

5 CKD-MBD の epigenetics

POINT

- 近年、糖尿病、高血圧など慢性疾患におけるエピジェネティクス (epigenetics) な解析が急速に進んでいる。
- CKD においても、その発症と進行にエピジェネティクスが深く関与しているという報告が多数されている。
- CKD-MBD におけるエピジェネティクスな報告はまだ少ないが、CKD-MBD に関与する遺伝子がエピジェネティックな修飾を受けることが徐々に明らかになってきている。
- CKD-MBD におけるエピジェネティック制御の分子機構が明らかになることにより、新たな創薬が開発される可能性を秘めている。

はじめに

一つの受精卵からさまざまな細胞群や組織、器官が形成されるということは同じゲノムをもつ細胞がまったく異なる細胞に変化できることを意味している。発生、再生、生殖細胞による遺伝情報の伝達など、細胞の基本的な特性はエピジェネティックに制御されている。エピジェネティクス (epigenetics) は、DNA の塩基配列の変化を伴わずに、細胞内外環境に応じた遺伝子発現調節を維持し、かつ娘細胞へ伝える (遺伝) 機構であり、「細胞記憶」の本態である。エピジェネティックな現象は DNA のメチル化、ヒストンの修飾、クロマチンリモデリングなどに代表され (図 6-5-1)、1940 年代 Conrad Hal Waddington 博士が提唱したとされている。しかしながら、その後の研究では、エピジェネティクスが生命現象の根幹に関わるにもかかわらず、X 染色体の不活化やゲノムインプリンティング、癌における DNA メチル化

異常と遺伝子発現抑制機構が概ね限られてきた。なぜなら本来、ヒトの病気の大半は遺伝要因と環境要因が複雑に絡まる多因子疾患であり、年齢、性別、生育環境、生活習慣に加え、多くの候補遺伝子が標的となる多様な成り立ちによるものであるが、おもに遺伝的要因に研究の主眼がおかれていたため、エピジェネティックな病気の発症機構の解明は遅れていたからである (図 6-5-2)。

エピゲノムとは塩基配列以外のすべての情報を意味する。近年エピゲノムの網羅的解析など解析技術の急速な進歩に伴い、環境要因がエピゲノムに重要な影響を与えることがわかってきている。エピゲノムは細胞内外の要因に動的に応答し、エピゲノムの変化が病気の発症や病態に深く関わっていることが示唆されている。なかでも肥満、高脂血症、糖尿病、高血圧、癌、アレルギー、精神疾患などの多因子疾患で近年さまざまな報告がなされており、たとえば高血圧症の発症に重要なレニン-アンジオテンシン系 (RAS) において、メチル化蛋白質の分解産物であるメチル

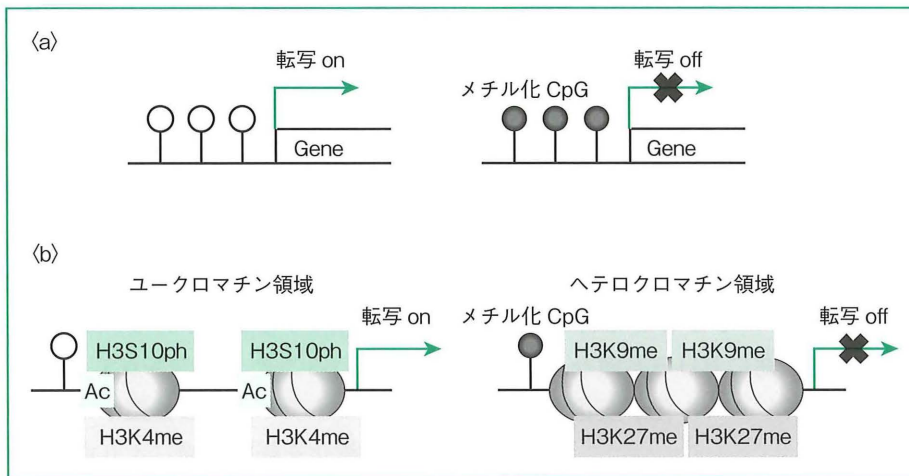


図 6-5-1 エピジェネティックコード

- a: 非メチル化 CpG は遺伝子のプロモーター領域にある CpG island に集中しており、この領域がメチル化されると遺伝子発現は強く抑制される。
- b: DNA メチル化や複数のヒストン修飾の組み合わせにより成立するヒストンコードがクロマチン高次構造と転写活性の関係を規定する。転写が活発な遺伝子は、ヒストンの高アセチル化 (Ac), H3K4 のメチル化 (me), H3S10 のリン酸化 (ph) などがみられ、一方、ヒストンの低アセチル化, H3K9 のメチル化, H3K27 のメチル化は転写抑制状態を示す。

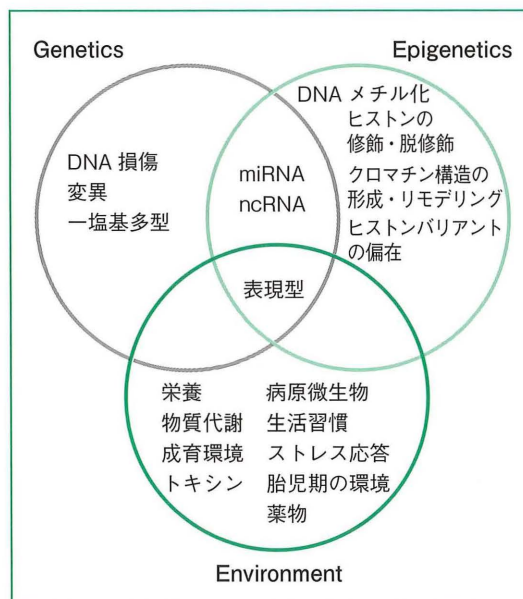


図 6-5-2 エピゲノムと多因子の影響

一つひとつの細胞は独自のエピジェネティックな特性をもち、それは環境要因と遺伝的要因に強く影響され、最終的に細胞、組織の表現型に反映される。したがって遺伝的要因はエピジェネティックな状況、環境を考慮しなければならず、それらの変化を検討しなければ遺伝的要因をはっきり理解することはできない。

[Dwivedi RS, et al: Kidney Int 2011; 79: 23-32 より改変]

化アルギニンがeNOSを阻害しNO産生を抑制, その結果, 昇圧物質として働くという報告¹⁾は大きな衝撃を与えた. またビタミンB₁₂欠乏食で離乳直後から100日間飼育し, ビタミンB₁₂欠乏状態となったラットの肝臓においてシスタチオン合成酵素の発現量が減少し, そのプロモーターの特定部位のDNAメチル化が減少していることが報告され²⁾, これは成長期や成獣期における食餌などの環境要因によってDNAメチル化が変化する可能性を示した.

I. CKD と epigenetics

CKDは単に腎機能の低下を意味するだけでなく, 貧血や骨粗鬆症, 易感染性などを引き起こし, 生体の恒常性を著しく変える重篤な疾患である. 2003年Ingrossoら³⁾により, 血液透析患者にみられる高ホモシステイン血症は葉酸欠乏による低メチオニン状態にあることが報告され, これらの患者においてはDNAメチル化がゲノム全体で低下している場合があり, この低メチル化は葉酸を大量に投与することで回復した. ホモシステインの前駆物質であるSアデノシルホモシステインは, Sアデノシルメチオニン依存的メチル化酵素の非常に強力な拮抗因子であり, さまざまな高ホモシステイン血症の病態においてその増加が観察される. それは尿毒症も含まれ, DNAメチル化が変化するることにより起こるとされている. 実際, 増加したSアデノシルホモシステインはDNA低メチル化を引き起こし, 心血管系疾患を合併したCKD患者からも認められている. したがってエピジェネティックな修飾は腎疾患の進行や, CKD患者の心血管系疾患を合併した患者において非常に重要な役割を担っているであろうことは理論的に矛盾しない.

CKDにおけるエピジェネティクスの分野はまだ揺籃期であるが, 近年多くの報告がなされている. 腎疾患の発症と増悪にはRNA干渉が非常に重要であり⁴⁾, miRNAが糸球体恒常性の維持に必須である⁵⁾ことがわかってきている. さらに興味深いことに, RAS protein activator like 1遺伝子の高メチル化が腎臓における線維芽細胞の活性と線維化の持続に関連していることも報告されている⁶⁾. これはエピジェネティックな修飾が糸球体とその間質の線維化を転写調節により引き起こすことを示唆している. またCKD患者は異常な免疫応答を示し, 炎症性サイトカインを誘導することが知られている⁷⁾. さらにIL6がDNAメチルトランスフェラーゼ遺伝子の発現を調節することにより細胞内のエピジェネティックな変化を起こす可能性が示唆されており⁸⁾, このことは腎機能の低下により慢性炎症が惹起され, DNAメチル化に影響を及ぼす可能性を示唆している.

先進国の末期腎不全の原因としてもっとも共通して報告されている糖尿病に関しては, 胎児プログラミングによる影響⁹⁾, さらには後天的ゲノム修飾による影響¹⁰⁾など多数報告されており, またCKD患者におけるもっとも重要な死亡要因である心血管系疾患の原因となる粥状硬化の形成に, DNAメチル化異常の関与を示唆する報告も多数なされている¹¹⁾.

つまりCKDにおける炎症や代謝ストレスはエピジェネティックな変化を促進し, 遺伝子発現を変え, 異常な細胞機能を誘発する. CKDの進行においてエピジェネティックな修飾の理解を深めることは疾患進行の予測に非常に重要であり, CKDの進行を改善する治療戦略の標的となる可能性を秘めている.

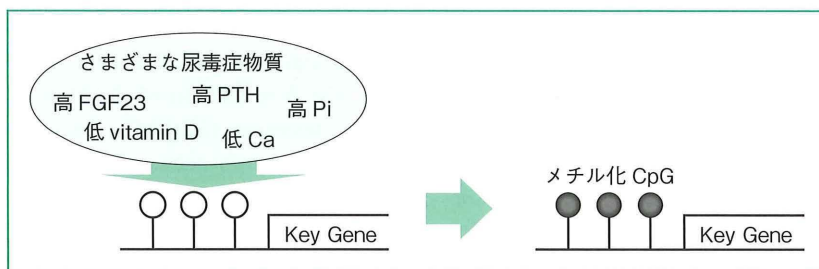


図 6-5-3 CKD がエピゲノムに及ぼす可能性

CKD が徐々に進展していく過程で、さまざまな因子の影響を受け、key gene のプロモーター領域の CpG island のメチル化や、ヒストンの修飾などエピジェネティックな変化が加わると考えられる。

II. CKD-MBD と epigenetics

CKD-MBD は血管を含む全身の石灰化に強く関連しており、冠動脈疾患や脳血管疾患などの高危険因子である。CKD の進行により主要臓器もその細胞外環境と並行して変化していくが、とくにミネラル調節ホルモンの中核を担う副甲状腺ホルモン (parathyroid hormone ; PTH) を産生する副甲状腺は、段階的にその形態と機能が変化していく。この病態は慢性的に変化していく細胞外環境に適応していることが強く考えられ、そこにはエピジェネティックな修飾が加わっている可能性が考えられる。

CKD-MBD において重要な役割を担う klotho 遺伝子が、マウス尿細管において uremic toxin であるインドキシル硫酸、p-クレシル硫酸処理により高メチル化を引き起こし、遺伝子発現が減少、腎線維化をもたらすことが報告された¹²⁾。当然予想されていたが、これは CKD においてミネラル恒常性に関与する遺伝子がエピジェネティックな修飾を受けることを証明したものであり、他の候補遺伝子でも何らかの修飾が加わっていると考えられる (図 6-5-3)。

筆者らは 5/6 腎摘ラットを用いて、二次性副

甲状腺機能亢進症の副甲状腺においてカルシウム感知受容体 (calcium sensing receptor ; CaSR) 遺伝子とビタミン D 受容体 (vitamin D receptor ; VDR) 遺伝子で高メチル化が引き起こされていることを確認している (筆者ら；未発表データ)。

おわりに

慢性疾患におけるエピジェネティックな修飾の重要性が認識され、世界中でさまざまな慢性疾患の解析が活発に行われているが、CKD-MBD における研究はまだまだ始まったばかりである。

現在 CKD-MBD の治療ターゲットは腸管でのリン吸収 (Pi 吸着薬)、VDR [1,25(OH)₂D 製剤] と CaSR (シナカルセト塩酸塩) だけである。ヒストン脱アセチル化阻害薬や脱メチル化剤が悪性腫瘍などに臨床応用されているが、CKD-MBD におけるエピジェネティック制御の分子機構が明らかになることにより新たな創薬が開発されることを期待したい。

文 献

- 1) Yamagata K, Daitoku H, Fukamizu A, et al : Arginine methylation of FOXO transcription

- factors inhibits their phosphorylation by Akt. *Mol Cell* 2008 ; 32 : 221-231
- 2) Uekawa A, Katsushima K, Yamamoto Y, et al : Change of epigenetic control of cystathionine beta-synthase gene expression through dietary vitamin B₁₂ is not recovered by methionine supplementation. *J Nutrigenet Nutrigenom* 2009 ; 2 : 29-36
 - 3) Ingrosso D, Cimmino A, Zappia V, et al : Folate treatment and unbalanced methylation and changes of allelic expression induced by hyperhomocysteinaemia in patients with uraemia. *Lancet* 2003 ; 361 : 1693-1699
 - 4) Harvey SJ, Jarad G, Miner JH, et al : Podocyte-specific deletion of *dicer* alters cytoskeletal dynamics and causes glomerular disease. *J Am Soc Nephrol* 2008 ; 19 : 2150-2158
 - 5) Ho JJ, Marsden PA : *Dicer* cuts the kidney. *J Am Soc Nephrol* 2008 ; 19 : 2043-2046
 - 6) Bechtel W, McGoohan S, Zeisberg M, et al : Methylation determines fibroblast activation and fibrogenesis in the kidney. *Nat Med* 2010 ; 16 : 544-550
 - 7) Raj DSC, Dominic EA, Moseley P, et al : Skeletal muscle, cytokines, and oxidative stress in end-stage renal disease. *Kidney Int* 2005 ; 68 : 2338-2344
 - 8) Hodge DR, Xiao W, Farrar WL, et al : Interleukin-6 regulation of the human DNA methyltransferase (HDNMT) gene in human erythroleukemia cells. *J Biol Chem* 2001 ; 276 : 39508-39511
 - 9) Park JH, Stoffers DA, Simmons RA, et al : Development of type 2 diabetes following intrauterine growth retardation in rats is associated with progressive epigenetic silencing of *Pdx1*. *J Clin Invest* 2008 ; 118 : 2316-2324
 - 10) El-Osta A, Brasacchio D, Brownlee M, et al : Transient high glucose causes persistent epigenetic changes and altered gene expression during subsequent normoglycemia. *J Exp Med* 2008 ; 205 : 2409-2417
 - 11) Laukkanen MO, Mannermaa S, Ylä-Herttuala S, et al : Local hypomethylation in atherosclerosis found in rabbit *ec-sod* gene. *Thromb Vasc Biol* 1999 ; 19 : 2171-2178
 - 12) Sun CY, Chang SC, Wu MS : Suppression of *Klotho* expression by protein-bound uremic toxins is associated with increased DNA methyltransferase expression and DNA hypermethylation. *Kidney Int* 2012 ; 81 : 640-650

(内山威人)