

【海外文献紹介】

Aging of blood can be tracked by DNA methylation changes at just three CpG sites

Weidner CI, Lin Q, Koch CM, Eisele L, Beier F et al.

Genome Biol. 2014 Feb 3;15:R24. doi: 10.1186/gb-2014-15-2-r24.

下田 修義

国立長寿医療研究センター研究所 再生再建医学研究部門

本論文では血中ゲノムに存在するわずか三つの CpG 部位のメチル化レベルをもとにヒトの暦年齢をおよそ5歳の誤差で求めることを示し、この年齢測定法を犯罪捜査や生物学的年齢の推定に役立てることができることとした [1]。本論文を含む最近のエピジェネティッククロックのデータは多能性幹細胞の移植治療や老化のメカニズムを考える上でも参考になる。

脊椎動物のゲノムにおいて CpG という並びのシトシンはそのおよそ7割がメチル化を受けている。体細胞ゲノムのメチル化パターンは受精後まもなく確立され、その後細胞の分化に伴い細胞種ごとの特徴的な DNA メチル化パターンをもつに至る。ただしそのメチル化パターンも不変ではなく時間とともに緩徐に変化してゆくため、メチル化をマーカーにしてかなり正確に暦年齢を推定できることがわかってきた [14]。このエピジェネティッククロックの発見に貢献したのが、ヒトゲノムの48万カ所に及ぶ CpG 部位のメチル化レベルを個々に定量できるイルミナ社のマイクロアレイである。このプラットフォームを用いた研究の論文を発表する際にはアレイデータを公共のデータベースに登録することになるので、自分のデータと他者のデータ、あるいは他者のデータ同士を比較して *in silico* で加齢依存的メチル化変動部位を検出することができるようになった。

本論文では、4つの異なる先行研究のメチル化アレイデータを活用することにより、加齢でメチル化変動を示す血中 CpG 部位のなかでもとくに年齢と直線的な相関をもってメチル化変動する 102 の CpG 部位を見出した [1]。その内訳は 58 部位が加齢により低メチル化、44 部位が加齢により高メチル化であった。なお、別グループが同じく血液で、かつ同じアレイで調べたところ、全

48万 CpG 部位のうち、15% [2] あるいは 29% [3] もの CpG 部位においてメチル化が加齢変化すると報告されているので、年齢推定に使える CpG 部位はごく限られたものと推測される。102 の CpG 部位のメチル化データをもとに求めた重回帰式において推定年齢と暦年齢の誤差の平均はわずか 3.34 歳であった (図 1)。年齢推定に 102 カ所のメチル化を測定するのは実際的ではないので、著者らは三つの CpG 部位を厳選し、それでも 5.4 歳の誤差で年齢を推定できることを示し、それらの三つの CpG 部位のメチル化レベルを入力すると推定年齢が提示される Web サイトを立ち上げた (図 2)。メチル化レベルの測定にはパイロシーケンス法による定量が求められているが、筆者の経験では一般的に普及しているバイサルファイトシーケンス法でもシーケンスするクローンの数を 30 程度まで行えばパイロシーケンス法に近い値が求まるので、この年齢推定法の有効性は容易に確認できるはずである。

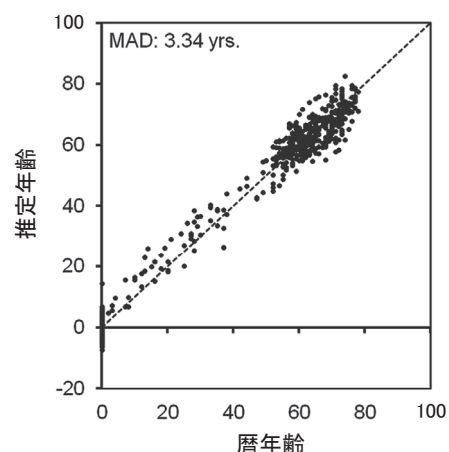


図 1 加齢変動メチル化マーカーによる年齢測定
血中ゲノム中、102 カ所の CpG 部位にメチル化を測定することにより血液提供者の年齢を推定した結果。MAD: mean absolute deviation (平均絶対偏差: 推定年齢と実年齢の差の絶対値の平均)

連絡先: 〒 474-8511

愛知県大府市森岡町 7 丁目 430 番地

TEL: 0562-46-8629

FAX: 0562-46-8629

E-mail: shimoda@ncgg.go.jp

Gene	Sequence	Methylation Level %
CpG1 ASPA	CCCTGTTCTCTGAATCTCAGCGCCATTCTTAGCAAAGCTT	<input type="text"/>
CpG2 ITGA2B	TGCCTACGTGTGTAGCCACGCGGCCAGCTGAGGAGTCAG	<input type="text"/>
CpG3 PDE4C	GGTTGCCCCACAGGTCTTCGGGGCTCTGGTCATGCTGTGG	<input type="text"/>

predicted age:

図2 メチル化年齢推定サイト

血中 DNA の指定された三つの CpG 部位のメチル化レベルを測定し、その結果を入力すると推定年齢が表示される。

<http://www.molcell.rwth-aachen.de/epigenetic-aging-signature/>

本論文はまた ES 細胞と iPS 細胞という多能性幹細胞の推定年齢をメチル化から求め、それが 0 歳前後であることを示した。この結果は先行論文の結果と一致している [4]。ES 細胞が胚盤胞という初期胚から樹立されることと、iPS 細胞は分化した体細胞が ES 様細胞へ初期化した細胞であることから、それらの細胞のメチル化年齢が 0 歳前後というのは受け入れやすい。この年齢測定法はもともと血液細胞を元に作られたが、この結果は、メチル化マーカーによる年齢推定法は細胞のタイプに依らずに使える手法であることを示唆しており、いくつかの先行論文はそのことを実際に示している [2,4]。なお ES 細胞と iPS 細胞は、これらの細胞を一足飛びに目的の細胞へと分化させ、移植に使うという再生医療への応用面が期待されているが、移植時点での細胞のメチル化年齢は何歳になるのだろうか？仮に年齢によるメチル化変化が老化の原因になっているとすれば、in vitro で分化させた移植細胞のエピジェネティック年齢が高齢型になってしまうと、移植後、細胞の機能持続性や定着性に影響する恐れがある。ES や iPS から分化させた組織・器官についてのメチル化年齢解析が待たれるところである。

CpG 部位のメチル化変動が老化の一因なのか、あるいは単に加齢の結果生じ、老化には結びつかない現象なのかは未だ明らかにされていない。遺伝子プロモーター領域のメチル化は一般に発現に対し抑制的に働くので、老化の原因となるとすればメチル化変動に伴う発現異常が最も考えやすい。本論文でもその視点から、上記の年

齢推定用に使われた三つのメチル化 CpG 部位について、それらの近傍に存在する遺伝子、integrin α 2b (ITGA2B)、aspartoacylase (ASPA)、および phosphodiesterase 4C, cAMP specific (PDE4C) の三つについて発現を調べたが、加齢による変化は見られなかったという。しかしこの内、ITGA2B と ASPA はもともと血液細胞で発現がほとんどなく、PDE4C については遺伝子の中央部にマーカー CpG が存在し、そのような部位のメチル化が多少変化しても発現に影響するとは考えにくい。したがって今回のケースから、メチル化変動と遺伝子発現変化の関連を判断することは適当ではないだろう。ちなみに解析対象数の多い先行研究では、メチル化変動する CpG 部位の近傍遺伝子はその一部が加齢により発現変化を示すこと [2,3]、あるいは加齢で発現の変化する遺伝子の近傍に、メチル化マーカーが見つかりやすいことが示されている [4]。なお興味深いことに、これらの論文には、老化して初めて発現してくる遺伝子や逆に発現が止まる遺伝子は記載されていない。加齢のメチル化変動はドラスティックではなくせいぜい 20% 程度と穏やかなため、メチル化変動が発現に影響を与えるとすれば、それはトランスクリプトーム（種類）自体の変化ではなく、トランスクリプトームに占める個々の遺伝子の相対的発現比率の穏やかな変化として現れるのかもしれない。今後は、メチル化変動と寿命・老化の因果関係を解析可能にする、エピジェネティッククロックを早めたり、巻き戻したりできるモデル生物の開発が望まれる。

引用文献

1. Weidner CI, Lin Q, Koch CM, et al. Aging of blood can be tracked by DNA methylation changes at just three CpG sites. *Genome Biol* 15:R24, 2014.
2. Hannum G, Guinney J, Zhao L, et al. Genome-wide methylation profiles reveal quantitative views of human aging rates. *Mol Cell* 49:1-9, 2013.
3. Johansson Å, Enroth S and Gyllenstein U. Continuous aging of the human DNA methylome throughout the human lifespan. *PLoS One* 8:e67378, 2013.
4. Horvath S. DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biol* 14:1R115, 2013.