

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	前田 和也
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 Inhibition of H3K9 methyltransferase G9a ameliorates methylglyoxal-induced peritoneal fibrosis (ヒストン H3K9 メチル化酵素 G9a の阻害はメチルグリオキサールによる腹膜線維化を抑制する)			
論文審査担当者			
主査	教授 酒井 規雄	印	
審査委員	教授 田代 聡		
審査委員	准教授 亭島 淳		
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>腹膜透析は、患者の生活の質を向上させるのみでなく、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、長期間の腹膜透析により、腹膜障害が惹起され、透析継続が困難となる。このため、腹膜透析の継続には、腹膜障害を予防することが必須である。DNA の塩基配列の変化を伴わない後天的な遺伝子制御の機構の1つとして、ヒストンのメチル化がある。ヒストン H3 における9番目のリジン残基(H3K9)のメチル化酵素である G9a が活性化されると、ヘテロクロマチン形成が促進されることで転写活性が低下し、線維化の進行に関与することがわかっている。本研究では、腹膜線維化に至る過程において G9a の発現亢進を介した H3K9 のメチル化の関与を明らかにした上で、その抑制が腹膜の線維化を抑制できるかを検討した。</p> <p>動物実験では、10 週齢の C57BL/6 マウスに 40mM のメチルグリオキサール(MGO)を3週間、腹腔内に投与することによって腹膜線維化モデルを作製し、選択的 G9a 阻害薬 BIX01294(75µg/日)を同時に皮下投与することで、腹膜線維化が抑制されるかを検討した。免疫染色によって線維化マーカーや炎症マーカーの発現と、H3K9 メチル化の状態を評価し、腹膜機能評価として腹膜平衡機能検査を行い、腹腔内排液中の TGF-β 1 の発現も併せて検討した。</p> <p>細胞実験では、ヒト腹膜中皮細胞(HPMC)を用いて、TGF-β 1 刺激により G9a が発現すること、細胞の線維化やヒストンのメチル化の亢進が BIX01294 により抑制できるかどうか検討した。加えて、腹膜透析患者の透析排液から非接着細胞を抽出して培養を行い、G9a の発現を確認した。</p> <p>動物実験において、BIX01294 は、MGO マウス腹膜の細胞密度、腹膜肥厚を抑制し、腹膜組織では間葉系マーカーである α-smooth muscle actin (α-SMA)、細胞外基質である</p>			

type I, III collagen の発現を低下させた。更に, 単球/マクロファージの浸潤を抑制し, TGF- β 1 発現を低下させた。加えて, H3K9 モノメチルの発現も低下させた。また, BIX01294 は腹膜機能を保持し, 排液中の TGF- β 1 を低下させた。

細胞実験では, HPMC に TGF- β 1 刺激をすることで G9a の発現は亢進が確認され, TGF- β 1 刺激により誘導される H3K9 モノメチル化や線維化マーカーの発現亢進は BIX01294 投与により抑制された。腹膜透析患者の透析排液由来の非接着細胞でも G9a 発現亢進が認められた。

本研究において, TGF- β 1 によって誘導される G9a の発現亢進が, 腹膜線維化に関与することが明らかになった。具体的には, H3K9 モノメチル化によって何らかの抗線維化蛋白, 抗炎症蛋白の転写活性低下が惹起され, TGF- β 1 の発現が上昇することで線維化に至ると考えられた。一方で選択的 G9a 阻害薬の BIX01294 を投与すると上記の機序と反対に TGF- β 1 の発現低下をきたし, 線維化抑制につながったと考えられた

本研究により, BIX01294 は, メチルグリオキサールによる腹膜線維化を抑制することが明らかとなった。このことは, 腹膜透析の副作用の病態理解と対処方法の確立に資するところ大である。以上より, 審査委員会委員全員は, 本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値のあるものと認めた。

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	前田 和也
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 Inhibition of H3K9 methyltransferase G9a ameliorates methylglyoxal-induced peritoneal fibrosis (ヒストン H3K9 メチル化酵素 G9a の阻害はメチルグリオキサールによる腹膜線維化を抑制する)			
最終試験担当者 主査教授 酒井 規雄 印 審査委員 教授 田代 聡 審査委員 准教授 亭島 淳			
〔最終試験の結果の要旨〕 判 定 合 格 上記3名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成29年5月8日の第69回広島大学研究科発表会（医学）及び平成29年4月26日の本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。 1 腹膜透析の実際 2 メチルグリオキサールによる腹膜線維化の発生メカニズム 3 生体内における G9a の分布とその機能抑制によって予想される効果 4 腹膜以外の臓器における線維化と G9a の関連 5 BIX01294 による TGF- β 1 抑制の機序 6 実臨床における腹膜線維化抑制効果を期待できる薬剤 これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。			