

[別紙 2]

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 吉 川 真 弘

本研究は、不可逆的な病態と考えられている慢性腎不全の新たな治療法を探るべく、培養ヒト近位尿細管上皮細胞における TGF- β 1 誘導性の EMT およびそれに伴う腎線維化が、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤である TSA によって抑制されるかを検討するとともに、chromatin remodeling の関与を検証したものであり、以下の結果を得ている。

1. 培養ヒト近位尿細管上皮細胞に対して TGF- β 1 および TSA を作用させ、細胞形態変化や、上皮 marker 遺伝子 E-cadherin および線維化 marker 遺伝子 Collagen type I の発現変化を調べた。TGF- β 1 誘導性の線維化に伴う紡錘状の細胞形態変化、E-cadherin の減少、Collagen type I の増加は、すべて TSA によって抑制された。TSA は上皮細胞の phenotype を維持する方向に働き、また TGF- β 1 が有する線維化作用に拮抗することが示唆された。
2. 次に TSA が、TGF- β 1 の signal 経路のどの段階で拮抗しているかを検討するために、Smad2 および Smad3 のリン酸化の変化を調べた。TGF- β 1 による Smad2 および Smad3 のリン酸化は、TSA では抑制されていなかった。TSA は Smad2 および Smad3 のリン酸化よりも下流の段階で、TGF- β 1 の線維化作用に拮抗することが示された。
3. 過去の報告上、TGF- β 1 誘導性の線維化に拮抗し得る因子について、その遺伝子発現の変化を調べた。検討した BMP-7, HGF, Ski, SnoN, TGIF, Id1, 2, 3 の中で、Id2, BMP-7, TGIF の遺伝子発現が TSA の作用によって増加することが示された。

4. これまでに認められた遺伝子発現の増加が、TSAによる chromatin remodeling の結果であるかを検討した。まず Western-Blot による解析で、TSA の作用により acetylated histone の総量が増加することが示された。更に、個々の遺伝子が chromatin remodeling の影響を受けているかを検討するため、上皮 marker である E-cadherin と、抗線維化因子である Id2 および BMP-7 遺伝子について、chromatin immunoprecipitation による解析で、promoter 領域の acetylated histone が増加しているかを調べた。その結果、TSA の作用により、E-cadherin 遺伝子の promoter 領域では acetylated histone H3 と H4 が、Id2 遺伝子の promoter 領域では acetylated histone H3 が、BMP-7 遺伝子の promoter 領域では acetylated histone H4 が、有意に増加していた。以上より、TSA による E-cadherin, Id2, BMP-7 の遺伝子発現増加は、chromatin remodeling を介していることが示された。

以上、本論文は、培養ヒト近位尿細管上皮細胞における TGF- β 1 誘導性の EMT およびそれに伴う腎線維化が、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤である TSA で抑制されることを示した。本研究はこれまで検討されたことが無かった、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の腎線維化抑制作用をヒトの細胞を用いて明らかにし、その機序の一端としてクロマチンリモデリングの関与を示したことで、慢性腎不全に対する新たな治療法の可能性を示しており、学位の授与に値するものと考えられる。