

主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	菱 川 彰 人
主 論 文 題 名				
Decreased KAT5 Expression Impairs DNA Repair and Induces Altered DNA Methylation in Kidney Podocytes (ポドサイトにおけるKAT5発現低下はDNA修復不全およびDNAメチル化変化を惹起する)				
(内容の要旨)				
<p>腎糸球体ポドサイト (Pod) における転写因子Kruppel-like factor 4 (KLF4) を介した遺伝子特異的なエピゲノム調節機構が慢性腎臓病の病態に関与している可能性を報告したが詳細な分子機序は不明であった。近年、DNA二本鎖切断 (DNA double-strand break: DSB) がDNAメチル化を誘導する可能性が示唆されており、今回エピゲノム変化形成プロセスにおけるDNA損傷修復応答の関与に着目した。本研究においては、DNA修復因子であり、かつKLF4相互作用タンパクと報告のあるヒストンアセチル化酵素lysine acetyltransferase 5 (KAT5) の役割を検討した。まず、Podにおける生理的役割を明らかにするためPod特異的KAT5ノックアウトマウス (KO) を作成したところ、巣状分節性糸球体硬化症を呈し、腎不全により6週齢前後で死亡した。KOでは糸球体におけるDSBマーカーγH2AXおよびDNAメチル化の亢進が認められ、TUNEL陽性Pod、cleaved caspase-3、9陽性Podが増加し、Pod形質遺伝子ネフリンの発現低下、更に単離Podのバイサルファイトシーケンス解析によりネフリンプロモーター領域のDNAメチル化亢進を示したことから、Podのエピゲノム変化を伴った形質変化・アポトーシス増加が示唆された。更にPod発生期におけるKAT5の関与を除外するためTamoxifen誘導型KOを作成したが、KOと同様の表現型を示した。またKAT5をノックダウンしたヒト培養PodのG-band染色体解析では、DSB、遺伝子の不安定性を示唆する染色体異常の増加を認め、KAT5のDNA修復における生理的重要性が改めて示された。更にPodのKAT5発現がマウス糖尿病性腎症モデルおよびヒト腎生検検体において低下していることを見出した。糖尿病性腎症モデルにおいては糸球体DSB部位増加およびDNAメチル化亢進、ネフリン発現低下を認め、既報の遺伝子導入法を用いてKAT5を遺伝子導入することによりこれらの変化は改善し、尿アルブミンの増加および糸球体硬化が抑制され、KAT5による治療効果が示唆された。またヒト培養Podを用いた検討では、糖負荷でKAT5発現およびKAT5プロモーター活性が低下し、KAT5を過剰発現させると、ネフリン発現の改善、ネフリンプロモーター領域DNAメチル化低下、DNA methyltransferase 1, 3B結合低下および同領域におけるDSB部位減少を示した。</p> <p>以上の結果より、KAT5を介したDNA修復はPodの形質維持に生理的に必須であることが明らかとなった。更に糖尿病性腎症においてPodのKAT5低下が病態に関与しており、KAT5を介したDNA損傷修復がエピゲノム変化形成プロセスに関与し、新規治療標的になりうる可能性が示唆された。</p>				