

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	田村 亮
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 H3K4 methyltransferase SET7/9 ameliorates peritoneal fibrosis (ヒストン H3K4 メチル化酵素 SET7/9 の阻害は腹膜線維化を抑制する)			
論文審査担当者			
主査	教授	田代 聡	印
審査委員	教授	志馬 伸朗	
審査委員	准教授	伊藤 公訓	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>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。腹膜線維化の過程に、TGF-β1 が重要な役割を果たすことが知られているが、TGF-β1 は線維化促進作用の他に、抗炎症作用を有しているため、長期にわたる TGF-β1 シグナルの抑制は、血管炎などの炎症性疾患を惹起することが知られており、その臨床応用は困難であった。線維化の過程は、正常細胞の機能消失と筋線維芽細胞への形質転換、筋線維芽細胞から細胞外マトリックス蛋白の産生である。この過程を転写活性で分類すると、正常細胞の機能消失は転写活性を負に、筋線維芽細胞の機能獲得や細胞外マトリックス蛋白の産生は、転写活性を正に制御していると考えられることができる。このすべての過程に、TGF-β1 が関与していることが報告されているが、従来のセントラルドグマでは、何らかの刺激による遺伝子発現の変化は説明することができなかった。近年、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た。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ため、治療ターゲットとして魅力的である。TGF-β1 刺激によって、ヒストン H3 における 4 番目のリジン残基（H3K4）のメチル化酵素である SET7/9 が上昇することが報告されており、SET7/9 が活性化されると、線維化遺伝子の転写活性が亢進することがわかっている。また、SET7/9 によるヒストンのメチル化は S-アデノシルメチオニン（SAM）依存的に行われており、sinefungin は SAM と競合することで SET7/9 によるメチル化を抑制するとされている。本研究では、腹膜線維化に至る過程において SET7/9 の発現亢進を介した H3K4 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</p>			

るかを検討した。

10週齢 C57/BL6 (オス) にメチルグリオキサール (MGO) を 21 日間、腹腔内投与して腹膜線維化モデルを作製する。同時に SET7/9 阻害薬である sinefungin の皮下投与を行い、腹膜への有用性を検討した。MGO マウスにおいて SET7/9 の発現亢進を認め、MGO マウスに sinefungin を投与することにより、H3K4 モノメチル化 (me1) が低下し、腹膜線維化の抑制が認められ、腹膜機能・限外濾過能低下の改善も認めた。また、MGO マウスに対する sinefungin 投与による排液中の TGF-β1 濃度は有意差を認めなかった。続いて、ヒト腹膜中皮細胞 (以下 HPMC) に対する TGF-β1 刺激による SET7/9 発現、H3K4 メチル化の変化や線維化マーカーの発現、および腹膜透析患者の透析排液由来の中皮細胞における SET7/9 発現と腹膜機能低下との相関を検討した。HPMC に TGF-β1 刺激をすることで SET7/9 の発現は亢進し、TGF-β1 刺激により誘導される H3K4 モノメチル化や線維化マーカーの発現亢進は sinefungin 投与により抑制された。また、腹膜透析患者の透析排液由来の細胞でも SET7/9 発現亢進および腹膜機能低下との相関が認められた。

本研究において、SET7/9 阻害薬である sinefungin の投与により H3K4me1 の抑制を介して腹膜線維化および腹膜機能を改善することが証明された。さらに、腹膜透析患者の排液において腹膜透析患者で SET7/9 の発現が亢進しており、腹膜機能の低下と有意な相関が認められたことを示し、SET7/9 の阻害が腹膜線維化抑制に対する新たな治療の選択肢となる可能性が示唆された。

よって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	田村 亮
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 H3K4 methyltransferase SET7/9 ameliorates peritoneal fibrosis (ヒストン H3K4 メチル化酵素 SET7/9 の阻害は腹膜線維化を抑制する)			
最終試験担当者			
主査	教授	田代 聡	印
審査委員	教授	志馬 伸朗	
審査委員	准教授	伊藤 公訓	
〔最終試験の結果の要旨〕			
判 定 合 格			
<p>上記3名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成31年2月7日の第78回広島大学研究科発表会（医学）及び平成31年2月7日日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。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 TGF-β1 の線維化に至る機序について、また線維化抑制に対する不利益について 2 MGO によって TGF-β1 が活性化される機序について 3 SET7/9 阻害剤を臨床応用する場合に解決すべき課題について 4 SET7/9 発現の腹膜透析歴による経時的変化について 5 腹膜透析液のグルコース以外の浸透圧物質使用について 6 sinefungin の作用機序および他の抗真菌薬について <p>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。</p>			