

審査の結果の要旨

氏名 串田夏樹

本研究は、腎障害において重要な因子である低酸素と TGF- β の関係が、腎尿細管上皮細胞において、転写制御に与える影響を網羅的に解析したものであり、下記の結果を得ている。

1. RNA-seq および DNA microarray を用いて、低酸素刺激による経時的な遺伝子変化を、腎臓尿管上皮細胞のモデルである HK-2 細胞と血管内皮細胞由来の HUVEC で比較した。低酸素による遺伝子発現の変化に細胞特異性があることが示された。
2. HK-2 および HUVEC で HIF-1 α の ChIP-seq を行い、HIF-1 α のゲノム上における結合部位には細胞特異性があることが示された。また両方の細胞で、HIF-1 α の結合部位近傍に存在する遺伝子は、低酸素によって発現が上昇する傾向にあることが示された。
3. HIF-1 α の結合部位について Motif 解析を行い、HK-2 においては SMAD3 の認識配列が濃縮していることが示された。この結果から、腎尿細管上皮細胞において HIF-1 α と SMAD3 が共局在しているとの仮説を立てた。
4. HIF-1 α を誘導する刺激として低酸素、SMAD3 を誘導する刺激をして TGF- β を用いて、HK-2 の遺伝子の発現変化に与える影響を RNA-seq で調べた。249 個の遺伝子については、低酸素と TGF- β で同時に刺激した場合に発現が最も高くなること、その 249 個の遺伝子の中には線維化や apoptosis に関わる遺伝子が含まれていることを示した。
5. HK-2 で SMAD3 の ChIP-seq を行った。HIF-1 α と SMAD3 の共局在がゲノムワイドに存在することが示された。また TGF- β 刺激に、低酸素刺激を加えることによって SMAD3 の結合部位の数が、5159 個から 21710 箇所が増えることが示された。
6. 線維化に関係する遺伝子 COL1A1、SERPINE1、IGFBP3 の近傍で、SMAD3 の ChIP-qPCR を行った。低酸素で SMAD3 の結合が増加すること、この効果は HIF1A のノックダウンで消失することが示された。
7. 低酸素は HIF-1 α を介して、TGF- β による SMAD3 の結合を促進し、その下流の遺伝子の発現を上昇調節していると考えられた。

以上、本論文は尿管上皮細胞において、HIF-1 α の結合部位の網羅的解析から、低酸素が HIF-1 α を介して SMAD3 の結合を促進し、その下流の遺伝子の発現を亢進させることを明らかにした。腎障害の重要な原因である、低酸素と TGF- β が転写因子レベルでゲノムワイドに協調して作用することを示し、腎障害の機序の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。