

# X染色体不活性化のメカニズムを解く

佐渡 敬

総合研究大学院大学助手遺伝学専攻／情報・システム研究機構国立遺伝学研究所助手

雄と雌で遺伝子の量を同じにするために、雌のX染色体は不活性化される。X染色体不活性化の生物学的な意味と、その仕組みを探る研究の流れを紹介する。最近ホットな研究テーマである機能性RNA分子の解明にもつながっている。

哺乳類のゲノムのサイズ\*<sup>1</sup>は、30億塩基対ではほぼ一定だが、染色体の大きさや数は、種によってさまざまである。ところが、X染色体については種間の類似性が高い。サイズも似ていて、ゲノム30億塩基対の約5%を占めることが知られている（Ohnoの法則という）。

哺乳類の雄はXとY染色体を1本ずつもち、雌はX染色体を2本もち。雌の2本のX染色体のうちの1本は、「X染色体不活性化」という仕組みによって、遺伝子が働かなくなっている。

したがって、雄も雌も、機能をもったX染色体は1本しかなく、生存に必須な遺伝子が欠損したりすると、その細胞に致命的な影響をもたらされる。その結果として、X染色体には進化の過程で変異が起こらず、安定に維持され、種を超えた類似性が保持されているのではないかと推察される。

## 遺伝子の量と同じであることが重要

約1.65億塩基対のサイズをもつヒトX染色体上には、およそ1500個の遺伝子が存在する。一方、ヒトY染色体は約0.6億塩基対と小さく、遺伝子として機能するものは、わずか50個程度しかないと考えられる。Y染色体の大半は、遺伝子を含まない反復配列や、機能を失った見せかけの遺伝子（偽遺伝子）で構成されている。そして、その全域がヘテロクロマチン化して、活性が低い状態にある。X染色体とY染色体の間には、偽常染色体領域という特別な場所を除くと、相同性は認められない。

しかし、X染色体とY染色体は、もともとは相同な常染色体のペアであったと考えられている。常染色体とは、XとY（性染色体）以外の染色体のことで、哺乳類の細胞では、2本ずつペアで存在する。

ところが進化の過程で、XY染色体の元になった常染色体ペアには、一方にだけ変化（たとえば消失、重複、移動）が繰り返され、形態的に大きく異なる現在のXY性染色体が形成されたといわれている。

Y染色体に起こった機能の消失は、進化的に何らかの利点があったと思われるが、その結果、XY性染色体間の遺伝子の量に、著しい不均衡が生じることとなった。この不均衡を是正するために、X染色体を1本もつ個体と2本もつ個体の間で、遺伝子の量を補正する仕組みが進化したと考えられる。それが、X染色体不活性化という現象である。

興味深いのは、こうした補正（遺伝子量の補償機構と呼ぶ）が哺乳類に限ったことではないことである。他の生物種ではX染色体不活性化とは異なる仕組みで補正が行われ、X染色体上の遺伝子から転写されて作り出される産物の量が、ほぼ同等になるように調節されるのである。

ショウジョウバエでは、雄（XY）のX染色体の転写活性が、雌（XX）のX染色体の2倍に高められている。一方、線虫では、雌雄同体（XX）の各X染色体の転写活性が、雄（XO）のX染色体の半分に抑えられている。いずれの生物においても、この機構に破綻をきたした場合致死となることから、X染色体の遺伝子量補償が、生物の正常な発生にとってきわめて重要であることがわかる。

## X染色体不活性化の研究の始まり

先に触れたように哺乳類における遺伝子量補償は、雌の2本のX染色体のうち一方を不活性化することで達成される。この現象は、1961年、マウスの毛色パターンを観察したメアリー・ライオン（Mary Lyon）によって初めて記述された。表1に紹介したが、「ライオンの仮説」といわれている。その後、マウスを用いた数多くの細胞遺伝学的解析によって、この仮説が大幅な修正を必要としないきわめて洗練された妥当なものであったことが示されたのである。

現在では、X染色体不活性化を制御する染色体上の場所として、X染色体不活性化センター（XIC）が見つかった。X染色体の一部を失うなどした異常な染色体を解析することで、この場所が突き止められたのである。X染色体不活性化の機構を整理すると、(1)細胞がX染色体を何本もっているかを感知する「計数」、(2)2本のX染色体が感知された場合、どちらのXを不活性化するか「選択」、(3)不活性化の「開始」、(4)不活性化状態を染色体全域へ伝える「伝播」の四つの過程に分けられるが、XICは、これらすべての過程にかかわっていると考えられている。

通常、染色体の数に異常があると、その個体は深刻な影響を受けるが、X染色体は例外である。たとえXXXやXXYのように、X染色体が1本余分にあっても、「計数」機構が働いて、1本を除きすべてが不活性化されてしまうため、あまり大きな影響がない。

だが、XICを失うと、そのX染色体は、不活性化する能力を失うのみならず、X染色体として感知されなくなる。そのようなX染色体が存在すると、もう1本が正常なX染色体であっても、細胞はX染色体の数を1本と判断し、不活性化はもたらされなくなるのである。

## 分子レベルの研究がスタート

細胞遺伝学的解析が中心であったX染色体不活性化研究は、1991年に大きな転機を迎えた。不活性化されるX染色体上

図2 *Xist* 遺伝子から発現したRNA  
青色が染色体DNAで、赤色が*Xist* 遺伝子から発現したRNAを示す。雌マウスの体細胞で、間期の核写真上方の二つと、分裂期中期の染色体（右下）を比較したもの。RNAは、間期では一カ所にかたまり、分裂期には不活性化されたX染色体を被覆している様子がわかる。（FISH法を使用）。

表1 ライオンの仮説

- (1) メスの体細胞では2本のX染色体のうち一方が不活性化している
- (2) 不活性化は発生のごく初期に起こる
- (3) 不活性化はランダムである
- (4) 不活性化したX染色体は、その後細胞分裂を経ても安定して維持される

でのみ活性をもち発現されるおもしろい遺伝子が見つかったのである。ヒトとマウスで相次いで発見されたその遺伝子は、*XIST* および *Xist*（ヒトでは大文字で *XIST*、マウスでは最初だけ大文字で *Xist* と書く）と名づけられた。

これらの遺伝子は、実際には染色体が不活性化されるより前に発現される。X染色体の不活性化は、受精卵が発生していく途中のある段階で起こるわけであるが、将来不活性化するX染色体から、不活性化に先立って発現が起こるのである。さらに興味深いことに、これらの遺伝子は、タンパク質をコードしない遺伝子であった。すなわち、遺伝子が発現して生じる最終産物が、タンパク質ではなく、RNAなのである。しかも発現したRNAは、その後、不活性化されるX染色体のほぼ全域にわたって結合する。雌のマウスの細胞で調べると、*Xist* から発現したRNAが、細胞分裂の間期では、核内の一カ所に蓄積し、分裂期には、1本のX染色体を被覆している様子が観察される（図2）。

このようにして、X染色体不活性化の分子機構を解析する手がかりができ、精力的な研究がスタートした。その後、X染色体不活性化における

*Xist* 遺伝子の重要性が明確に証明されたのは、1996年と1997年になってからのことである。*Xist* 遺伝子を実験的に破壊したX染色体は決して不活性化せず、*Xist* 遺伝子が不活性化の「開始」に必須であることが実証されたのである。

*Xist* 遺伝子の染色体上の位置は、先に述べたX染色体不活性化センター（XIC）領域にある。引き続き研究で、*Xist* 遺伝子を破壊してもX染色体の「計数」機構は影響されないこと、XICとして必要な要素（塩基配列）は、*Xist* 遺伝子（2.5万塩基対）を含む数十万塩基対のDNA領域中にすべて含まれることが示唆されている。

## アンチセンス遺伝子の重要性は？

*Xist* に続く第2のプレーヤーとして注目を浴びる遺伝子が、1999年に発見された。それは、*Xist* 遺伝子の「アンチセンス」遺伝子 *Tsix* である。

「アンチセンス」とは何だろうか。図3を見るとわかりやすいだろう。DNAの二重らせんは、相補的な配列をもつ2本のDNA鎖でできている。その2本の鎖のうち、一方の鎖に刻まれた配列をセンス遺伝子、それと相補的なもう一方の鎖に刻まれた配列をアンチセンス遺伝子と呼ぶ。したがって、*Tsix* 遺伝子と *Xist* 遺伝

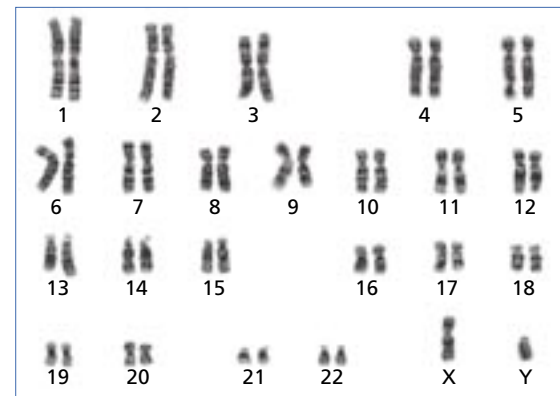


図1 ヒト(男性)の染色体  
性染色体による性決定システムをもつ哺乳類は、雄と雌では異なる染色体をもつ。雄の場合は常染色体のペア(対)とY染色体とX染色体をもち、雌の場合は常染色体のペアとX染色体のペアをもつことになる。



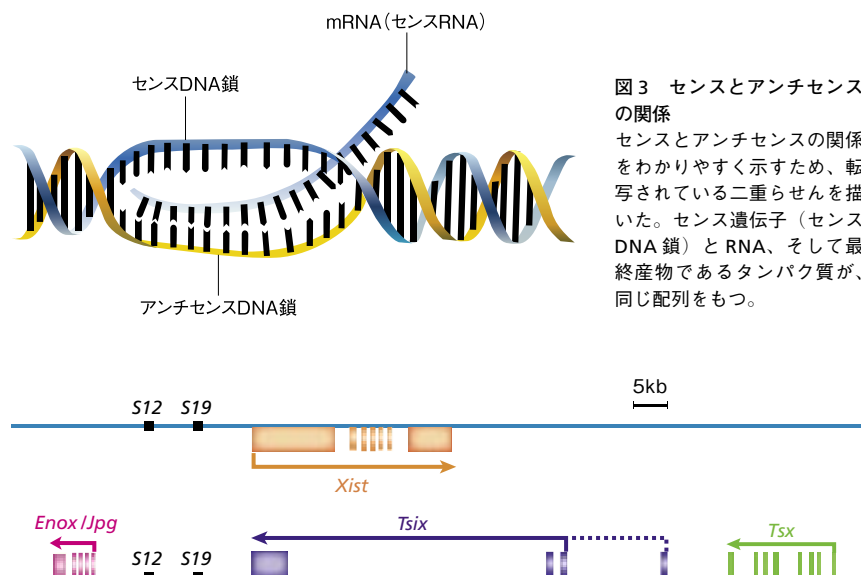


図3 センスとアンチセンスの関係  
センスとアンチセンスの関係をわかりやすく示すため、転写されている二重らせんを描いた。センス遺伝子（センスDNA鎖）とRNA、そして最終産物であるタンパク質が、同じ配列をもつ。

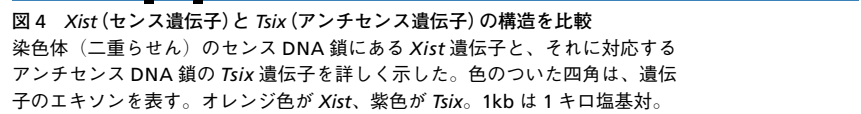


図4 Xist (センス遺伝子) と Tsix (アンチセンス遺伝子) の構造を比較  
染色体 (二重らせん) のセンス DNA 鎖にある Xist 遺伝子と、それに対応するアンチセンス DNA 鎖の Tsix 遺伝子を詳しく示した。色のついた四角は、遺伝子のエクソンを表す。オレンジ色が Xist、紫色が Tsix。1kb は 1 キロ塩基対。

子の配列は、二重らせんのそれぞれの鎖に刻まれていることになる。

このアンチセンス遺伝子 *Tsix* も、*Xist* 遺伝子と同様に、タンパク質をコードせず、RNAを発現するものと考えられている。私たちはここ数年、X染色体不活

性化における、このアンチセンス遺伝子の役割を調べるため研究を続けている。

その結果、このアンチセンス遺伝子は、*Xist* 遺伝子 (センス遺伝子) の発現を抑制する働きをもつことがわかってきた。

いったいどのような仕組みで、二重ら

せんの一方の遺伝子が、もう一方の遺伝子を抑制するのだろうか。さらに詳しく調べると、アンチセンス遺伝子 *Tsix* は、同一X染色体上にある *Xist* 遺伝子の、発現を調節する部位 (プロモーターDNAという) に影響を及ぼすことがわかった。つまり、その部位のクロマチン形成に影響を及ぼしているのである。一般的に、遺伝子の発現は染色体を構成するクロマチンの状態によって制御される。*Tsix* 遺伝子の及ぼすこうした効果が、アンチセンス遺伝子から発現したRNAの働きによるものなのか、あるいは、一方のDNA鎖で行われているアンチセンス遺伝子の転写そのものが、他方のDNA鎖の転写を妨害しているのかはまだ不明で、現在解析を続けている。

#### 続々発見される機能性RNA

*Xist* 遺伝子が発見された当初は、タンパク質をコードせず、RNAを発現する遺伝子は、今ほど注目されていなかった。こうした遺伝子から発現したRNAのなかで、RNAが機能を発揮するものは、

リボソームRNA (rRNA) や転移RNA (tRNA) ぐらいしか知られていなかった。

ところが、ゲノムプロジェクトでさまざまな生物のゲノム配列が明らかになり、予想外のゲノム領域からRNAが発現していることがわかってきた。こうしたRNAの多くはまだ機能が不明であるが、「機能性RNA」と呼ばれ、現在、大きな注目が寄せられている。そして、その生物学的意義は何なのかを探るため、激しい研究競争が繰り広げられている。

*Xist* や *Tsix* 遺伝子から作られるRNAはメッセンジャーRNA (mRNA) タイプで、他の生物でもこのようなタイプのRNAが数多く存在すると思われる。そのうちの程度が本当に意味のある機能性RNAであるかは、現時点ではまだ不明だ。

#### RNAをめぐる研究の新しい波

機能性RNAの研究は、RNA干渉 (RNAi) という分子機構の研究とも密接に関係している。RNA干渉は、遺伝子発現を抑制するための実験技術として一躍注目を浴び、広く利用されるようになったが、

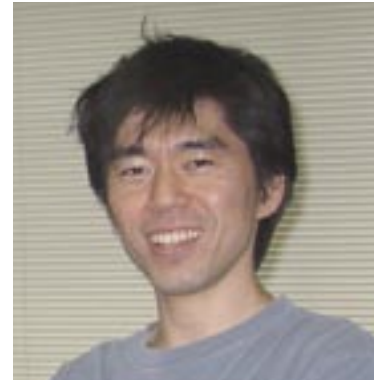
それだけでなく、細胞内で重要な役割を果たしていることも明らかになってきた。小さいRNA分子が、遺伝子の発現を制御 (転写時および転写後の両方において) していることが、多くの生物種で見いだされてきているのである。さらに、分裂酵母では、セントロメアやテロメアなどのヘテロクロマチン構造の形成にも、こうした小さいRNA分子が重要な役割を果たしていることが示されている。

上述した *Xist* によるX染色体のヘテロクロマチン形成 (不活性化) や、アンチセンス遺伝子 *Tsix* による *Xist* のクロマチン構造の制御にも、RNAi機構がかかわっている可能性がしばしば議論されるが、これまでのところそれを支持する実験結果は報告されていない。

このような背景を追い風にして、今、RNAによる遺伝子発現調節や、クロマチンの修飾・構造の制御といった研究が、急速に進展している。他の生物やシステムから得られる知見と今後私たちが行う *Xist* や *Tsix* の解析から得られる知見を比較し、それらの間の共通点と相違点を検

討することで、X染色体の不活性化の機構のみならず、染色体研究の新たな方向性が見えてくるかもしれない。

\*1 ゲノムのサイズ 1倍体のゲノムサイズを示した。ヒトなどの2倍体生物では、細胞の中に2セットのゲノムが含まれる。



佐渡 敬 (さど・たかし)  
遺伝子改変を施したマウスの胚を用い、X染色体不活性化の分子機構の研究を行っている。X染色体不活性化研究に携わるようになって間もない大学院時代に *Xist* 遺伝子が単離された。それ以来、自分も分子レベルの解析を続けつつ、世界のX染色体不活性化研究の発展を肌で感じてきた。しかし、自分がこんなにX染色体にはまるとは・・・。

## エピジェネティック

### 角谷徹仁

総合研究大学院大学教授 遺伝学専攻 / 情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所教授

遺伝情報の実体は塩基配列に書き込まれているが、塩基配列以外の形で遺伝子機能の変化が細胞分裂後に伝わる可能性がある。このような「エピジェネティック」な現象を研究する分野は「エピジェネティクス」と総称される。

エピジェネティックな制御の役割の一つは、多細胞生物の個体発生中に、組織あるいは領域に特異的な遺伝子発現を細胞分裂後も維持することである。このように発生を制御するエピジェネティックな情報は、世代ごとに再プログラムされる。一方で、エピジェネティックな情報が世代をこえて伝わり、塩基配列には変化がないに

もかわらず、突然変異と同様にふるまうという奇妙な現象も植物で知られている。

エピジェネティックな目印の実体の一つは、DNAのシトシン残基のメチル化である。DNAにメチル基をつけるのは、DNAメチル化酵素と呼ばれる酵素である。この酵素の遺伝子が機能を失ったマウスは、発生が初期で止まり死ぬ。つまり、DNAメチル化による遺伝子制御が、マウスの発生に必要なことがわかる。

哺乳類よりも単純な、植物や菌類でもDNAのメチル化は見つかる。私たちの研究室では、エピジェネティックな制御の役割を理解するため、シロイヌナズナという

植物の、DNAメチル化の突然変異体を使って研究を行っている (<http://www.nig.ac.jp/labs/AgrGen/home-j.html>)。DNAメチル化の低下した変異体では、遺伝子発現の変化やゲノム構造の変化によって、種々の発生異常が誘発される。これらの発生異常の原因遺伝子を同定するのに、私たちは染色体上での遺伝的連鎖を利用している。

メチル化の変化が遺伝子発現に異常をもたらし、それが原因で発生の異常が引き起こされていた例が2例見つかった。そのうちのの一つは、メチル化の低下により、ある遺伝子が、本来発現されない組織で

発現したことで、開花が遅れ、葉を作りつづけたものである。もう一つは、逆に、メチル化の上昇により、遺伝子の発現が抑制され、枝分かれパターンが異常になったものである。メチル化の程度がエピジェネティックな多様性をもたらす原因遺伝子を、遺伝学の古典的な手法である連鎖解析で同定できたわけである。また、別の発生異常は、低メチル化にともなって、トランスポゾン (可動性DNA因子) の抑制が解除されて、ゲノム中で場所を変えたためであった。DNAメチル化によるエピジェネティックな制御が、遺伝子発現パターンの継承やゲノム構造の安定化に寄与していることがわかる。

特定の配列にエピジェネティックな目印をつける仕組みも、未解明の興味深い問題である。少なくとも植物では、二本鎖RNAの発現を誘導すると、それと同じ配

列のDNAが新たにメチル化されることがわかっている。RNAによるエピジェネティックな制御が、哺乳類のX染色体や、セントロメアの機能にも関連していることを示す証拠が得られつつある (本誌の佐渡氏や深川氏の記事でも紹介)。

エピジェネティクスは、まだ謎の多い分野であるが、今後も予想外の展開が期待できる。

図1 枝分かれパターンが異常なシロイヌナズナ変異体。



図2 野生型のシロイヌナズナ (左) と、葉が形成されつづけている変異体 (右)。