

平成24年度科学研究費助成事業（特別推進研究）自己評価書 〔追跡評価用〕

◆記入に当たっては、「平成24年度科学研究費助成事業（特別推進研究）自己評価書等記入要領」を参照してください。

平成24年 4月 27日現在

研究代表者氏名	石井 俊輔	所属研究機関・部局・職	理化学研究所・石井分子遺伝学研究室・主任研究員
研究課題名	転写メディエーターによる転写制御と生理的意義の研究		
課題番号	14002011		
研究組織 (研究期間終了時)	研究代表者 石井 俊輔（理化学研究所・石井分子遺伝学研究室・主任研究員） 研究分担者 島田 信量（理化学研究所・石井分子遺伝学研究室・基礎科学特別研究員） 石田尾 武文（理化学研究所・石井分子遺伝学研究室・協力研究員）		

【補助金交付額】

年度	直接経費
平成14年度	93,000 千円
平成15年度	85,000 千円
平成16年度	93,000 千円
平成17年度	93,000 千円
平成18年度	93,000 千円
総計	457,000 千円

1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか

特別推進研究によってなされた研究が、どのように発展しているか、次の(1)～(4)の項目ごとに具体的かつ明確に記述してください。

(1) 研究の概要

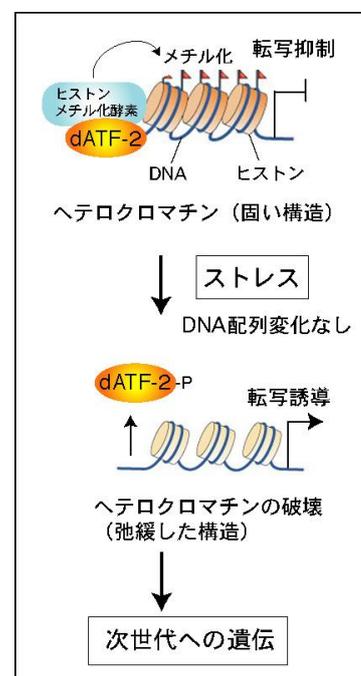
(研究期間終了後における研究の実施状況及び研究の発展過程がわかるような具体的内容を記述してください。)

当該研究期間に遂行した主な研究は、1) 転写因子 ATF-2 や Myb などと転写仲介因子との相互作用の役割、2) 転写仲介因子 CBP や Ski/Sno の生理機能、3) ヒストン修飾の役割、等である。これらの研究において、研究代表者らはヒストンの化学修飾の重要性を強く認識した。そこで、当該研究終了後には、ヒストンの化学修飾とエピジェネティック制御の重要性に注目し、「ストレスによるエピジェネティック変化の遺伝」「胚細胞ヒストンによるリプログラミング機構」に関する研究を展開している。以下にこれらの研究について記載する。

1. ストレスによるエピジェネティック変化の遺伝

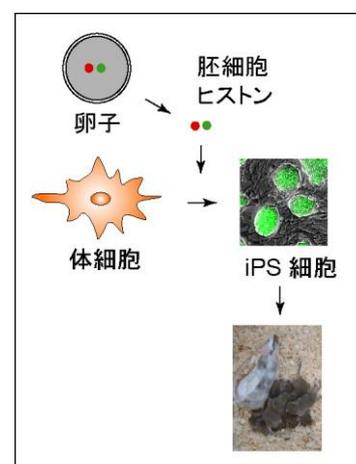
ATF-2 は私達が最初に見出した転写因子で、当該研究期間において、その標的遺伝子や仲介因子について研究を進めた。ATF-2 は様々なストレスに呼応して、ストレス応答性キナーゼ p38 でリン酸化され、活性化される。ATF-2 はヒストンメチル化酵素と結合し、標的遺伝子をヘテロクロマチン化して発現を抑制すること、そして様々なストレスにより、この固いクロマチン構造が壊れ、発現が誘導されること、さらにこの状態が次世代に遺伝することが分かってきた (右図、Cell 2011)。この成果は、親の受けた様々なストレスの影響が、DNA 配列の変化なしに子供に遺伝する可能性を示唆している。

生物は常に温度や紫外線などの環境ストレス、飢餓や感染などの生理的ストレス、そして心理的・社会的ストレスなどの多様なストレスにさらされている。ストレスは多様な遺伝子の発現に影響するが、DNA 変異を誘導しないストレスによって引き起こされる遺伝子発現変化が、子供に遺伝するかどうかは、研究者の間で議論されてきたが、まだ一般的には受け入れられていなかった。この最大の理由はメカニズムが明らかにされていなかったためである。上記の成果は、このメカニズムを明らかにしたものとして、注目されている。そしてこの成果は、胎児期や乳幼児期の栄養状態が生活習慣病の発症頻度に影響するという「胎児プログラミング仮説」の検証や、ある種の精神疾患の遺伝の可能性を明らかにすることにも繋がるものとして注目されている。



2. 胚細胞ヒストンによるリプログラミング機構

当該研究において、私達はヒストンの化学修飾の重要性を強く認識し、化学修飾が大きく異なるヒストンバリエーションに注目した。その中でも特に、卵子に多量に存在するヒストンバリエーション (胚細胞ヒストン) について研究し、胚細胞ヒストンがリプログラミング活性を有し、iPS 細胞の産生を強く促進することを見出した (右図)。体細胞核の卵子への移植によりクローン生物が作製できることから、卵子には特異的なリプログラミング因子の存在が示唆されていたが、その実体は長らく不明であった。この研究は、卵子特異的なリプログラミング因子を解明するものとして注目されている。また、この研究により、核移植によるリプログラミングを手本にした、新たな iPS 細胞作製法の開発に繋がるものとして期待されている。



1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか（続き）

(2) 論文発表、国際会議等への招待講演における発表など（研究の発展過程でなされた研究成果の発表状況を記述してください。）

論文発表

当該研究終了後（2007～現在）、英文原著論文 27 報、英文総説論文 2 報、和文総説論文 10 報を発表した。代表的な論文を以下に記載する。

Staton et al: Dampening of death pathways by Schnurri-2 is essential for T cell development. *Nature* 472, 105-109 (2011).

Seong et al.: Inheritance of stress-induced, ATF-2-dependent epigenetic change. *Cell* 145, 1049-1061 (2011).

Yamauchi et al.: A B-Myb complex containing clathrin and filamin is required for mitotic spindle function. *EMBO J.* 27, 1852-1862 (2008).

Maekawa et al.: Social isolation stress induces ATF-7 phosphorylation and impairs silencing of the 5-HT 5B receptor gene. *EMBO J.* 29, 196-208 (2010).

Jones et al.: Uncoupling of growth plate maturation and bone formation in mice lacking both Schnurri-2 and Schnurri-3. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 107, 8254-8258 (2010).

Maekawa et al.: Reduced levels of ATF-2 predispose mice to mammary tumors. *Mol. Cell. Biol.* 27, 1730-1744 (2007).

Shimizu et al.: *Drosophila* ATF-2 regulates sleep and locomotor activity in pacemaker neurons. *Mol. Cell. Biol.* 28, 6278-6289 (2008).

Maekawa et al.: The role of ATF-2 family transcription factors in adipocyte differentiation: anti-obesity effects of p38 inhibitors. *Mol. Cell. Biol.* 30, 613-625 (2010).

「胚細胞ヒストンによるリプログラミング機構」に関する研究については、プロジェクトの性質上、特許申請を優先しており、現在ようやくいくつかの論文が投稿中である。

国際会議等への招待講演

代表的なものを以下に記載する。

Shunsuke Ishii: A B-Myb complex containing clathrin and filamin is required for mitotic spindle function.

The 3rd International Workshop on Cell Regulation in Division and Arrest Under Stress

Okinawa, Japan, April (2008)

Shunsuke Ishii: Regulation of cell cycle by Myb family transcription factors

The 21st Naito Conference on Nuclear Dynamics and RNA [I]

Yamanashi, Japan, June (2008)

Shunsuke Ishii: Epigenetic regulation by ATF-2 family of transcription factors in response to various stresses

The 4th International Workshop on Cell Regulation in Division and Arrest

Okinawa, Japan, December (2009)

Shunsuke Ishii: Role of ATF-2 in epigenetic regulation

The 24th Naito Conference on Nuclear Dynamics and RNA [II]

Sapporo, Japan, June (2009)

Shunsuke Ishii: 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, Japan, May (2010)

1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか（続き）**(3) 研究費の取得状況（研究代表者として取得したもののみ）**

平成 20～25 年（2008～2013）

科学技術振興機構・戦略的創造研究推進事業・CREST 研究

「胚細胞ヒストンによるリプログラミング機構」（代表）

総額：28,635 万円

平成 22～26 年（2010～2014）

文部科学省研究補助金・新学術領域研究

「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」（代表）

総額：9,990 万円

(4) 特別推進研究の研究成果を背景に生み出された新たな発見・知見**1. 具体的な疾患原因遺伝子の特定と疾患モデル動物の作製**

当該研究において作製された遺伝子欠損マウスを用いて、転写因子 ATF-2 が乳がん抑制因子であること、コリプレッサー Ski が形態異常を伴う遺伝病の原因遺伝子であることなどが見出された。これらのモデル動物は疾患の発症メカニズムの研究や、さらには臨床系の研究者による治療法の検討などに用いられた。

2. エピジェネティクスに関わる新規概念の発見

前述のように、私達は最近「様々なストレスが転写因子 ATF-2 を介してエピゲノム変化を誘導し、それが遺伝すること」を明らかにした。これは従来疑問視されていた「ストレスによる影響が DNA 配列の変化なしに遺伝する」ことをきっちりとしたデータに基づき示したもので、今後の遺伝学研究に大きな影響を与えるものである。このような研究は、当該の特別推進研究において、転写因子 ATF-2 と、それに結合する仲介因子についての研究が、緻密に遂行されていたことにより可能になった。特に一連の遺伝子欠損マウスやショウジョウバエ変異体が作製されていたことが、このような研究が効率良く遂行できた最大の理由である。

3. 再生医療の技術開発に関わる研究の展開

前述のように、私達は卵子に多量に存在するヒストンバリエント（胚細胞ヒストン）がリプログラミング活性を有し、iPS 細胞の産生を強く促進することを見出した。現在この手法は、核移植によるリプログラミングを手本にした、新たな iPS 細胞作製法の開発に繋がるものとして大変有望である。このような非常に野心的な研究にチャレンジできたのは、当該の特別推進研究において、ヒストンの化学修飾の重要性を強く認識できたことが大きい。当該研究で得た研究手法、研究材料などが無ければ、このような研究には至っていなかったと思われる。

2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況

特別推進研究の研究成果が他の研究者に活用された状況について、次の(1)、(2)の項目ごとに具体的かつ明確に記述してください。

(1) 学界への貢献の状況（学術研究へのインパクト及び関連領域のその後の動向、関連領域への関わり等）

学術研究へのインパクト

当該研究は以下の2点について、その後の学術研究に大きなインパクトを与えた。

普遍的に機能する転写因子の生理機能の解明

一般的な DNA 結合型の転写因子は、特異的な遺伝子に作用するため、その変異体は特異的な表現型を示す。しかし、仲介因子は多くの転写因子に用いられるため、その変異体の表現型は複雑で解析が困難と考えられていた。しかし私達の CBP, Ski/Sno, Shn-2 などの解析により、これらの表現型がいくつかの遺伝性疾患と結びつくことが示され、当該研究は、その後のこの分野の研究に一定の影響を与えた。

多くの疾患のモデル動物としての評価

当該研究において作製された遺伝子欠損マウスやショウジョウバエ変異体は、発がん、骨形成、形態形成を伴う遺伝疾患、脳神経系疾患、代謝系疾患などの多様な疾患のモデル動物となることが示された。これらの研究材料は、基礎研究のみならず、臨床研究者による病態研究、民間企業における薬剤開発などにも使用されており、当該研究は一定の影響を与えている。

研究材料の分与

当該研究において、研究代表者らは、転写制御に関与する幾つかの鍵分子の遺伝子欠損マウスとショウジョウバエ変異体、そして新規ベクターなどを作製した。これらは国内外の多くの研究者のリクエストに答えて、分与した。以下に代表的なものを記載する。これらの研究材料は、発がん、骨形成、形態形成を伴う遺伝疾患、脳神経系疾患、代謝系疾患などの多様な分野の研究に用いられ、役立っている。

遺伝子欠損マウス

転写コアクティベーター CBP 欠損マウス
 転写コリプレッサー Ski 変異マウス
 転写コリプレッサー Sno 欠損マウス
 転写アダプター Shn-2 欠損マウス
 転写因子 ATF-2 欠損マウス
 転写因子 ATF-7 欠損マウス
 転写因子 CRE-BPa 欠損マウス
 転写因子 B-Myb 組織特異的欠損マウス

ショウジョウバエ変異体

転写コアクティベーター dCBP 欠損ショウジョウバエ
 転写因子 dATF-2 欠損ショウジョウバエ
 転写因子 dATF-2 組織特異的欠損ショウジョウバエ
 転写因子 dMyb 欠損ショウジョウバエ

新規発現ベクター：pDECAP

長い二本鎖 RNA を発現させ目的遺伝子をノックダウンさせる新規ベクターを開発した。このベクターは世界中の多くのグループからリクエストがあり、これまでに 400 カ所以上に、分与している。

2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況（続き）

(2) 論文引用状況（上位10報程度を記述してください。）

【研究期間中に発表した論文】

No	論文名	日本語による簡潔な内容紹介	引用数
1	Chromatin acetylation, memory, and LTP are impaired in CBP ^{+/-} mice; a model for the cognitive deficit in Rubinstein-Taybi syndrome and its amelioration. <i>Neuron</i> 42, 947-959 (2004)	コアクティベーターCBPのヘテロ変異マウスの脳では、ヒストンのアセチル化と記憶が低下しており、Rubinstein-Taybi症候群と似た症状を示す事を明らかにした。	294
2	Mechanism of c-Myb-C/EBP β cooperation from distantly separated sites on a promoter. <i>Cell</i> 108, 57-70 (2002).	転写因子 c-Myb と C/EBP β が DNA に結合した複合体の結晶構造を決定し、2つの転写因子による協調的制御の機構を明らかにした。	87
3	Generation of Ski-knock down mice by expressing a long double-strand RNA from an RNA polymerase II promoter. <i>Genes Dev.</i> 17, 1340-1345 (2003).	長い二本鎖 RNA を発現する新規ベクターをマウスに導入することにより、コリプレッサー Ski のマウス変異体が、作製できることを示した。	83
4	Wnt-1 signal induces phosphorylation and degradation of c-Myb protein via TAK1, HIPK2, and NLK. <i>Genes Dev.</i> 18, 816-829 (2004).	転写因子 c-Myb が Wnt シグナルによって分解されることを見出し、Wnt シグナル下流の TAK1, HIPK2, NLK キナーゼが関与する事を明らかにした。	82
5	Schnurri-2 controls BMP-dependent adipogenesis via interaction with Smad proteins. <i>Dev. Cell</i> 10, 461-471 (2006).	Schnurri-2 が BMP 依存的な脂肪細胞分化に関与し、転写因子 Smad のアダプターとして機能することを明らかにした。	70
6	SKI activates Wnt/beta-catenin signaling in human melanoma. <i>Cancer Res.</i> 63, 6626-6634 (2003).	ヒトメラノーマ細胞において、コリプレッサー Ski が Wnt シグナルを活性化することを明らかにした。	64
7	Mice lacking a transcriptional corepressor Tob are predisposed to cancer. <i>Genes Dev.</i> 17, 1201-1206 (2003).	コリプレッサーTobのマウス変異体は、がんを発症し易い事を明らかにした。	63
8	Myb controls G2/M progression by inducing cyclin B expression in the <i>Drosophila</i> eye imaginal disc. <i>EMBO J.</i> 21,675-684 (2002).	転写因子 Myb は細胞周期の G2 期から M 期への移行の制御に関与することをショウジョウバエを用いて明らかにした。	43
9	Ski is involved in transcriptional regulation by the repressor and full-length forms of Gli3. <i>Genes Dev.</i> 16, 2843-2848 (2002).	コリプレッサーSkiが転写因子 Gli3 に結合し、形態形成を制御する事を明らかにした。	42
10	Regulation of T helper type 2 cell differentiation by murine Schnurri-2. <i>J. Exp. Med.</i> 201, 397-408 (2005).	転写アダプターSchnurri-2 がヘルパー T 細胞の分化を制御することを明らかにした。	34

【研究期間終了後に発表した論文】			
No	論文名	日本語による簡潔な内容紹介	引用数
1	Reduced levels of ATF-2 predispose mice to mammary tumors. <i>Mol. Cell. Biol.</i> 27, 1730-1744 (2007).	転写因子 ATF-2 のヘテロ変異マウスは乳がんを高頻度に発症することを明らかにした。	32
2	TAK1 MAPKKK mediates TGF- β signaling by targeting SnoN oncoprotein for degradation. <i>J. Biol. Chem.</i> 282, 9475-9481 (2007).	TGF- β によるコリプレッサー Sno の分解誘導には、TAK1 キナーゼが関与することを明らかにした。	19
3	A B-Myb complex containing clathrin and filamin is required for mitotic spindle function. <i>EMBO J.</i> 27, 1852-1862 (2008).	転写因子 B-Myb がクラスリン、フィラミンと複合体を作り、紡錘形成を直接制御する事を明らかにした。	18
4	ATF-2 regulates fat metabolism in <i>Drosophila</i> . <i>Mol. Biol. Cell.</i> 18, 1519-1529 (2007).	転写因子 ATF-2 が脂質代謝を制御する事を、ショウジョウバエを用いて明らかにした。	15
5	ATF-2 controls transcription of Maspin and GADD45 α genes independently from p53 to suppress mammary tumors. <i>Oncogene</i> 27, 1045-1054 (2008).	転写因子 ATF-2 が Maspin 遺伝子と Gadd45 α 遺伝子の転写を制御して、乳がんを抑制する事を明らかにした。	14
6	Ribosomal stress induces processing of Mybbp1a and its translocation from the nucleolus to the nucleoplasm. <i>Genes Cells</i> 13, 27-39 (2008).	リボソーム形成を阻害するストレスが Mybbp1a のプロセッシングを誘導し、核小体から核質への移行を促進する事を明らかにした。	13
7	Lack of Schnurri-2 expression associates with reduced bone remodeling and osteopenia. <i>J. Biol. Chem.</i> 282, 12907-12915. (2007)	転写アダプター Schnurri-2 が骨形成を制御する事を、変異マウスを用いて明らかにした。	13
8	Fbxw7 acts as an E3 ubiquitin ligase that targets c-Myb for nemo-like kinase (NLK)-induced degradation. <i>J. Biol. Chem.</i> 283, 30540-30548 (2008).	Wnt シグナルによる c-Myb の分解には、E3 ユビキチンリガーゼ Fbxw7 が関与することを明らかにした。	11
9	Social isolation stress induces ATF-7 phosphorylation and impairs silencing of the 5-HT 5B receptor gene. <i>EMBO J.</i> 29, 196-208 (2010).	精神ストレスの一種である社会的分離ストレスが ATF-7 を介して、エピゲノム変化と行動異常を誘導することを明らかにした。	7
10	Inheritance of stress-induced, ATF-2-dependent epigenetic change. <i>Cell</i> 145, 1049-1061 (2011).	環境ストレスが転写因子 ATF-2 を介してエピゲノム変化を誘導し、それが次世代に遺伝することを明らかにした。	7

3. その他、効果・効用等の評価に関する情報

次の(1)、(2)の項目ごとに、該当する内容について具体的かつ明確に記述してください。

(1) 研究成果の社会への還元状況（社会への還元の程度、内容、実用化の有無は問いません。）

研究材料の民間企業への供与

転写アダプター Shn-2 欠損マウス：抑うつ薬の開発研究用に製薬企業に供与
 転写因子 ATF-7 欠損マウス：抑うつ薬の開発研究用に製薬企業に供与

最近の研究成果のマスコミ報道

Seong et al. Cell 2011

- 「親が受けたストレス、子に遺伝」読売新聞
- 「親のストレスが子孫に遺伝 理研、ハエで仕組み解明」日本経済新聞
- 「親のストレス、子に遺伝 DNA 変化介さず次世代に ショウジョウバエで確認」日刊工業新聞
- 「ライフサイエンス・ビュー 親の受けたストレスが子に遺伝」雑誌ニュートン
- “Effects of Stress Can Be Inherited, and Here's How” ScienceDaily
- “Scientists discover how we pass on DNA changes caused by stress” Dijital Journal
- “Stress response spans generations” BioNews
- “Inheriting stress” Innovations Report
- “Parents can transmit stress to children” TopNews.in

読売新聞

外からのストレスで遺伝子の働きが変化する仕組みを、理化学研究所の石井俊輔主任研究員のグループがあきらかにした。こうした遺伝子の「働き」の変化は、子に遺伝することもわかった。米科学論文誌「セル」に発表した。

遺伝情報は、「塩基」とよばれる物質の並びとしてDNAに刻まれている。たまたまトウモロコシの実の色は、基本的にこの塩基の並び方で決まる。気温や日照時間の異常といったストレスが加わると遺伝子の働きが変化し、ストレスが取り去られても、その影響が子に伝わるのが知られている。だが、その変化の仕組みがわかっていなかった。

DNAは、ヒストンというたんぱく質の塊に巻き付いている。石井さんは、塩基の並びに変化がなくても、その

巻き付き方の違いで、遺伝子が働いたり働かなかったりする仕組みに注目した。白い目のショウジョウバエの卵をお湯につけてストレスを与える。と、「ATF2」というたんぱく質が活性化してDNAの巻き付きが緩むことを発見。緩んだ結果、赤い色素を作る遺伝子が働くようになり、生まれてくるハエは目が赤くなった。

そして、この巻き付きの緩さは子に遺伝した。目が赤くなったショウジョウバエの子も目が少し赤くなったが、孫の世代では白い目に戻った。一方、親と子に続けてストレスを与えると目の赤さは孫、ひ孫、やっやまで残った。

石井さんは「ストレスが生活習慣病や精神疾患を引き起こすメカニズムをあきらかにして、病気の予防などに役立つ」と話している。

親が受けたストレス、子に遺伝

理研、遺伝子の働きの変化解明



3. その他、効果・効用等の評価に関する情報（続き）**(2) 研究計画に関与した若手研究者の成長の状況（助教やポスドク等の研究終了後の動向を記述してください。）**

戴平：京都府立医科大学細胞分子機能病理学 講師

Matiullah Khan：Cancer Science Institute of Singapore, Senior Research Scientist

Wanzhu Jin：Institute of Zoology Chinese Academy of Sciences, Group leader

岡田聖裕；首都大学東京戦略センター 准教授

倉橋敏裕：山形大学大学院医学系研究科生化学分子生物 助教

Kim Hyungtae：韓国 Macrogen 社 CEO

島田信量：旭化成研究所 研究員

谷川潤：住友製薬研究所 研究員

岡村智雄：東レ研究所 研究員

山内智弘：アステラス製薬研究所 研究員

田畑考統：旭化成研究所 研究員