

腹膜線維化に対する H3K4 メチル化酵素 (SET7/9) 阻害薬の効果

田村 亮 土井盛博 正木崇生

広島大学病院腎臓内科

key words : 腹膜線維化, ヒストンメチル化

要 旨

腹膜透析は、低コストで患者の Quality of Life が高く、血液透析と比較して残腎機能の保持や循環動態の安定などの利点を有する優れた治療方法である。しかしながら、腹膜透析の長期継続は、腹膜線維化による腹膜機能の低下を惹起し、治療の継続が困難となるため、腹膜の線維化を抑制することが重要である。

線維化の病態は、DNA の塩基配列の異常ではなく遺伝子の発現パターンの変化であることが明らかになっており、この DNA 塩基配列の変化を伴わない後天的な遺伝子制御機構であるエピジェネティクスには DNA のメチル化、非転写 RNA、ヒストンテールの修飾など様々であるが、ヒストンテールのメチル化は、特異的な酵素で制御されている。この中で、SET7/9 は H3K4 のメチル化を誘導し、線維化に関与することが明らかになっている。われわれは以前に、TGF- β 1 刺激によって H3K4 メチル化酵素である SET7/9 が上昇し、H3K4 モノメチル化を介して腎線維化を促進することを報告したが¹⁾、過去に腹膜線維化と SET7/9 の関与について明らかにした報告はない。

本研究では、腹膜線維化にヒストンメチル化の関与を明らかにしたうえで、その阻害が腹膜線維化を抑制できるかを検討する。

1 目 的

本研究の目的は、腹膜の線維化に至る過程において、ヒストンメチル化酵素の SET7/9 の発現亢進を介した H3K4 のメチル化の関与を証明し、SET7/9 阻害薬が腹膜線維化の抑制に有用であることを明らかにすることである。

2 方 法

2-1 臨床研究

腹膜透析患者の透析排液から非付着細胞を抽出して、ウエスタンブローディング (WB) を行い、SET7/9 の発現を確認し健常者と比較する。

2-2 動物実験

10 週齢の C57BL/6J マウスに MGO (40 mM/2.5 mL) を 3 週間、腹腔内に投与して腹膜線維化モデルを作製し、SET7/9 阻害薬の sinefungin 皮下投与により腹膜線維化が抑制されるかを検討する。

①生理食塩液腹注マウス、②MGO 腹注マウス、③MGO 腹注 + sinefungin 皮下注マウスの 3 群 (各群 5 匹) を作製して腹膜の組織学的な評価を行う。加えて、腹膜機能評価のために腹膜平衡試験を行う。4.25% ブドウ糖透析液 4 mL を 10 分間貯留した後に排出することで小分子除去能、限外濾過能を評価する。透析排液中の TGF- β 1 の発現も ELISA にて評価する。

Inhibition of the H3K4 methyltransferase SET7/9 ameliorates peritoneal fibrosis

Department of Nephrology, Hiroshima University Hospital

Ryo Tamura

Shigehiro Doi

Takao Masaki

2-3 細胞実験

ヒト腹膜中皮細胞 (HPMC) を用いて, TGF- β 1 刺激を行う。TGF- β 1 刺激によって SET7/9 が発現すること, 筋線維芽細胞への形質転換やヒストンのメチル化の亢進を SET7/9 阻害薬によって抑制できるかについて WB を用いて検討する。

3 結果と考察

健常者では SET7/9 発現は認めなかったが, 長期腹膜透析患者においては顕著に発現が亢進しており, SET7/9 発現の強さも透析年数との相関を認めた。

動物実験では上記 3 群に対して腹膜の組織学的評価を行った結果, マッソントリクローム染色では, sinefungin 群が有意に腹膜の肥厚を抑制した。免疫染色では, 間葉系マーカーである α -SMA や細胞外マトリックスマーカーであるコラーゲン I, III の発現も sinefungin が有意に抑制した。H3K4me1 についても sinefungin 群で有意に抑制を示した。CD68 や TGF- β 1 に関しては有意差を認めなかった。腹膜平衡試験では, sinefungin 投与によって, 限外濾過能や溶質除去能が改善しており, 腹膜機能の回復を認めた。排液中 TGF- β 1 値に関しては有意差を認めなかった。

細胞実験では, TGF- β 1 刺激によって H3K4me1 の発現が亢進し, 上皮間葉移行のマーカーである α -SMA, fibronectin の発現亢進, ZO-1 の発現低下を認めた。sinefungin を投与すると, H3K4me1 は低下し, それに伴って α -SMA, fibronectin は低下, ZO-1 は上昇し, 細胞の線維化が抑制された。

今回われわれは, 腹膜線維化の過程において, TGF- β 1 による SET7/9 発現亢進の結果, H3K4 モノ

メチル化が亢進し, 筋線維芽細胞の発現増加によって腹膜線維化が進行することを明らかにした。また, SET7/9 阻害薬である sinefungin の投与によって, H3K4 のモノメチル化が抑制されると, TGF- β 1 の低下を認め, 筋線維芽細胞の発現も低下することで腹膜線維化が抑制され, 腹膜機能も保持されたと考えられた。

4 結論

今回われわれは, 腹膜線維化と H3K4 のメチル化の関係を初めて示した。また, ヒストンメチル化酵素阻害薬である sinefungin を投与することで, メチルグリオキサールによるマウス腹膜線維化モデルに対して, 抗線維化効果を検討した。結果, sinefungin は H3K4 モノメチル化の抑制を介して, 腹膜線維化が抑制されることが明らかになった。

平成 28 年度日本透析医会公募研究助成により得られた結果は, 原著論文として投稿中のため, 二重投稿となることを避け, 本報告書ではその概要を総説的に記載した。

利益相反自己申告: この論文に関して申告すべきものなし。

文 献

- 1) Sasaki K, Doi S, Nakashima A, et al. : Inhibition of SET domain-containing lysine methyltransferase 7/9 ameliorates renal fibrosis. J Am Soc Nephrol 2016; 27 : 203-215.