

論文内容要旨

TGF- β 1 promotes expression of fibrosis-related genes through the induction of histone variant H3.3 and histone chaperone HIRA

(TGF- β 1 はヒストンバリエント H3.3 とヒストンシャペロン HIRA の誘導を介して線維化関連遺伝子発現を促進する)

Scientific Reports 8, Article number: 14060, 2018.

主指導教員：正木 崇生教授

(医歯薬保健学研究科 腎臓内科学)

副指導教員：茶山 一彰教授

(医歯薬保健学研究科 消化器・代謝内科学)

副指導教員：松原 昭郎教授

(統合健康科学部門 腎泌尿器科学)

進藤稔弘

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

(背景・目的)

クロマチンの基本構成単位は、147塩基対のDNAがヒストンH2A、H2B、H3、H4、各2分子ずつからなるコアヒストンの周囲に1.75回巻きついて形成されるヌクレオソームである。コアヒストンのアミノN末端領域はアセチル化、メチル化、リン酸化、ユビキチン化などの化学修飾を受け、修飾されたヒストンはそれを認識して結合する因子のターゲットとなる。また、ヒストンH2A、H2B、H3にはヒストンバリエーションとよばれる亜種が通常型ヒストンとは異なった非対立遺伝子としてゲノムDNAにコードされている。これらのヒストンバリエーションが特定のゲノムDNA領域に取り込まれることによって、特定の領域での遺伝子発現調整がクロマチン構造を介して行うことが明らかとなってきた。なかでもH3.3は、転写が活発に行われている遺伝子が存在するクロマチン領域に細胞周期に関係なく取り込まれる。ヒストンバリエーションを制御しているのがヒストンシャペロンと呼ばれるタンパク質群でありH3.3と特異性の高いものとしてHIRAが挙げられる。H3.3は転写活性を亢進するため、腎線維化の進展過程におけるtransforming growth factor (TGF)- β 1による細胞外基質の産生などに関与している可能性がある。本研究では、H3.3と特異性の高いHIRAの腎線維化への関与を検討した。

(方法)

- ①線維化のモデルとしてマウス片側尿管結紮モデル (UUO: unilateral ureter obstruction) を用いた。7日後に屠殺しUUOマウスにおける腎線維化とH3.3、HIRAの関連を検討した。
- ②UUOマウスにTGF- β 1の中和抗体を腹腔内投与し、腎線維化の過程でH3.3、HIRAとTGF- β 1シグナル経路の関連を検討した。
- ③ラットの腎近位尿細管上皮細胞 (NRK-52E) と腎間質線維芽細胞 (NRK-49F) を用いた培養実験系で、TGF- β 1刺激によるH3.3とHIRAのタンパク発現量を様々なTGF- β 1濃度で経時的に検討した。
- ④TGF- β 1刺激したNRK-52EにSmad3のsiRNAを投与し、TGF- β 1シグナル経路におけるH3.3とHIRA発現の詳細なメカニズムについて検討した。
- ⑤TGF- β 1刺激したNRK-52EにHIRAのsiRNAを投与し、HIRAをノックダウンした際のH3.3や線維化関連遺伝子発現の変化を検討した。
- ⑥TGF- β 1刺激したNRK-52EにTGF- β 1中和抗体を投与し、H3.3とHIRAの抗体を用いてクロマチン免疫沈降を行い線維化関連遺伝子に対するH3.3、HIRAの関与を検討した。
- ⑦ヒトの腎生検組織を用いて、ヒトにおける腎線維化とH3.3とHIRAの関連を検討した。

(結果)

- ①UUOマウスにおいて腎線維化が確認され、さらにH3.3とHIRAのmRNAとタンパク発現がともに亢進していた。
- ②UUOマウスにTGF- β 1の中和抗体を腹腔内投与すると腎線維化が抑制されるとともにH3.3、HIRAのmRNAとタンパク発現も抑制されておりH3.3、HIRA発現がTGF- β 1シグナル経路と

関連することが示唆された。

③NRK-52E と NRK-49F に TGF- β 1 刺激すると刺激後 24 時間をピークとした経時的な H3.3 と HIRA のタンパク発現量の増加を認めた。

④TGF- β 1 刺激した NRK-52E に Smad3 の siRNA を投与すると H3.3 と HIRA の発現が抑制され、TGF- β 1 シグナルにおいて H3.3、HIRA 発現は Smad 経路を介していることが示唆された。

⑤TGF- β 1 刺激した NRK-52E に HIRA の siRNA を投与し、HIRA をロックダウンすると H3.3 発現が抑制され、さらに線維化マーカーである α -Smooth muscle actin の発現も抑制されていた。

⑥クロマチン免疫沈降では TGF- β 1 刺激により線維化関連遺伝子の Smad 結合領域において H3.3、HIRA が増加していた。TGF- β 1 中和抗体投与によってその増加が抑制されたことから、TGF- β 1 が H3.3、HIRA の発現、誘導を介して線維化関連遺伝子発現の調整をしていることが考えられた。

⑦ヒトの腎生検組織において腎線維化の程度と H3.3、HIRA はともに正の相関関係を示した。

(結語)

本研究で TGF- β 1 は H3.3、HIRA の発現、誘導を介して線維化関連遺伝子発現を促進することが示された。さらにヒトにおいても腎線維化と H3.3、HIRA の関連が示され、HIRA が慢性腎不全による腎線維化の新たな治療ターゲットとなりうる可能性が示唆された。