

いた iNKT 細胞依存性の糖脂質リガンド療法が期待できる。さらに、今回の解析を通じて得られた iNKT 細胞の糖脂質抗原認識に関する多くの知見が、さらなる糖脂質リガンドの改良・探索に極めて有用な情報を与えることを期待している。

- 1) Mosmann, T.R. & Coffman, R.L. (1989) *Annu. Rev. Immunol.*, **7**, 145-173.
- 2) Kawano, T., Cui, J., Koezuka, Y., Taura, I., Kaneko, Y., Motoki, K., Ueno, H., Nakagawa, R., Sato, H., Kondo, E., Koseki, H., & Taniguchi, M. (1997) *Science*, **278**, 1626-1629.
- 3) Miyake, S. & Yamamura, T. (2005) *Curr. Drug Targets Immune Endocr. Metabol. Disord.*, **5**, 315-322.
- 4) Kronenberg, M. (2005) *Annu. Rev. Immunol.*, **23**, 877-900.
- 5) Tsuji, M. (2006) *Cell. Mol. Life Sci.*, **63**, 1889-1898.
- 6) Mattner, J., Debord, K.L., Ismail, N., Goff, R.D., Cantu, C., 3rd, Zhou, D., Saint-Mezard, P., Wang, V., Gao, Y., Yin, N., Hoebe, K., Schneewind, O., Walker, D., Beutler, B., Teyton, L., Savage, P.B., & Bendelac, A. (2005) *Nature*, **434**, 525-529.
- 7) Zhou, D., Mattner, J., Cantu, C., 3rd, Schrantz, N., Yin, N., Gao, Y., Sagiv, Y., Hudspeth, K., Wu, Y.P., Yamashita, T., Teneberg, S., Wang, D., Proia, R.L., Levery, S.B., Savage, P. B., Teyton, L., & Bendelac, A. (2004) *Science*, **306**, 1786-1789.
- 8) Kinjo, Y., Wu, D., Kim, G., Xing, G.W., Poles, M.A., Ho, D. D., Tsuji, M., Kawahara, K., Wong, C.H., & Kronenberg, M. (2005) *Nature*, **434**, 520-525.
- 9) Kinjo, Y., Tupin, E., Wu, D., Fujio, M., Garcia-Navarro, R., Benhnia, M.R., Zajonc, D.M., Ben-Menachem, G., Ainge, G. D., Painter, G.F., Khurana, A., Hoebe, K., Behar, S.M., Beutler, B., Wilson, I.A., Tsuji, M., Sellati, T.J., Wong, C.H., & Kronenberg, M. (2006) *Nat. Immunol.*, **7**, 978-986.
- 10) Ueno, Y., Tanaka, S., Sumii, M., Miyake, S., Tazuma, S., Taniguchi, M., Yamamura, T., & Chayama, K. (2005) *Inflamm. Bowel Dis.*, **11**, 35-41.
- 11) Chiba, A., Oki, S., Miyamoto, K., Hashimoto, H., Yamamura, T., & Miyake, S. (2004) *Arthritis Rheum.*, **50**, 305-313.
- 12) Miyamoto, K., Miyake, S., & Yamamura, T. (2001) *Nature*, **413**, 531-534.
- 13) Mizuno, M., Masumura, M., Tomi, C., Chiba, A., Oki, S., Yamamura, T., & Miyake, S. (2004) *J. Autoimmun.*, **23**, 293-300.
- 14) Oki, S., Chiba, A., Yamamura, T., & Miyake, S. (2004) *J. Clin. Invest.*, **113**, 1631-1640.
- 15) Sica, A., Tan, T.H., Rice, N., Kretschmar, M., Ghosh, P., & Young, H.A. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **89**, 1740-1744.
- 16) Hilliard, B.A., Mason, N., Xu, L., Sun, J., Lamhamedi-Cherradi, S.E., Liou, H.C., Hunter, C., & Chen, Y.H. (2002) *J. Clin. Invest.*, **110**, 843-850.
- 17) Collins, E.J. & Frelinger, J.A. (1998) *Immunol. Rev.*, **163**, 151-160.
- 18) Oki, S., Tomi, C., Yamamura, T., & Miyake, S. (2005) *Int. Immunol.*, **17**, 1619-1629.

- 19) Brigl, M., Bry, L., Kent, S.C., Gumperz, J.E., & Brenner, M.B. (2003) *Nat. Immunol.*, **4**, 1230-1237.

大木 伸司, 三宅 幸子

(国立精神神経センター神経研究所免疫研究部)

Immunomodulation by modified glycolipid ligand-stimulated invariant natural killer T (iNKT) cells

Shinji Oki and Sachiko Miyake (Department of Immunology, National Institute of Neuroscience, NCNP, 4-1-1, Ogawahigashi, Kodaira, Tokyo 187-8502, Japan)

ヒストンのメチル化と転写調節

クロマチンは DNA とヒストンからなるヌクレオソームを基本単位として構成され、各ヒストンの N 末端は、アセチル化やメチル化、リン酸化、ユビキチン化など多様な翻訳後修飾を受ける。特にヒストンのメチル化は、ヘテロクロマチン形成や遺伝子サイレンシングのみならず遺伝子発現の促進にも関与しており、非常に興味深い修飾である。

ヒストンのメチル化は主にリジン残基に見られ、ヒストン H3 では K4, K9, K27, K36, K79 が、ヒストン H4 では K20 がメチル化される。これらのメチル化は転写活性化に関与するもの (H3K4, K36, K79) と転写抑制に関与するもの (H3K9, K27, H4K20) に分けられるが、転写活性化と抑制の双方に関与するものもある。またリジン残基のみでなくアルギニン残基もメチル化され、核内レセプターなどの転写調節に関与することが知られている。ヒストンのメチル化に関してはこれまでに多くの研究が行われ、それぞれの残基をメチル化する酵素やメチル化された残基に結合する因子が次々に同定されている。最近では LSD1 などのヒストン脱メチル化酵素も発見され、これまで安定な修飾と考えられてきたヒストンのメチル化が可逆的に制御される修飾であることが明らかとなった。本稿では、ヒストンのメチル化と遺伝子の発現調節に関する最近の研究について概説する。

1. ヒストンのメチル化と転写活性化

1) H3K4

テトラヒメナを用いた解析より、転写が活発な大核でヒストン H3 の 4 番目のリジン残基が主にメチル化されていることが報告され、転写活性化と H3K4 のメチル化の関係

が示唆されるとともに、このメチル化がヒト細胞においても保存されていることが示された¹⁾。また酵母の H3K4 メチル化酵素 Set1 欠失変異体で多くの遺伝子の発現が抑制されることより、Set1 によるヒストン H3K4 のメチル化が遺伝子の転写活性化に関与していることが示唆された²⁾。H3K4 メチル化酵素はこれまでに数多く発見されており、哺乳類では MLL (mixed lineage leukemia), SET1, SET7/9, SMYD3 などが同定されている。

メチル化 H3K4 の局在はメチル化の状態によって異なり、ジメチル化型が遺伝子全体で見られるのに対し、トリメチル化型は主に遺伝子の 5' 末端領域に局在する。酵母を用いた解析より Set1 がトリメチル化 H3K4 と関連した局在を示し、セリン 5-リン酸化型の RNA ポリメラーゼ II と結合していることが明らかにされた。また Set1 の呼び込みには RNA ポリメラーゼ II に結合している転写伸長因子 (Paf1, Rtf1 など) が重要であることも報告されている³⁾。

一方、メチル化 H3K4 に結合するタンパク質として SAGA ヒストンアセチル化酵素複合体の構成因子 CHD1 や MLL ヒストンメチル化酵素複合体の構成因子 WDR5 などが同定されている⁴⁾。さらに最近の研究では、PHD (plant homeodomain) フィンガーをもつ BPTF (bromodomain and PHD finger transcription factor) や ING2 (inhibitor of growth) がトリメチル化 K4 に特異的に結合する因子として報告されている^{5,6)}。

さらに近年、H3K4 特異的なヒストン脱メチル化酵素 LSD1 が発見され、アミノキシダーゼ反応によりメチル化 H3K4 を特異的に脱メチル化することが報告された⁷⁾。

2) H3K36

メチル化酵素は、哺乳類では HSPC069/HYBP, NSD1 などが、酵母では Set2 が同定されている。Set2 は主にリン酸化型 RNA ポリメラーゼ II と会合し、転写が活発に行われている遺伝子上に局在して転写の伸長過程などに関与している。最近では、脱メチル化酵素 JHDM1 および JHDM3A/JMJD2A が発見され、それぞれジメチル化 K36 およびトリメチル化 K36 を特異的に脱メチル化することが報告されている。また、Rpd3C(S) ヒストン脱アセチル化酵素複合体が、メチル化された H3K36 に Eaf3 サブユニットを介して結合することが酵母において示されている。

3) H3K79

ヒストン H3 の 79 番目のリジン残基は、ヒストンの末端ではなく球状ドメイン中に位置し、酵母では Dot1 (disruption of telomeric silencing), ヒトでは DOT1L がメチル

化酵素として同定されている。Dot1 および DOT1L は他のヒストンメチル化酵素と異なり、SET ドメインをもたない。H3K79 のメチル化は細胞周期によって変動し、メチル化 H3K79 にはチェックポイントタンパク質 53BP1 が特異的に結合する。さらに最近の報告では、急性骨髄白血病に関与する MLL 融合タンパク質の一つ AF10 が DOT1L と相互作用することが示され、DOT1L による H3K79 メチル化の疾病への関与が示唆されている⁸⁾。

2. ヒストンのメチル化と転写抑制

1) H3K9

ショウジョウバエを用いた斑入り位置効果 (position effect variegation) の解析より、サプレッサーとして Su (var) 3-9 が同定され、後にこれがヒストン H3 の 9 番目のリジン残基 (K9) を特異的にメチル化する酵素であることが明らかになった。斑入り位置効果とは、遺伝子が染色体のどこに位置するかによって発現レベルが変化するという現象であり、Su (var) 3-9 による H3K9 メチル化がヘテロクロマチンの形成や遺伝子サイレンシングに関与していることが示唆された。Su (var) 3-9 は酵母やヒトでも保存されており、酵母では Clr4, ヒトでは SUVH1, SUVH2 が同定されている。哺乳類では他にも G9a や ESET/SETDB1, Eu-HMTase1 などが H3K9 メチル化酵素として同定されている。またメチル化された K9 にはヘテロクロマチンタンパク質 (酵母: Swi6, ヒト: HP1) が結合し、ヘテロクロマチンの形成と維持に重要であることが知られている。

H3K9 のメチル化は、ヘテロクロマチン領域のみならずユークロマチン領域でも見られ、一部の遺伝子の一過的な抑制や転写活性化にも関与していることが示唆されている。一つのリジン残基のメチル化がこのような多様な現象に関与する機構は明らかではないが、メチル化の状態 (モノ-, ジ-, トリ-メチル) やメチル化 K9 に結合する因子の種類 (HP1 α , β , γ など), メチル化の起こる部位 (プロモーターやコード領域) などの違いが関係しているのかもしれない。

さらにヘテロクロマチンの形成には、RNA 干渉に関わる二つのタンパク質複合体 RITS (RNA-induced transcriptional silencing), RDRC (RNA-directed RNA polymerase) が重要な役割を担っていることが酵母において報告されているが^{9,10)}、詳細なメカニズムはまだ不明な点が多い。

また最近の研究により、トリメチル化 K9 に特異的な脱メチル化酵素 JHDM3A/JMJD2A および GASC1 が発見され、K9 のメチル化が可逆的であることが明らかになっ

た¹¹⁾.

2) H3K27

ショウジョウバエの Hox 遺伝子を負に調節するポリコームグループ (PcG) のタンパク質が、ヒストン H3 の 27 番目のリジン残基に特異的なメチル化酵素であることが明らかにされ、PcG タンパク質を介した遺伝子のサイレンシングとヒストンのメチル化の関連が示唆された。H3K27 のメチル化を担う E(Z) は SET ドメインを有し、ESC、SUZ12 などと E(Z) 複合体を形成する。E(Z) 複合体は、ポリコーム応答配列に結合する Pho あるいは PhoL によって標的遺伝子上ヘリクルートされ、ヒストン H3K27 をメチル化し¹²⁾、別のポリコーム複合体 PRC1 を呼び込む。PRC1 複合体は dRING サブユニットによるヒストン H2A のユビキチン化などを経て標的遺伝子の発現を抑制する。一連の PcG タンパク質や H3K27 のメチル化はヒトでも保存されており、Hox 遺伝子をはじめ、さまざまな遺伝子の発現制御に関与している。

また、PcG タンパク質は X 染色体の不活性化にも関与しており、Xist を介した EZH2 (ヒト E(Z) ホモログ) や PRC1 複合体の呼び込み、ヒストン H3K27 のメチル化や H2A のユビキチン化によって X 染色体の遺伝子発現が抑制される。これらのヒストン修飾がどのように遺伝子発現を抑制するのかは不明であるが、最近の報告では EZH2 が

DNA メチルトランスフェラーゼと直接結合し標的遺伝子上ヘリクルートすることも示されており、DNA とヒストンのメチル化が協調し、EZH2 による遺伝子発現の制御に関与していることも考えられる¹³⁾。

3) H4K20

ヒストン H4K20 のメチル化は、H3K9 と同様、ヘテロクロマチンに特徴的なヒストン修飾である。ショウジョウバエにおいて H4K20 メチル化酵素 Su(var)4-20 を欠損させるとヘテロクロマチンの形成が阻害される。Su(var)4-20 は他種生物でもよく保存されており、哺乳類では SUV4-20h1/h2、酵母では Set9 として同定されている。また SET8/PR-SET7、NSD1、Ash1 など H4K20 メチル化酵素として同定されている。SET8/PR-SET7 は H4K20 をモノメチル化し、細胞分裂時のクロマチンの構造変化に重要な役割を担っている。

また最近の研究により、ポリコームタンパク質複合体 PhoRC に含まれる dSfmbt がメチル化 H4K20 に結合することが報告され¹⁴⁾、ポリコームタンパク質を介した遺伝子サイレンシングへの関与が示唆されている。さらに p53 結合タンパク質 53BP1 やその酵母ホモログ Crb2 もメチル化 H4K20 に結合する。

4) H1K26

ヒストン H3K27 をメチル化する EZH2 複体のうち、

表1 これまでに知られている主なヒストンリジンメチル化酵素、脱メチル化酵素、メチルリジン結合タンパク質

ヒストン		H3			H4		
リジン残基		K4	K9	K27	K36	K79	K20
酵母		Set1	Clr4		Set2	Dot1	Set9
メチル化 酵素	哺乳類	MLL SET1 SET7/9 SMYD3	SUVH1 SUVH2 G9a GLP ESET Eu-HMTase	EZH2	NSD1 HYBP	DOT1L	SUV4-20h1 SUV4-20h2 SET8/PR-SET7 NSD1
脱メチル化酵素		LSD1	HDM3A/JMJD2A JHDM2A GASC1		HDM3A/JMJD2A JHDM1		
メチル化リジン 結合タンパク質 (結合ドメイン)		CHD1 (Chromodomain) WDR5 (WD40 repeat) BPTF (PHD domain) ING2 (PHD domain)	HP1α HP1β HP1γ (Chromodomain)	Pc/polycomb (Chromodomain)	Eaf3 (Chromodomain)	53BP1 (Tudor domain)	53BP1 (Tudor domain)

高分子の EED1 を含む複合体がリンカーヒストン H1 の 26 番目のリジン残基をメチル化するという報告がある¹⁵⁾。H1 K26 のメチル化の機能についてはまだ不明な点が多いが、メチル化 H1K26 に HP1 が結合することが明らかにされ、ヘテロクロマチンの形成に関与している可能性が示唆されている。

3. ヒストンのアルギニン残基のメチル化と転写制御

リジン残基に加え、ヒストンのアルギニン残基もメチル化される。これまでに知られている主なメチル化部位は、ヒストン H3 の R2, R8, R17, R26 やヒストン H4 の R3 で、核内レセプターをはじめ様々なアクチベーターによる転写活性化に関与することが報告されている。ヒストンのアルギニンメチル化酵素は PRMT1, PRMT4 (CARM1), PRMT5 などが知られ、脱メチル化酵素として PADI4 が同定されている。

おわりに

以上のように、ヒストンのメチル化にはさまざまな分子が関与し、クロマチンの構造変化や遺伝子発現の制御など多彩な機能がある。しかし、未同定の分子も数多く残されており、一つ一つの現象を分子レベルで解明するためにはさらなる研究が必要である。ヒストンのメチル化は、ゲノムインプリンティングや X 染色体の不活化のみならずがんなどの疾病との関連も示唆されており、クロマチンの修飾を介した遺伝子の発現制御機構を解明することはさまざまな生物現象を理解するうえで非常に重要であると思われる。

- 1) Strahl B.D., Ohba, R., Cook, R.G., & Allis, C.D. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 14967–14972.
- 2) Santos-Rosa, H., Schneider, R., Bannister, A.J., Sherriff, J., Bernstein, B.E., Emre, N.C.T., Schreiber, S.L., Mellor J., & Kouzarides, T. (2002) *Nature*, **419**, 407–411.
- 3) Ng, H.H., Robert, F., Young, R.A., & Struhl, K. (2003) *Mol. Cell*, **11**, 709–719.
- 4) Sims, R.J. 3rd, Chen, C.-F., Santos-Rosa, H., Kouzarides, T., Patel, S.S., & Reinberg, D. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 41789–41792.
- 5) Wysocka, J., Swigut, T., Xiao, H., Milne, T.A., Kwon S.Y., Landry, J., Kauer, M., Tackett, A.J., Chait, B.T., Badenhorst, P., Wu, C., & Allis, C.D. (2006) *Nature*, **442**, 86–90.
- 6) Pena, P.V., Davrazou, F., Shi, X., Walter, K.L., Verkhusha, V. V., Gozani, O., Zhao, R., & Kutateladze, T.G. (2006) *Nature*, **100**–103.
- 7) Shi, Y., Lan, F., Matson, C., Mulligan, P., Whetstone, J.R., Cole, P.A., Casero, R.A., & Shi, Y. (2004) *Cell*, **119**, 941–

- 953.
- 8) Okada, Y., Feng, Q., Lin, Y., Jiang, Q., Li, Y., Coffield, V.M., Su, L., Xu, G., & Zhang, Y. (2005) *Cell*, **121**, 167–178.
- 9) Volpe, T.A., Kidner, C., Hall, I.M., Teng, G., Grewal, S.I.S., & Martienssen, R.A. (2002) *Science*, **297**, 1833–1837.
- 10) Hall, I.M., Shankaranarayana, G.D., Noma, K., Ayoub, N., Cohen, A., & Grewal, S.I.S. (2002) *Science*, **297**, 2232–2237.
- 11) Cloos, P.A., Christensen, J., Agger, K., Maiolica, A., Rappsilber, J., Antal, T., Hansen, K.H., & Helin, K. (2006) *Nature*, **442**, 307–311.
- 12) Wang, L., Brown, J.L., Cao, R., Zhang, Y., Kassiss, J.A., & Jones, R.S. (2004) *Mol. Cell*, **14**, 637–646.
- 13) Vire, E., Brenner, C., Deplus, R., Blanchon, L., Fraga, M., Didelot, C., Morey, L., Van Eynde, A., Bernard, D., Vanderwinden, J.M., Bollen, M., Esteller, M., Di Croce, L., de Launoit, Y., & Fuks, F. (2006) *Nature*, **439**, 871–874.
- 14) Klymenko, T., Papp, B., Fischle, W., Kocher, T., Schelder, M., Fritsch, C., Wild, B., Wilm, M., & Muller, J. (2006) *Genes & Dev.*, **20**, 1110–1122.
- 15) Kuzmichev, A., Jenuwein, T., Tempst, P., Reinberg, D. (2004) *Mol. Cell*, **14**, 183–193.

福田 綾, 久武 幸司

(筑波大学大学院人間総合科学研究科)

Histone methylation and transcriptional regulation

Aya Fukuda and Koji Hisatake (Graduate School of Comprehensive Human Sciences, University of Tsukuba, 1-1-1 Ten-noudai, Tsukuba, Ibaraki 305-8575, Japan)

ペプチド-GalNAc 転移酵素の立体構造： レクチンドメインと糖転移活性ドメイン

1. はじめに

糖鎖修飾は約 50% ものタンパク質になされ¹⁾、その構造と機能は多様である。糖タンパク質は糖鎖修飾によってアミノ酸配列が同じでも機能や局在が異なる多くのバリエーションを得ている。糖鎖そのものの構造解析や機能の研究と並んで、機能的糖鎖がどのように合成されるか、換言すればどのように遺伝情報としてコードされ翻訳されているかを解明することは、ポストゲノム時代の大きな課題の一つである。

糖鎖の伸張反応は糖転移酵素によって触媒される。現在 200 近くのヒト由来酵素がクローニングされ、活性が同定されている。大部分の糖転移酵素は糖ヌクレオチドを糖供与体基質とし、単糖を受容体基質へ転移する。糖転移酵素の基質特異性は厳密で、どの供与体からどの受容体へ、ど