

ハプロ不全優性遺伝病発症の新たな視点

誌名	明治大学農学部研究報告 = Bulletin of the Faculty of Agriculture, Meiji University
ISSN	04656083
著者名	竹内,健太 牧野,智宏 新井,良和 大鐘,潤
発行元	明治大学農学部
巻/号	65巻4号
掲載ページ	p. 95-103
発行年月	2016年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



〔総 説〕

ハプロ不全優性遺伝病発症の新たな視点： 分子メカニズムとしてエピジェネティクスが関与する可能性

竹内 健太¹⁾・牧野 智宏¹⁾・新井 良和¹⁾²⁾・大鐘 潤¹⁾²⁾

(2015年12月22日受理)

A new concept in genetic diseases caused by haploinsufficiency: Possible contribution of epigenetics as a molecular mechanism

Kenta TAKEUCHI¹⁾, Tomohiro MAKINO¹⁾, Yoshikazu ARAI¹⁾²⁾ and Jun OHGANE¹⁾²⁾

Abstract

Haploinsufficiency is one of the causes of autosomal dominant genetic disease. Patients suffering from haploinsufficiency genetic diseases frequently exhibit enormous pathological variances, termed as “reduced penetrance” or “variable expressivity” among affected individuals. However, the cause of such pathological varieties cannot be explained by simple differences of nucleotide sequences in classical genetics. On the other hand, epigenetic gene regulations such as DNA methylation can add another layer on genetic information as a modifier. In this review, we propose a new concept that epigenetic fluctuation behaves as a genetic modifier, which can be a central molecular mechanism that causes a wide variety of pathologies in haploinsufficiency diseases.

要 旨 ハプロ不全 (haploinsufficiency) 優性遺伝病では、「非浸透 (non or reduced penetrance)」や、「表現度の差異 (variable expressivity)」といった現象がしばしば認められる。配列の変化を基本とした古典遺伝学では、これらを統計学的に示すことしかできず、ハプロ不全優性遺伝病の発症メカニズムの本体には迫ることができていない。しかし、DNA メチル化を基本としたエピジェネティックな観点からハプロ不全型優性遺伝病を見ることで、従来は確率的要因や環境要因として統計的に扱われていただけの「非浸透」や「表現度の差異」を DNA メチル化の確率論的なゆらぎの結果という分子メカニズムとして説明することができる。また、DNA メチル化状態の改変により、新しい治療や実際の発症形態に近いモデル動物の作出につながることを期待される。

キーワード：ハプロ不全、非浸透、NMD、DNA メチル化状態のゆらぎ、*Fbn1*

1. はじめに

優性遺伝病はその発症機構で大きく優性阻害・機能

獲得変異とハプロ不全 (haploinsufficiency) に大別される。優性阻害では、変異アリルからの遺伝子産物が正常アリルからの遺伝子産物の機能を抑制することにより発症する。例えば、若年発症成人型糖尿病 (MODY3) の原因遺伝子 *HNF1a* のヒト変異型 cDNA (HNF-1aP291fsinsC) 強制発現用ユニットを

¹⁾ 明治大学大学院農学研究科, ²⁾ 明治大学農学部
214-8571 神奈川県川崎市多摩区東三田 1-1-1
E-mail: johgane@meiji.ac.jp
TEL: 044-934-7049; FAX: 044-934-7049

導入した形質転換ブタでは、変異 *HNF1a* 遺伝子産物が正常 *HNF1a* 遺伝子産物の機能を阻害する典型的な優性阻害により MODY3 を発症した (Umeyama et al. 2009)。一方、ハプロ不全では、正常な単一アリルのみからの遺伝子発現量ではタンパク質量が不足し、正常な機能を維持することができないことにより疾患を発症するとされている (Cook et al. 1998)。

ある遺伝子型を持つとき、その形質が顕れる割合を遺伝学では「浸透度」という言葉で示す。また、ある遺伝子型を持つとき、その形質の表現に差異が見られることがあり、これを「表現度」という。図1で概念的に示すように、ヒトの優性遺伝病で家族性に同一の変異アリルをヘテロに持つ患者が複数見られる例を考える。典型的な優性遺伝病ではヘテロ接合体で形質が顕れるため100%の浸透度を示し、変異アリルを持つ個人はすべて発症するはずである。しかし、現在の遺伝学の定義では優性遺伝様式と考えられるアリルを持つにも関わらず、ハプロ不全優性遺伝病では、II-2のように表現型が正常である場合が見られる。これを「非浸透 (non or reduced penetrance)」とよぶ。また、図の例では I-2 が眼疾患及び心疾患を患って

いるのに対し、III-3では心疾患のみであったり、III-1では心疾患が重症であったり、III-2では体型のみに影響が見られていたりするように、同一家系で同じ変異アリルを継承している患者ごとに重篤度や発症部位が異なる「表現度の差異 (variable expressivity)」がしばしば認められる (Strachan & Read 2011)。現在に至るまで「非浸透」と「表現度の差異」は確率論的要因や環境要因によるものとして統計学的に扱われてきたが、配列の変化を基本とした古典遺伝学では、ハプロ不全優性遺伝病で発症メカニズムの本体には迫ることができていないのが現状である。

2. PTC (premature stop codon) を持つ mRNA の選択的な分解機構

遺伝子変異によりコードするタンパク質のアミノ酸配列が変化する原因は、DNA上の1塩基が他の塩基に変化することに起因するミスセンス変異、アミノ酸をコードする1つのコドンが終止コドンに置き換わるナンセンス変異、塩基の欠損または挿入によりコドンの読み枠がずれるフレームシフト変異に大別することができる。このうち、ナンセンス変異やフレームシ

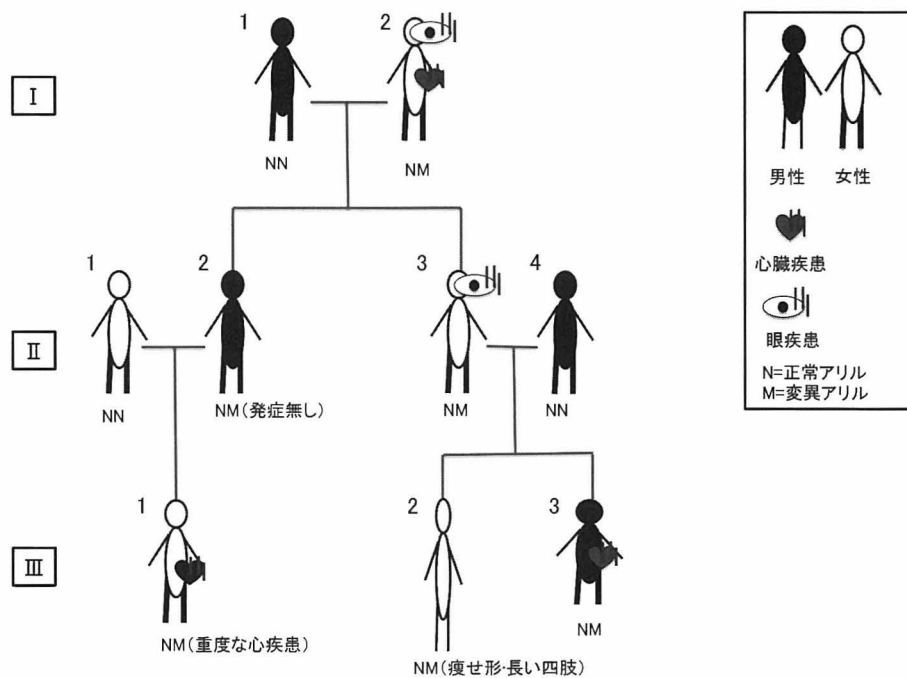


図1 ハプロ不全型優性遺伝病の概念的な家系図
ハプロ不全型優性遺伝病では家族性に同一アリルを持つ場合でも発症の有無・重症度に差異が見られる場合がある。この図では *Fbn1* 遺伝子にヘテロに変異を持つマルファン症候群患者の家系を例示している。

フト変異により生じた機能喪失対立遺伝子が、ハプロ不全を引き起こすと考えられている (Carrier et al. 2010)。PTC (premature termination codon) は、ナンセンス変異やフレームシフト変異により遺伝子座内で本来の終止コドンより上流に生じた異常な終止コドンを指す。PTCを持つ mRNA では意味のない、または有害なタンパク質の翻訳にエネルギーを消費してしまうことになるため、真核生物にはそのような影響を回避する機構が備わっている (Lejeune et al. 2003)。

NMD (nonsense-mediated mRNA decay) はスプライシング後の mRNA 上で、PTC を持つ異常な mRNA を選択的に排除する機構である (Maquat 2004; Lejeune & Maquat 2005; Chang et al. 2007)。以降の説明にあたって NMD 機構の概要を模式図として図 2 に示す。PTC をもつ mRNA に NMD が誘導されるのは、スプライシングを受けた後にエクソンの繋ぎ目から 20–25 塩基離れた位置に形成される複合体である EJC (exon junction complex) の働きによる (Maquat 2004)。最終エクソン以外ではスプライス後のエクソン同士のつなぎ目に存在する EJC から 50–55 塩基以上離れた位置に終止コドンが存在する

場合に NMD は誘導され (Maquat 2004)、正常な位置の終止コドンは、この位置に存在しないため NMD が誘導されることはない。このように NMD では EJC が異常な PTC と正常な終止コドンを見分ける目印としての機能を果たしている。そのため、NMD が異常 mRNA を排除する対象はスプライシングを受けた成熟 mRNA に限られ、イントロンを持たない配列、つまり EJC が結合しない配列に対して NMD が効果を発揮することはできない。

NMD 機構が働く時は、EJC が NMD を誘導する複合体形成のための足場として作用する。図 2 で示すように核内で転写・スプライシングが行われた mRNA では、まず UPF3 が EJC に結合する。続いて mRNA の核外への輸送に伴い UPF2, UPF1 の順に EJC に結合する。そののちに翻訳が開始されると、リボソームが mRNA 上を 5' から 3' の方向へ移動してゆき、PTC が検出されない場合は EJC が外されてゆく。これに対して、PTC が認識されると eukaryotic release factors である eRF1・eRF3 により翻訳が停止し、EJC 上の UPF1 と結合する。これにより、UPF1 は UPF1 kinase である SMG-1 をリクルートし、

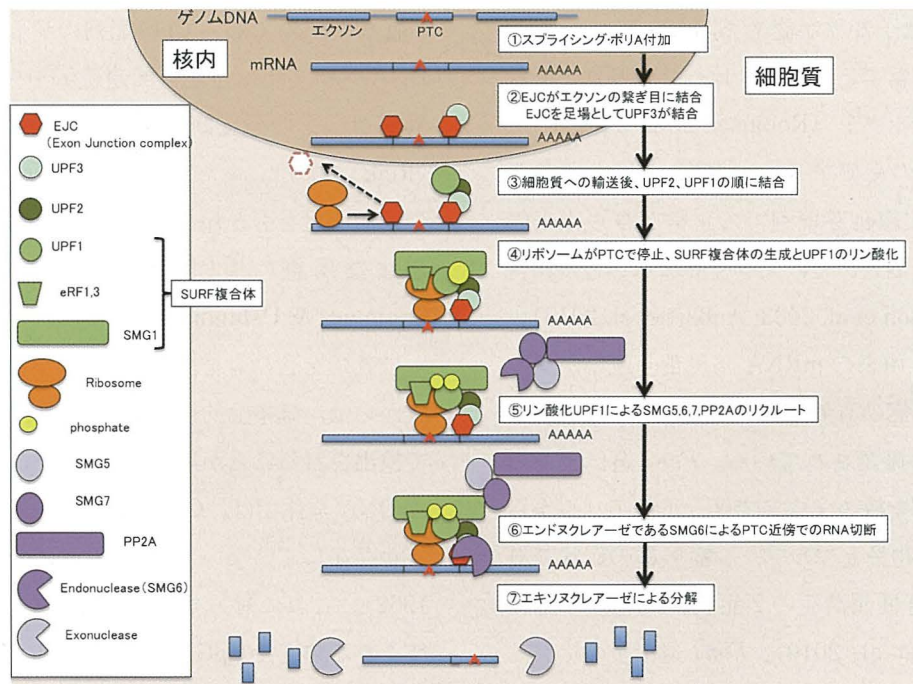


図 2 NMD による PTC を持つ mRNA の分解の流れ
図の mRNA 中の赤い矢頭が PTC の位置を示す。各関係因子は左に示した。

eRF1, eRF3, UPF1, SMG-1 (SURF) 複合体を構築する。PTCを持つ異常な mRNA では SURF 複合体と下流の EJC との相互作用が起き、SMG-1 が UPF1 をリン酸化する。リン酸化された UPF1 は SMG-5, 6, 7, PP2A をリクルートすると、エンドスクレアーゼである SMG-6 により PTC 近傍での RNA 切断が起こる。その後エキソスクレアーゼにより異常 mRNA は完全に分解される (Baker & Parker 2004; Maquat 2004; Chang et al. 2007; Nicholson et al. 2010)。

3. ハプロ不全優性遺伝病と正常・変異アリルからの遺伝子発現状態との関係

近年の研究から、ハプロ不全優性遺伝病であるマルファン症候群について原因遺伝子の1つが *Fbn1* であることが同定された。*Fbn1* は結合組織を構成する微小線維 (microfibrill) を作り出す Fibrillin1 タンパク質をコードする遺伝子である (Dietz et al. 1991; Byers 2004)。マルファン症候群はハプロ不全型の常染色体優性遺伝病であり (Judge et al. 2004)、骨格・眼球・心血管系等、全身の結合組織に異常が見られる (Judge & Dietz 2005)。しかし、その重症度や発症部位には患者ごとにばらつきがあり、極端な例では発症患者と同一の遺伝子変異が認められていても形態学的・組織学的に正常で、健常者と比べても判別不能な非浸透を示す場合もある (Robinson et al. 2002)。

Fbn1 遺伝子座の片側アリルに PTC を保有する患者において、表皮線維芽細胞での正常アリル由来の *Fbn1* mRNA 量が個人ごとに大きく異なることが報告された (Hutchinson et al. 2003; Aubart et al. 2015)。また、正常アリル由来の mRNA 発現量の違いがマルファン症候群の発症の有無及び重篤度の違いと強く相関していることが確認されている。*Fbn1* 遺伝子でヘテロ接合性に変異を持つマウスでは、正常アリルからの *Fbn1* 遺伝子産物量とマルファン症候群の症状である大動脈拡張、脊椎側湾症の2症状に関連性が見いだされた (Lima et al. 2010)。*Fbn1* 遺伝子の片アリルに PTC を保有するマルファン症候群患者では、正常アリルからの *Fbn1* mRNA の発現レベルが低い患

者では75%が水晶体転位を発症、全員が胸部変形を発症しているのに対して、正常 *Fbn1* mRNA の発現が高い場合は水晶体転位は患者の35%、胸部変形は55%しか発症していない (Aubart et al. 2015)。つまり正常 *Fbn1* mRNA 量が低い場合は水晶体転位、胸部変形の発症の重大なリスクを伴うことが分かった。マルファン患者では変異アリル由来の *Fbn1* mRNA 量が総じて低いことから (Aubart et al. 2015)、NMD による変異 mRNA 除去が行われていることが示唆された。

4. DNA メチル化と CpG アイランド shore

エピジェネティクスは、1957年に Waddington が初めてその言葉を用いた「遺伝子型が発生過程でいかにして表現型に反影されるか」という学問体系の定義であったが (Waddington et al. 1957)、現在のエピジェネティクスの概念は「遺伝子配列の変化では説明のつかない細胞分裂後も伝達される遺伝子機能の変化」であると Russo らによって定義されている (Russo et al. 1996)。

DNA を構成する塩基であるアデニン (A)、チミン (T)、シトシン (C)、グアニン (G) のうち、ほ乳類では DNA メチル化はシトシンとグアニンの連続した2塩基の配列である CpG 配列のシトシンで起きる。DNA メチル化は多能性関連遺伝子や多くの細胞種特異的遺伝子の発現制御等により正常な発生に関わる (Reik 2007)。また、異常な DNA メチル化は遺伝子の不活性化を引き起こし (Tate & Bird 1993)、さまざまな疾患の原因となる (Jones & Laird 1999; Sugimura & Ushijima 2000)。

ほ乳類を含む脊椎動物でのゲノム DNA 中の塩基組成からは、確率論的に CpG 2塩基は 1/25程度の頻度で検出されることが期待される。しかし、実際のゲノム DNA 全体では、CpG 2塩基は 1/100程度の頻度でしか存在していない (Josse et al. 1961; Swartz et al. 1962)。これに対して、ほ乳類ではほぼ確率論的に期待される頻度で CpG 2塩基が検出される CpG アイランドとよばれる領域が存在する。CpG アイランドは転写開始点を含むプロモーター領域に存在することが

できる (塩田と服部 2006)。DNA メチル化の“ゆらぎ”が確認された一例として *Fbn1* 遺伝子がある。バイサルファイトシーケンスでは、メチル化状態を決定したそれぞれの配列を一つのアリルとして見る事ができる。CpG アイランドを含む *Fbn1* プロモーター領域でバイサルファイトシーケンスによる DNA メチル化解析を行ったところ、図4のように CpG アイランド shore 領域で CpG アイランド外からの高メチル化の広がりや CpG アイランド内からの低メチル化の広がりがぶつかって生じたと考えられるメチル化状態のゆらぎが解析したアリルごとに確認された。このような CpG アイランド shore 領域でのメチル化状態のゆらぎの発見からは、CpG アイランドを持つ遺伝子の発現は、組織・細胞種特異的制御と確率論的なゆらぎの総体として決定されることを示唆している (Yagi et al. 2009)。

前述した通り、ハプロ不全型優性遺伝病の発症及び重篤度には正常アリル由来の mRNA 量が重要であることが示唆されている。ここで正常アリル由来 mRNA と変異アリル由来 mRNA の転写後の制御について改めて考察する。組織特異的発現を示す *Sphk1a* 遺伝子が T-DMR (CpG アイランド shore 領

域)のメチル化状態により転写調節を受けているように (Imamura et al. 2001), *Fbn1* 遺伝子においても mRNA の発現には CpG アイランド shore 領域のメチル化状態による発現制御が重要な役割を示す。このとき、*Fbn1* の正常アリル、変異アリルどちらからの転写においても CpG アイランド shore 領域のメチル化による発現制御は機能しているが、ハプロ不全型優性遺伝病の PTC を持つ変異アリル由来 mRNA は、NMD 機構により転写後に分解される。*Fbn1* 発現組織では組織・細胞種特異的なメチル化とともに CpG アイランド shore におけるメチル化のゆらぎが起これ、確率論的にもアリルごとにメチル化状態が変動しうる。その結果、発現組織内の細胞レベルでは高メチル化アリルを2つ持つ細胞、低メチル化アリルを2つ持つ細胞、各々を1つずつ持つ細胞の3種が混在すると考えられ、その割合によって組織全体の mRNA 量・最終的には機能しうる正常タンパク質量が変動すると考えられる。

2つのアリルが共に正常アリルである場合、メチル化のゆらぎによりある程度の発現抑制が起きたとしても、少なくとも片アリル分以上の *Fbn1* を発現する細胞が十分あると考えられ、疾患の発症には至らない。これに対して、マルファン症候群患者のようなハプロ

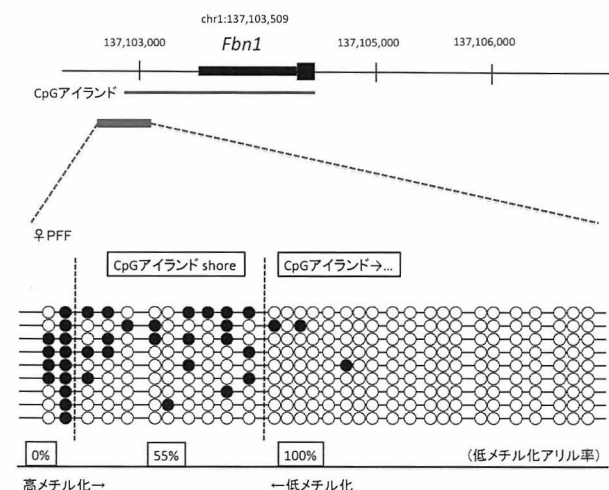


図4 *Fbn1* 遺伝子の CpG アイランド shore 領域で観察された DNA メチル化のゆらぎ
Fbn1 遺伝子の CpG アイランド shore 領域で CpG アイランド内からの低メチル化の広がりと CpG アイランド外からの高メチル化の広がりがぶつかり、メチル化状態がゆらぐことで高メチル化アリルと低メチル化アリルが混在している。黒丸はメチル化 CpG、白丸は非メチル化 CpG を示す。

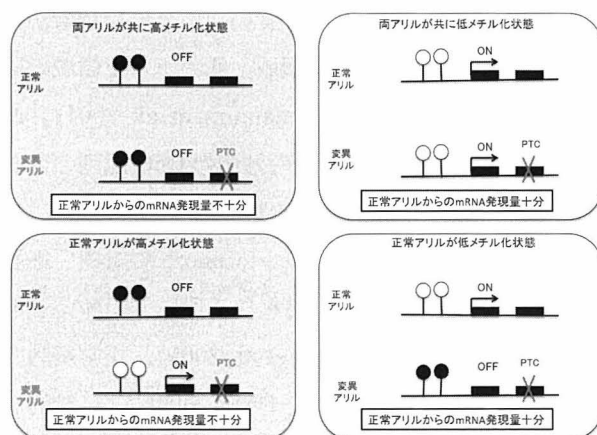


図5 マルファン症候群で各アリルのメチル化状態から考えられる細胞ごとの *Fbn1* 発現量
マルファン症候群では正常アリルと変異アリルの CpG アイランド shore 領域のメチル化状態により4通りの *Fbn1* 発現パターンが考えられる。各アリルのメチル化状態は、黒丸が高メチル化、白丸が低メチル化を意味している。

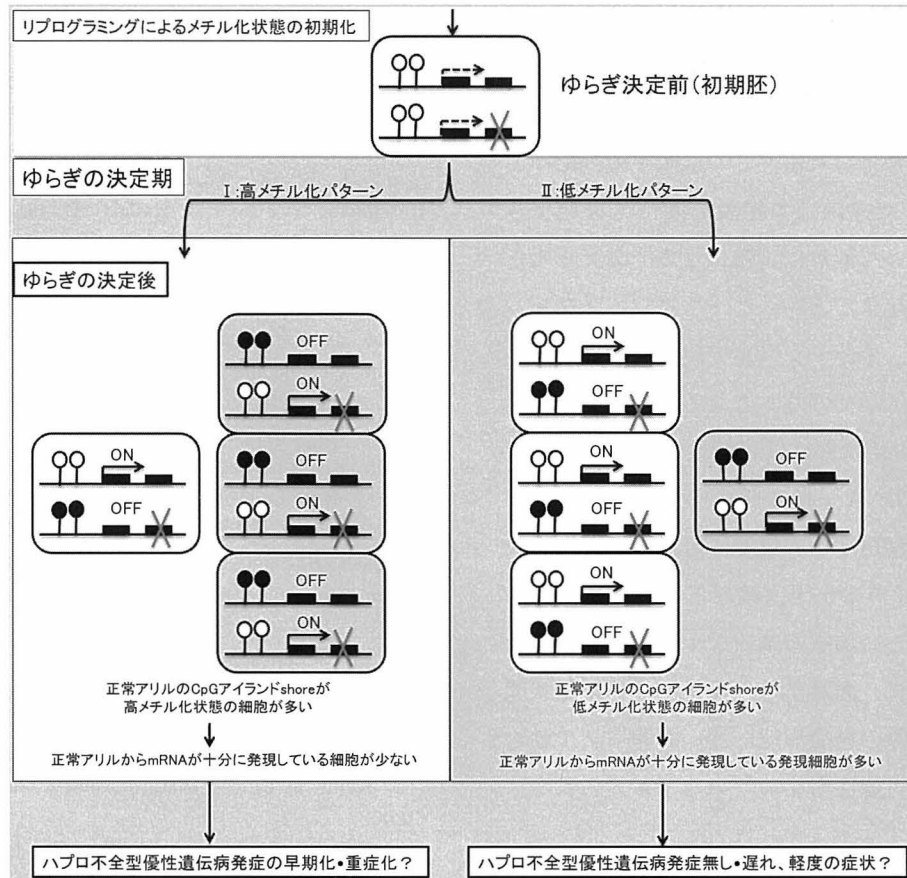


図6 DNAメチル化のゆらぎがハプロ不全型優性遺伝病の症状に与える影響
DNAメチル化のゆらぎにより、正常アレルのCpGアイランドshore領域が高メチル化状態の細胞の割合により、ハプロ不全型優性遺伝病の症状の有無・発症時期・重症度などの要素に影響を与えられとされる。ゆらぎ決定後の図では、4個の細胞で高メチル化アレルと低メチル化アレルを1つずつ持つ例を示した。×はPTCを示す。

不全で正常アレルとPTCを持つ変異アレルを1つずつ持つ個人では、図5に示したように各細胞でアレルごとのメチル化のゆらぎと正常・変異アレルの組合せによって4通りのmRNA発現状態が考えられる。変異アレル由来mRNAがNMDによる分解を受けているため、正常アレル由来mRNA量が細胞当たりの安定して存在し、正常に機能するmRNA量に相当する。そのため、正常アレルが高メチル化状態にある場合は正常mRNA量が不十分であり、正常アレルが低メチル化状態にある場合は正常mRNA量が十分と考えられる。組織レベルでは、図6に示すように正常アレルが高メチル化状態にある細胞が多い場合には正常タンパク質量が不足して疾患の重篤化が起き、逆に正常アレルが低メチル化状態にある細胞を多く持つ場合には正常タンパク質量がある程度確保できるために症状が出ない場合や軽い場合があると推測できる。こ

のようにエピジェネティックな観点からハプロ不全型優性遺伝病を見ることで、従来の配列を基本とした遺伝学では浸透度や表現度としてしか記述できなかった現象を、DNAメチル化状態の確率論的なゆらぎとして分子レベルでとらえることができる可能性が高い。

6. おわりに

ヒト遺伝病データベース (Online Mendelian Inheritance in Man: OMIM) に700件以上の登録があるハプロ不全様式の優性遺伝病であるが、その発症有無や重篤度は従来の遺伝学で基本となる遺伝子の塩基配列だけでは説明できないため、浸透度・表現度のようない用語として定義し、統計学的に示すことしかできなかった。これは遺伝カウンセリングでは必要な考え方ではあるものの、予防や治療、さらには病態モデル動物作製などの医学的な応用面を考えると不十分であ

る。このようにハプロ不全では、NMDによりPTCを持つ変異アリル由来 mRNA は分解され、正常アリル由来の遺伝子産物量の多寡が発症有無や病状の差異に影響していると考えられる。この遺伝子配列だけでは説明できなかった違いは本総説で述べてきたように、発現組織において偶然に正常アリルで高メチル化による不活性化が起きるといった「エピジェネティックなゆらぎ」によって分子レベルで説明できる可能性がある。さらに遺伝学での基本となる配列変異とは異なり、DNAメチル化状態には可塑性があるという大きな特徴がある。DNAメチル化のゆらぎがハプロ不全型優性遺伝病の浸透度や表現度に直接影響を及ぼすとすると、DNAメチル化阻害剤などによる低メチル化誘導によって新しい治療の糸口を示すことができるかもしれない。逆に、積極的な高DNAメチル化状態への誘導により実際の発症形態に近い病態モデル動物の作出につながる可能性も秘めていると考えられる。

参考文献

- Aubart M, Gross MS, Hanna N, Zobot MT, Sznajder M, Detaint D, Gouya L, Jondeau G, Boileau C and Stheneur C. (2015): The clinical presentation of Marfan syndrome is modulated by expression of wild-type FBN1 allele. *Human Molecular Genetics*. 24: 2764–2770. 2015.
- Baker KE and Parker R. (2004): Nonsense-mediated mRNA decay: terminating erroneous gene expression. *Current Opinion in Cell Biology*. 16: 293–299. 2004.
- Byers PH. (2004): Determination of the molecular basis of Marfan syndrome: a growth industry. *Journal of Clinical Investigation*. 114: 161–163. 2004.
- Carrier L, Schlossarek S, Willis MS and Eschenhagen T. (2010): The ubiquitin-proteasome system and nonsense-mediated mRNA decay in hypertrophic cardiomyopathy. *Cardiovascular Research*. 85: 330–338. 2010.
- Chang YF, Imam JS and Wilkinson MF. (2007): The nonsense-mediated decay RNA surveillance pathway. *Annual Reviews of Biochemistry*. 76: 51–74. 2007.
- Cook DL, Gerber AN and Tapscott SJ. (1998): Modeling stochastic gene expression: implications for haploinsufficiency. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 95: 15641–15646. 1998.
- Dietz HC, Cutting CR, Pyeritz RE, Maslen CL, Sakai LY, Corson GM, Puffenberger EG, Hamosh A, Nanthakumar EJ, Curristin SM, Stetten G, Meyers DA and Francomano CA. (1991): Marfan syndrome caused by a recurrent de novo missense mutation in the fibrillin gene. *Nature*. 352: 337–339. 1991.
- Gardiner-Garden M and Frommer M. (1987): CpG islands in vertebrate genomes. *Journal of Molecular Biology*. 196: 261–282. 1987.
- Hattori N, Imao Y, Nishino K, Hattori N, Ohgane J, Yagi S, Tanaka S and Shiota K. (2007): Epigenetic regulation of *Nanog* gene in embryonic stem and trophoblast stem cells. *Genes to Cells*. 12: 387–396. 2007.
- Hutchinson S, Furger A, Halliday D, Judge DP, Jefferson A, Dietz HC, Firth H and Handford PA. (2003): Allelic variation in normal human FBN1 expression in a family with Marfan syndrome: a potential modifier of phenotype? *Human Molecular Genetics*. 12: 2269–2276. 2003.
- Imamura T, Ohgane J, Ito S, Ogawa T, Hattori N, Tanaka S and Shiota K. (2001): CpG island of rat sphingosine kinase-1 gene: tissue-dependent DNA methylation status and multiple alternative first exons. *Genomics*. 76: 117–125. 2001.
- Izarray RA, Ladd-Acosta C, Wen B, Wu Z, Montano C, Onyango P, Cui H, Gabo K, Rongione M, Webster M, Ji H, Potash JB, Sabunciyan S and Feinberg AP. (2009): The human colon cancer methylome shows similar hypo- and hypermethylation at conserved tissue-specific CpG island shores. *Nature Genetics*. 41: 178–186. 2009.
- Jones PA and Laird PW. (1999): Cancer-epigenetics comes of age. *Nature Genetics*. 21: 163–167. 1999.
- Jones P and Baylin S. (2002): The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nature Review Genetics*. 3: 415–428. 2002.
- Judge DP, Biery NJ, Keene DR, Geubtner J, Myers L, Huso DL, Sakai LY and Dietz HC. (2004): Evidence for a critical contribution of haploinsufficiency in the complex pathogenesis of Marfan syndrome. *The Journal of Clinical Investigation*. 114: 172–181. 2004.
- Judge DP and Dietz HC. (2005): Marfan's syndrome. *The Lancet*. 366: 1965–1976. 2005.
- Josse J, Kaiser AD and Kornberg A. (1961): Enzymatic Synthesis of Deoxyribonucleic Acid. VIII. Frequencies of nearest neighbor base sequences in deoxyribonucleic acid. *The Journal of Biological Chemistry*. 236: 864–875. 1961.
- Lander E et al. (International Human Genome Sequencing Consortium) (2001): Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 409: 860–921. 2001.
- Lejeune F, Li X and Maquat LE. (2003): Nonsense-Mediated mRNA Decay in Mammalian Cells Involves Decapping, Deadenylating, and Exonucleolytic Activities. *Molecular Cell*. 12: 675–687. 2003.
- Lejeune F and Maquat LE. (2005): Mechanistic links between nonsense-mediated mRNA decay and pre-mRNA splicing in mammalian cells. *Current Opinion in Cell Biology*. 17: 309–315. 2005.
- Lima BL, Santos EJ, Fernandes GR, Merkel C, Mello MR, Gomes JP, Soukoyan M, Kerkis A, Massironi SM, Visintin JA and Pereira LV. (2010): A new mouse model for marfan syndrome presents phenotypic variability associated with the genetic background and overall levels of Fbn1 expression. *PLoS One*. 5: e141316. 2010.
- Maquat LE. (2004): Nonsense-mediated mRNA decay: splicing, translation and mRNP dynamics. *Nature Review Molecular Cell Biology*. 5: 89–99. 2004.
- Nicholson P, Yepiskoposyan H, Metzke S, Zamudio Orozco R,

- Kleinschmidt N and Muhlemann O. (2010): Nonsense-mediated mRNA decay in human cells: mechanistic insights, functions beyond quality control and the double-life of NMD factors. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 67: 677-700. 2010.
- Ohgane J, Wakayama T, Senda S, Yamazaki Y, Inoue K, Ogura A, Marh J, Tanaka S, Yanagimachi R and Shiota K. (2004): The Sall3 locus is an epigenetic hotspot of aberrant DNA methylation associated with placentomegaly of cloned mice. *Genes to Cells*. 9: 253-260. 2004.
- Reik W and Walter J. (2001): Genomic imprinting: parental influence on the genome. *Nature Review Genetics*. 2: 21-32. 2001.
- Reik W. (2007): Stability and flexibility of epigenetic gene regulation in mammalian development. *Nature*. 447: 425-432. 2007.
- Russo VEA, Martienssen RA and Riggs AD. (1996): Introduction. In: *Epigenetic mechanisms of gene regulation* (Russo VEA, Martienssen RA and Riggs AD ed.). pp. 1-4. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York. 1996.
- Robinson PN, Booms P, Katzke S, Ladewig M, Neumann L, Palz M, Pregla R, Tiecke F and Rosenberg T. (2002): Mutations of FBN1 and genotype-phenotype correlations in Marfan syndrome and related fibrillinopathies. *Human Mutation*. 20: 153-161. 2002.
- Shiota K, Kogo Y, Ohgane J, Imamura T, Urano A, Nishino K, Tanaka S and Hattori N. (2002): Epigenetic marks by DNA methylation specific to stem, germ and somatic cells in mice. *Genes to Cells*. 7: 961-969. 2002.
- Strachan T and Read A. (村松正實・木南 凌 監修). *ヒトの分子遺伝学*. 第4版. p84. メディカル・サイエンス・インターナショナル. 東京. 2011.
- Suzuki Y, Tsunoda T, Sese J, Taira H, Mizushima-Sugano J, Hata H, Ota T, Isogai T, Tanaka T, Nakamura Y, Suyama A, Sakaki Y, Morishita S, Okubo K and Sugano S. (2001): Identification and characterization of the potential promoter regions of 1031 kinds of human genes. *Genome Research*. 11: 677-684. 2001.
- Swartz MN, Trautner TA and Kornberg A. (1962): Enzymatic Synthesis of Deoxyribonucleic Acid XI. Further studies on nearest neighbor base sequences in deoxyribonucleic acids. *The Journal of Biological Chemistry*. 237: 1961-1967. 1962.
- Sugimura T and Ushijima T. (2000): Genetic and epigenetic alterations in carcinogenesis. *Mutation Research*. 462: 235-246. 2000.
- Tate PH and Bird AP. (1993): Effects of DNA methylation on DNA-binding proteins and gene expression. *Current Opinion in Genetics & Development*. 3: 226-231. 1993.
- Umeyama K, Watanabe M, Saito H, Kurome M, Tohi S, Matsunari H, Miki K and Nagashima H. (2009): Dominant-negative mutant hepatocyte nuclear factor 1alpha induces diabetes in transgenic-cloned pigs. *Transgenic Research*. 18: 697-706. 2009.
- Waddington CH. A Discussion of Some Aspects of Theoretical Biology. In: *The Strategy of the Genes*. (Waddington CH ed.). London George Allen and Unwin., London. 1957.
- Yagi S, Hirabayashi K, Sato S, Li W, Takahashi Y, Hirakawa T, Wu G, Hattori N, Hattori N, Ohgane J, Tanaka S, Liu XS and Shiota K. (2009): DNA methylation profile of tissue-dependent and differentially methylated regions (T-DMRs) in mouse promoter regions demonstrating tissue-specific gene expression. *Genome Research*. 18: 1969-1978. 2009.
- 塩田邦郎・服部 中. *DNAメチル化研究法*. 第1版. 85-93. 学会出版センター. 東京. 2006.