.D. (2000) *Nature*, **403**, 41-45.
 - 32) Kouzarides, T. (2007) *Cell*, **128**, 693-705.
 - 33) 福田 綾, 久武幸司 (2007) 生化学, **79**, 362-365.
 - 34) Chen, D., Ma, H., Hong, H., Koh, S.S., Huang, S.M., Schurter, B.T., Aswad, D.W., & Stallcup, M.R. (1999) *Science*, **284**, 2174-2177.
 - 35) Wang, H., Huang, Z.Q., Xia, L., Feng, Q., Erdjument-Bromage, H., Strahl, B.D., Briggs, S.D., Allis, C.D., Wong, J., Tempst, P., & Zhang, Y. (2001) *Science*, **293**, 853-857.
 - 36) Schurter, B.T., Koh, S.S., Chen, D., Bunick, G.J., Harp, J.M., Hanson, B.L., Henschen-Edman, A., Mackay, D.R., Stallcup, M.R., & Aswad, D.W. (2001) *Biochemistry (Mosc)*, **40**, 5747-5756.
 - 37) Guccione, E., Martinato, F., Finocchiaro, G., Luzi, L., Tizzoni, L., Dall'Olio, V., Zardo, G., Nervi, C., Bernard, L., & Amati, B. (2006) *Nat. Cell Biol.*, **8**, 764-770.
 - 38) Hyllus, D., Stein, C., Schnabel, K., Schiltz, E., Imhof, A., Dou, Y., Hsieh, J., & Bauer, U.M. (2007) *Genes Dev.*, **21**, 3369-3380.
 - 39) Guccione, E., Bassi, C., Casadio, F., Martinato, F., Cesaroni, M., Schuchlautz, H., Luscher, B., & Amati, B. (2007) *Nature*, **449**, 933-937.
 - 40) Iberg, A.N., Espejo, A., Cheng, D., Kim, D., Michaud-Levesque, J., Richard, S., & Bedford, M.T. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 3006-3010.
 - 41) Kirmizis, A., Santos-Rosa, H., Penkett, C.J., Singer, M.A., Vermeulen, M., Mann, M., Bahler, J., Green, R.D., & Kouzarides, T. (2007) *Nature*, **449**, 928-932.
 - 42) Pal, S., Vishwanath, S.N., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., & Sif, S. (2004) *Mol. Cell. Biol.*, **24**, 9630-9645.
 - 43) Hou, Z., Peng, H., Ayyanathan, K., Yan, K.P., Langer, E.M., Longmore, G.D., & Rauscher, F.J., 3rd. (2008) *Mol. Cell. Biol.*, **28**, 3198-3207.
 - 44) Ancelin, K., Lange, U.C., Hajkova, P., Schneider, R., Bannister, A.J., Kouzarides, T., & Surani, M.A. (2006) *Nat. Cell Biol.*, **8**, 623-630.
 - 45) Zhao, Q., Rank, G., Tan, Y.T., Li, H., Moritz, R.L., Simpson, R.J., Cerruti, L., Curtis, D.J., Patel, D.J., Allis, C.D., Cunningham, J.M., & Jane, S.M. (2009) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **16**, 304-311.
 - 46) Lee, J.H., Cook, J.R., Yang, Z.H., Mirochnitchenko, O., Gunderson, S.I., Felix, A.M., Herth, N., Hoffmann, R., & Pestka, S. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 3656-3664.
 - 47) Wallace, J.A. & Felsenfeld, G. (2007) *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **17**, 400-407.
 - 48) Nakashima, K., Hagiwara, T., & Yamada, M. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 49562-49568.
 - 49) Cuthbert, G.L., Daujat, S., Snowden, A.W., Erdjument-Bromage, H., Hagiwara, T., Yamada, M., Schneider, R., Gregory, P.D., Tempst, P., Bannister, A.J., & Kouzarides, T. (2004) *Cell*, **118**, 545-553.
 - 50) Wang, Y., Wysocka, J., Sayegh, J., Lee, Y.H., Perlin, J.R., Leonelli, L., Sonbuchner, L.S., McDonald, C.H., Cook, R.G., Dou, Y., Roeder, R.G., Clarke, S., Stallcup, M.R., Allis, C.D., & Coonrod, S.A. (2004) *Science*, **306**, 279-283.
 - 51) Raijmakers, R., Zendman, A.J., Egberts, W.V., Vossenaar, E. R., Raats, J., Soede-Huijbregts, C., Rutjes, F.P., van Veelen, P. A., Drijfhout, J.W., & Pruijn, G.J. (2007) *J. Mol. Biol.*, **367**, 1118-1129.
 - 52) Shi, Y., Lan, F., Matson, C., Mulligan, P., Whetstone, J.R., Cole, P.A., & Casero, R.A. (2004) *Cell*, **119**, 941-953.
 - 53) Tsukada, Y., Fang, J., Erdjument-Bromage, H., Warren, M.E., Borchers, C.H., Tempst, P., & Zhang, Y. (2006) *Nature*, **439**, 811-816.
 - 54) Klose, R.J. & Zhang, Y. (2007) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **8**, 307-318.
 - 55) Shi, Y. (2007) *Nat. Rev. Genet.*, **8**, 829-833.
 - 56) Lan, F., Nottke, A.C., & Shi, Y. (2008) *Curr. Opin. Cell Biol.*, **20**, 316-325.
 - 57) Chang, B., Chen, Y., Zhao, Y., & Bruick, R.K. (2007) *Science*, **318**, 444-447.
 - 58) Fadok, V.A., Bratton, D.L., Rose, D.M., Pearson, A., Ezekewitz, R.A., & Henson, P.M. (2000) *Nature*, **405**, 85-90.
 - 59) Cui, P., Qin, B., Liu, N., Pan, G., & Pei, D. (2004) *Exp. Cell Res.*, **293**, 154-163.
 - 60) Mitchell, J.E., Cvetanovic, M., Tibrewal, N., Patel, V., Colamonici, O.R., Li, M.O., Flavell, R.A., Levine, J.S., Birge, R. B., & Ucker, D.S. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 5718-5725.
 - 61) Abramovich, C., Jakobson, B., Chebath, J., & Revel, M. (1997) *EMBO J.*, **16**, 260-266.
 - 62) Mowen, K.A., Tang, J., Zhu, W., Schurter, B.T., Shuai, K., Herschman, H.R., & David, M. (2001) *Cell*, **104**, 731-741.
 - 63) Chen, W., Daines, M.O., & Hershey, G.K. (2004) *J. Immunol.*, **172**, 6744-6750.
 - 64) Mowen, K.A., Schurter, B.T., Fathman, J.W., David, M., & Glimcher, L.H. (2004) *Mol. Cell*, **15**, 559-571.
 - 65) Meissner, T., Krause, E., Lodige, I., & Vinkemeier, U. (2004) *Cell*, **119**, 587-589; discussion 589-590.
 - 66) Komyod, W., Bauer, U.M., Heinrich, P.C., Haan, S., & Behrmann, I. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 21700-21705.

- 67) Weber, S., Maass, F., Schuermann, M., Krause, E., Suske, G., & Bauer, U.M. (2009) *Genes Dev.*, **23**, 118–132.
- 68) Inamitsu, M., Itoh, S., Hellman, U., Ten Dijke, P., & Kato, M. (2006) *FEBS Lett.*, **580**, 6603–6611.
- 69) Tabata, T., Kokura, K., Ten Dijke, P., & Ishii, S. (2009) *Genes Cells*, **14**, 17–28.
- 70) 大徳浩照, 深水昭吉 (2005) 生化学, **77**, 423–427.
- 71) Daitoku, H. & Fukamizu, A. (2007) *J. Biochem.*, **141**, 769–774.
- 72) Bakker, W.J., Blazquez-Domingo, M., Kolbus, A., Besooyen, J., Steinlein, P., Beug, H., Coffey, P.J., Lowenberg, B., von Lindern, M., & van Dijk, T.B. (2004) *J. Cell Biol.*, **164**, 175–184.
- 73) Zhao, X., Jankovic, V., Gural, A., Huang, G., Pardanani, A., Menendez, S., Zhang, J., Dunne, R., Xiao, A., Erdjument-Bromage, H., Allis, C.D., Tempst, P., & Nimer, S.D. (2008) *Genes Dev.*, **22**, 640–653.
- 74) Barrero, M.J. & Malik, S. (2006) *Mol. Cell*, **24**, 233–243.
- 75) Le Romancer, M., Treilleux, I., Leconte, N., Robin-Lespinasse, Y., Sentis, S., Boucheioua-Bouzaghrou, K., Goddard, S., Gobert-Gosse, S., & Corbo, L. (2008) *Mol. Cell*, **31**, 212–221.
- 76) Teyssier, C., Ma, H., Emter, R., Kralli, A., & Stallcup, M.R. (2005) *Genes Dev.*, **19**, 1466–1473.
- 77) Araya, N., Hiraga, H., Kako, K., Arao, Y., Kato, S., & Fukamizu, A. (2005) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **329**, 653–660.
- 78) 加香孝一郎, 金 俊達, 新谷奈津美, 深水昭吉 (2007) 実験医学, **25**, 139–146.
- 79) Xu, W., Chen, H., Du, K., Asahara, H., Tini, M., Emerson, B. M., Montminy, M., & Evans, R.M. (2001) *Science*, **294**, 2507–2511.
- 80) Chevillard-Briet, M., Trouche, D., & Vandel, L. (2002) *EMBO J.*, **21**, 5457–5466.
- 81) Nishioka, K. & Reinberg, D. (2001) *Science*, **294**, 2497–2498.
- 82) Mostaqul Huq, M.D., Gupta, P., Tsai, N.P., White, R., Parker, M.G., & Wei, L.N. (2006) *EMBO J.*, **25**, 5094–5104.
- 83) Boisvert, F.M., Dery, U., Masson, J.Y., & Richard, S. (2005) *Genes Dev.*, **19**, 671–676.
- 84) El-Andaloussi, N., Valovka, T., Toueille, M., Hassa, P.O., Gehrig, P., Covic, M., Hubscher, U., & Hottiger, M.O. (2007) *FASEB J.*, **21**, 26–34.
- 85) El-Andaloussi, N., Valovka, T., Toueille, M., Steinacher, R., Focke, F., Gehrig, P., Covic, M., Hassa, P.O., Schar, P., Hubscher, U., & Hottiger, M.O. (2006) *Mol. Cell*, **22**, 51–62.
- 86) Toledo, F. & Wahl, G.M. (2006) *Nat. Rev. Cancer*, **6**, 909–923.
- 87) Jansson, M., Durant, S.T., Cho, E.C., Sheahan, S., Edelmann, M., Kessler, B., & La Thangue, N.B. (2008) *Nat. Cell Biol.*, **10**, 1431–1439.
- 88) Jung, S.Y., Li, Y., Wang, Y., Chen, Y., Zhao, Y., & Qin, J. (2008) *Anal. Chem.*, **80**, 1721–1729.
- 89) Asada, S., Daitoku, H., Matsuzaki, H., Saito, T., Sudo, T., Mukai, H., Iwashita, S., Kako, K., Kishi, T., Kasuya, Y., & Fukamizu, A. (2007) *Cell. Signal.*, **19**, 519–527.
- 90) Matsuzaki, H., Daitoku, H., Hatta, M., Aoyama, H., Yoshimochi, K., & Fukamizu, A. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **102**, 11278–11283.
- 91) Daitoku, H., Hatta, M., Matsuzaki, H., Aratani, S., Ohshima, T., Miyagishi, M., Nakajima, T., & Fukamizu, A. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **101**, 10042–10047.
- 92) Matsuzaki, H., Daitoku, H., Hatta, M., Tanaka, K., & Fukamizu, A. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **100**, 11285–11290.
- 93) Yamagata, K., Daitoku, H., Takahashi, Y., Namiki, K., Hisatake, K., Kako, K., Mukai, H., Kasuya, Y., & Fukamizu, A. (2008) *Mol. Cell*, **32**, 221–231.
- 94) Cote, J. & Richard, S. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 28476–28483.
- 95) Cheng, D., Cote, J., Shaaban, S., & Bedford, M.T. (2007) *Mol. Cell*, **25**, 71–83.
- 96) Bedford, M.T. & Richard, S. (2005) *Mol. Cell*, **18**, 263–272.
- 97) Manning, B.D. & Cantley, L.C. (2007) *Cell*, **129**, 1261–1274.
- 98) Ueda, S., Yamagishi, S., Matsumoto, Y., Fukami, K., & Okuda, S. (2007) *Clin. Exp. Nephrol.*, **11**, 115–121.
- 99) Kirino, Y., Kim, N., de Planell-Saguer, M., Khandros, E., Chioresan, S., Klein, P.S., Rigoutsos, I., Jongens, T.A., & Mourelatos, Z. (2009) *Nat. Cell Biol.*, **11**, 652–658.