

腎臓領域におけるエピジェネティクスの進展

Evolution of epigenetics in kidney diseases

三村維真理

Imari MIMURA

要 旨

細胞の生存を維持し機能を果たす遺伝子の発現は、シーケンス配列による遺伝情報によって制御されるだけでなく、DNAのメチル化状態やDNAが巻き付くヒストンテールの修飾状態(メチル化、アセチル化など)によっても影響されることが、近年さまざまな研究から明らかにされてきた。また、遺伝子の塩基配列情報を転写・翻訳し蛋白を合成するプロセスにおいても、従来機能が知られていなかったRNA、すなわち非常に短く小さなmicroRNAの役割も糖尿病性腎症モデルをはじめとして次々に明らかにされている。これらの事実は、細胞の生存・維持に必要な情報がエピジェネティックな因子によっても制御されており、維持するための新たなメカニズムが存在していることを示唆している。腎臓分野においても、発生、癌、慢性炎症などさまざまな分野において、エピジェネティックな遺伝子制御機構が明らかとなりつつある。

本稿では、特にこの1年に報告された論文を中心に、腎臓領域において新たに明らかにされてきたエピジェネティックな機構およびその展望を紹介する。DNAメチル化、ヒストン修飾、microRNA、ヒストンバリエーション、クロマチン構造など、さまざまなエピゲノム因子がどのように腎臓の各病態に関与し制御しているのかを明らかにすることが、今後、エピゲノム因子を標的とした新たな治療薬への開発に重要な役割を果たすことになると期待される。

はじめに

2000年初頭にDNAシーケンサーが急速に進歩し、

2003年にヒト全ゲノム塩基配列が決定されて以降、ヒト以外の多くの生物種でも遺伝子が網羅的に解読されるようになった。その結果、遺伝情報の発現が塩基配列によつてのみならず、DNAのメチル化や、クロマチンを構成するヒストン蛋白の種々の修飾、microRNAなどの小分子核酸によつて複雑な制御を受けていることが明らかになった。さらに近年、超高速シーケンサーの実用化によつて、これらエピゲノム修飾の部位を詳細に同定することが可能になり、このメカニズムの胚発生、細胞分化、ゲノムインプリンティング、X染色体不活性化、老化などの生命現象における役割が報告されている。2010年には国際ヒトエピゲノムコンソーシアム(International Human Epigenome Consortium: IHEC)が発足し、さまざまな病気や生命現象にかかわるヒトエピゲノムを世界的に協調分担して解析し、ヒトエピゲノムマップを作成することを目的として研究が進められている。現在は米国、EU、イタリア、韓国、ドイツ、カナダ、そして日本が正式参加し、解析する技術を標準化したうえで研究を推進している。エピゲノム変化は、細胞内で一種の「記憶」として蓄積されるため、その異常が癌や先天性疾患、最近では生活習慣病を含めた多数の病気の原因とも関連していることも明らかになりつつある。腎臓病においても、腎臓の発生、癌、慢性炎症などさまざまな分野において、エピジェネティックな遺伝子制御機構が明らかとなりつつある。

本稿では、特にこの1年に報告された論文を中心に、腎臓領域において明らかにされてきたエピジェネティックな機構およびその展望を紹介する。

ポドサイトにおけるエピジェネティックな遺伝子制御機構

腎臓はさまざまな細胞の種類から構成される臓器であるが、特に糸球体内の細胞は糖尿病性腎症や慢性糸球体腎炎の原因となる細胞を多く有しており、広く研究が進められている。そのなかでもポドサイトは他の臓器にはない腎臓特有の細胞であり、濾過機能にかかわる重要な役割を果たすことはよく知られている。

Hayashiらは、iPS細胞作製にも重要な役割を果たす転写因子KLF4の腎臓における役割を明らかにしている¹⁾。KLF4は糸球体内のポドサイトに発現し、蛋白尿を呈する病的な状態では発現が減少する。ポドサイト特異的に*Klf4*を欠損したマウスでは、アドリアマイシン腎症における蛋白尿が軽減した。*Klf4*を過剰発現させると*nephrin*遺伝子の発現が上昇し、DNAメチル化は*nephrin*遺伝子のプロモーター領域において*Klf4*の発現を減少させることが明らかとなった。これらの実験結果から、KLF4はポドサイトにおける遺伝子発現をエピジェネティックなメカニズムにより調節していることが明らかとなった。

ポドサイト特異的にヒストン修飾酵素MLLの共因子(cofactor)であるPTIP(Pax-transactivation domain interacting protein or Paxip1)をノックアウトすると、遺伝子発現が変化し糸球体硬化に陥ることも報告されている²⁾。ポドサイト特異的PTIPノックアウトマウスは、発生時期を含め若年期ではほとんど機能が損なわれず、病気を発症する前には遺伝子発現変化も見られないが、成熟するにつれて慢性糸球体障害を発症する。ポドサイトの足突起形成に重要な役割を果たす*Ntrk3*(neurotrophic tyrosine kinase receptor, type 3)遺伝子上においてPTIPがリクルートされなくなり、H3K4のメチル化が低下することで*Ntrk3*の発現が低下し、糸球体障害の原因となることが明らかとなった。このことから、エピジェネティックなパスウェイの変化は分化した細胞においても表現型に影響を与え、病気を発症させる原因となることが示されている。

メサンギウム細胞におけるエピジェネティックな遺伝子制御機構

糖尿病性腎症ではメサンギウム細胞基質内に結節性の沈着が見られ、コラーゲン type 1 などの細胞外基質(extracellular matrix)が増加することが知られている。Parkらは、糖尿病性腎症のマウスを用いてTGF β 1(transforming growth

factor β 1)刺激によりECM蛋白のなかでも*Col1a2*(collagen type 1- α 2), *Col4a1*(collagen type 4- α 1)が増加し、microRNAのなかでlet-7 familyのメンバーlet-7b/c/d/g/iの発現が低下していることを見出した³⁾。マウスの培養メサンギウム細胞をTGF β 1により刺激した細胞にlet-7を異所性に発現させると*Col1a2*, *Col4a1*の発現を低下させ、let-7の阻害薬を投与すると*Col1a2*, *Col4a1*の発現は増加した。let-7はTGF β 1の直接の結合は見られなかったが、TGF β によって誘導されるSmad2/3がlet-7のnegative regulatorである*Lin27b*遺伝子のプロモーターに結合し、let-7の発現を制御することを明らかにしている。また、糖尿病性腎症ではlet-7以外にもmicroRNA-130(miR-130)の発現がメサンギウム細胞において減少している⁴⁾。その一方でTGF β -receptor1は線維化関連遺伝子である*Col2a1*, *Col4a1*, *Ctgf*(connective tissue growth factor), *Pai-1*(plasminogen activator inhibitor-1)とともに発現が上昇しており、*in vivo*においても糖尿病性腎症モデルマウスでも同様の変化が認められた。さらに糖尿病モデルマウスから採取した培養メサンギウム細胞では、TGF β 1刺激によりmiR-192の発現が上昇する。そこでmiR-192の阻害薬を投与すると*Collagen*, *Fibronectin*, TGF β の発現が抑制され、腎臓の線維化も軽減し、糖尿病性腎症による蛋白尿も軽減した⁵⁾。このように、さまざまなmicroRNAが糖尿病性腎症の病態、線維化の進展に関与していることが明らかとなっている^{5~11)}。

また、慢性腎不全における線維化した腎臓においては、TGF β 1によりヒストンメチル基転移酵素の一つであるSet7/9の発現が増加し、その結果遺伝子発現を促進するヒストンマークであるH3K4のメチル化が増加することによって遺伝子変化が起きることも明らかとなっている¹²⁾。ラットのメサンギウム細胞を用いた実験で、高血糖状態に曝露されると*Ctgf*, *Collagen- α 1*, *Pai-1*の遺伝子のプロモーター領域でH3K4メチル化(H3K4me1, H3K4me2, H3K4me3)が増加し、抑制マークであるH3K9のメチル化(H3K9me2, H3K9me3)が減少した。さらにSet7/9のこれらの遺伝子上へのリクルートも増加した。これらのエピゲノム変化は高血糖状態が緩和された後も持続している可能性が指摘されている。すなわち、高血糖状態が持続する期間によってその後の糖尿病血管合併症進展の予後も左右されるというmetabolic memoryは、こうしたエピジェネティックなメカニズムによって説明することが可能である。

同グループは、これらのヒストン修飾変化がアンジオテンシン1(AT1)拮抗薬による治療によって変化するかどうかについても報告している¹³⁾。2型糖尿病のモデルマウス

である db/db マウスに対してアンジオテンシン II 受容体 1 型(AT1)拮抗薬 AT1R であるロサルタン(losartan)を投与したところ、一部の糖尿病性腎症のパラメーターが改善された。db/db マウスでは高血圧、メサンギウム領域の肥大、蛋白尿、糸球体における RAGE と PAI-1 の発現が上昇するが、ロサルタンの投与により RAGE, PAI-1, MCP-1 のプロモーター領域における H3K9/14 アセチル化の増加が抑制された。この実験から、ロサルタンは糖尿病性腎症による一部の遺伝子上のエピゲノムを元に戻す効果はあるものの、単独での作用には限界があることが明らかとなった。

近位尿細管細胞におけるエピジェネティックな遺伝子制御機構

近位尿細管細胞は腎臓の再吸収機能を担う重要な細胞で、尿細管間質の線維化において主座となる。われわれは、尿細管細胞が慢性的な低酸素状態に曝露されることで線維化の進展に関与することをこれまでで多数報告している^{14~19})。Hasegawa らは、尿細管細胞に発現する脱アセチル化酵素 Sirt1(Sirtuin 1)がポドサイトにおいて *Claudin-1* (*Cldn1*) 過剰発現を抑制し、糖尿病性腎症のアルブミン尿を軽減したことを報告している²⁰)。彼らは、糖尿病性腎症モデルの db/db マウスでは、アルブミン尿を呈する前に近位尿細管で Sirt1 の発現が低下することに着目し、近位尿細管特異的に Sirt1 を過剰発現したマウスでは、糖尿病性腎症を引き起こしても糸球体硬化が軽減され、Sirt1 をノックアウトすると糸球体障害が増悪することを突き止めた。このことから、近位尿細管細胞において Sirt1 は腎障害に対して保護的な役割を持つと考えられた。さらに彼らは、それらの分子メカニズムをエピジェネティックな視点から明らかにしている。Sirt1 は脱アセチル化酵素であるため、CpG 領域および非 CpG 領域の両方の H3, H4 ヒストンを脱アセチル化し、CpG 領域における抑制ヒストンマークの H3K9me2 を増加させる。さらに Sirt1 の下流標的遺伝子である *Cldn1* の発現は Sirt1 によって H3, H4 ヒストンが脱アセチル化された後、DNA のメチル基転移酵素である Dnmt1 がリクルートされ CpG 領域がメチル化されることによって調節されている。実際、糖尿病を誘導した SIRT1 過剰発現マウスでは、*Cldn1* 遺伝子の CpG 領域が低メチル化状態で、*Cldn1* の発現量も低下していることを確認した。これらの結果は、Sirt1 が Dnmt1 を脱アセチル化することによってその活性を変化させるという報告²¹)と合致していた。これらの実験から、脱アセチル化酵素である Sirt1 が近位尿細管細胞と

ポドサイトのクロストークを介する役割を担っていることが明らかとなった。

腎臓の発生とエピジェネティクス

腎臓の発生においても新たな知見が明らかとなってきた。哺乳類の腎臓は中胚葉から分化した前駆細胞由来であるとされるが、*WT1* (Wilms tumor 1) は腫瘍抑制遺伝子として前駆細胞に発現している遺伝子で、尿管芽(ureteric bud)からの WNT シグナルに反応して分化を誘発することが知られている。Akpa らは Wilms 腫瘍抑制遺伝子の *WT1* がヒストンメチル基転移酵素の一つである Ezh2(enhancer of zeste2)の発現を抑制することにより、 β カテニン遺伝子のヒストン抑制マークである H3K27me3 が減少し、 β カテニン遺伝子の発現が上昇してネフロン分化を促進させることを見出した²²)。

さらに、腎臓の発生の過程において幹細胞および前駆細胞から分化するうえで *Pax2* 遺伝子の働きが重要な役割を果たすことも示されている^{23~25})。Pax2 は DNA 結合ドメインをアミノ酸末端に含む蛋白で、C 端ドメインが PTIP と結合することが知られている。Pax2 と PTIP の複合体が MLL3/MLL4 による複合体と相互作用することにより、クロマチン構造をオープンにして遺伝子発現を on にするヒストン修飾である H3K4 のメチル化が促進される²⁶)。また、Pax 蛋白は遺伝子発現を抑制させる Polycomb 複合体もリクルートすることが報告されている^{27,28})。すなわち、Pax は Grg4/Tle4 複合体と相互作用し、クロマチン上に抑制マークをもたらす。このように 1 つの蛋白が遺伝子発現を促進させる蛋白と抑制する蛋白の両方に関係することから、Pax2 は腎臓の発生分化の過程において不可欠な蛋白であることが予想されるが、どのようなメカニズムで双方を調節しているのかは、更なる研究成果による解決が待たれるところである。

DNA メチル化と腎臓病

腎臓病を発症した後、細胞のエピゲノムの状態は変化するかどうかについてさまざまな研究が行われている。例えば、糖尿病では高血糖の状態を是正した後も、DNA メチル化や遺伝子発現の変化は維持されることが報告されている。糖尿病性網膜症のラットから得られた網膜内皮細胞の実験で、高血糖による刺激で SOD2(superoxide dismutase 2) と MMP-9(matrix metalloproteinase-9)の遺伝子上において、

ヒストン修飾酵素の一つである LSD1 (lysine-specific demethylase 1) と DNA メチル基転移酵素のリクルートが増加した^{29,30}。これらのエピゲノム修飾は高血糖を是正した後も持続した。糖尿病性網膜症の患者から得られた網膜でも同様のヒストン修飾変化が認められた。

また、腎臓の線維芽細胞の活性化を決定づける因子として、RASAL1 (Ras protein activator like 1) のメチル化が関与することが報告されている³¹。RASAL1 遺伝子のプロモーター領域が DNA メチル基転移酵素の Dnmt1 によってメチル化されると腎臓の線維芽細胞が活性化されるが、Dnmt1 ヘテロノックアウトマウスでは腎臓の線維化が軽減する。

腎臓癌とエピジェネティクス

淡明細胞型腎細胞癌 (clear cell renal cell carcinoma) は腎臓癌のなかでも最も一般的で約 70~80% を占める。そのうち 6 割近くに *VHL* (von Hippel Lindau) 遺伝子の欠損が認められる。*VHL* 遺伝子は癌抑制遺伝子で発癌の初期過程にかかわることが知られている。*VHL* は HIF1 α (hypoxia inducible factor-1 α) の分解に関与し、淡明細胞型では *VHL* が欠損することにより HIF1 α が安定化し、その下流遺伝子群の発現が上昇することで腎臓癌増悪の原因となると考えられている。さらに、最近では高速シーケンサーの発達に伴い、淡明細胞型腎細胞癌の患者のゲノムを全ゲノムシーケンシス解析することにより、*VHL* 異常を有さない症例においても、*VHL* と複合体を形成する TCEB1 (transcription elongation factor B, polypeptide 1; elonginC) に変異が同定され、その変異により *VHL* と複合体を形成することができないために、*VHL* 異常と同様に HIF1 蛋白が細胞内に蓄積されることが明らかとなった³²。一方で、マウスで腎臓特異的に *VHL* を欠失させても、淡明細胞型腎臓癌特異的な代謝表現型や腫瘍形成が誘導されないことから、*VHL* の欠損だけでは説明できない淡明細胞癌発症のメカニズムがあると考えられていた。Li らのグループは、網羅的な代謝プロファイリングの解析と遺伝子発現変化解析を統合的に組み合わせ、600 症例以上の淡明細胞型腎臓癌で糖新生酵素の一つである FBP (fructose-1,6-bisphosphatase) の発現が低下していることを突き止めた³³。ヒト *FBP1* 遺伝子座の欠失は淡明細胞型腎臓癌の患者予後とも相関していた。*FBP1* は 2 つの点から淡明細胞癌の進行を抑制していると考えられた。まず、淡明細胞の起源と考えられる尿細管上皮細胞での解糖系フラックスに拮抗することでワールブルク効果を抑制した。2 つめは、*VHL* 遺伝子欠損のある淡明細胞で

は *FBP1* はその酵素活性とは別に、HIF の抑制ドメインと直接結合することにより、HIF1 の核内での機能を阻害することで細胞増殖および糖分解を抑制することを明らかにした。このような実験結果から、腎細胞癌の全ゲノムシーケンシスにより発症の分子メカニズムを明らかにすることが可能となっている。

ゲノムワイドな解析から得られるエピジェネティックな遺伝子発現制御メカニズムの解明

上記で述べたように、腎疾患を有する患者の全ゲノムシーケンシス解析を行うことにより、従来は知られていなかった重要な因子が病態の発症に関与することを新たに同定することが可能となった。臨床サンプルとして得られる患者の全ゲノムシーケンシスだけでなく、基礎研究においても、培養細胞や動物実験サンプルを網羅的に解析することによりさまざまな知見が明らかとなっている^{34~40}。例えば Wing らは、CRIC (chronic renal insufficiency) study に参加した 3,939 例の患者のうち、GFR が急速に減少した患者の DNA メチル化プロファイルを網羅的に解析した。その結果、*NPHP4* や *TCF3* などの遺伝子が高度にメチル化されており、腎臓の線維化を促進させるのに関与することが明らかとなった。また、*NOS3* や *TGFB1* などの酸化ストレスや炎症に関与する遺伝子群もメチル化されていることを明らかにした³⁷。また Ueda らは、マウスの遠位尿細管上皮細胞を用いて、ミネラルコルチコイドレセプター (mineral-corticoid receptor: MR) を過剰発現させてアルドステロンで刺激した細胞の遺伝子発現解析および MR のターゲット遺伝子を高速シーケンサーとクロマチン免疫沈降 (chromatin immunoprecipitation: ChIP) を組み合わせた網羅解析 ChIP-seq およびマイクロアレイを用いて解析した。その結果、5 つの MR の標的遺伝子を同定することに成功している³⁵。

われわれのグループは、ヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (human umbilical venous endothelial cells: HUVEC) を用いて、低酸素刺激 (1%, 24 時間) を与えたときに、低酸素環境下でマスターレギュレーターとして働くことが知られている転写因子 HIF1 の結合部位を ChIP-seq を用いて網羅的に解析した⁴⁰。その結果、HIF1 α が結合する遺伝子群のうち、低酸素刺激に対して刺激開始から 4 時間後の比較的早期に発現が誘導される遺伝子群は、細胞種にかかわらず糖代謝に関連する遺伝子に多いことを突き止めた。そのなかでも *SLC2A3* (solute-carrier family 2A3: 別名 *GLUT3*: glucose

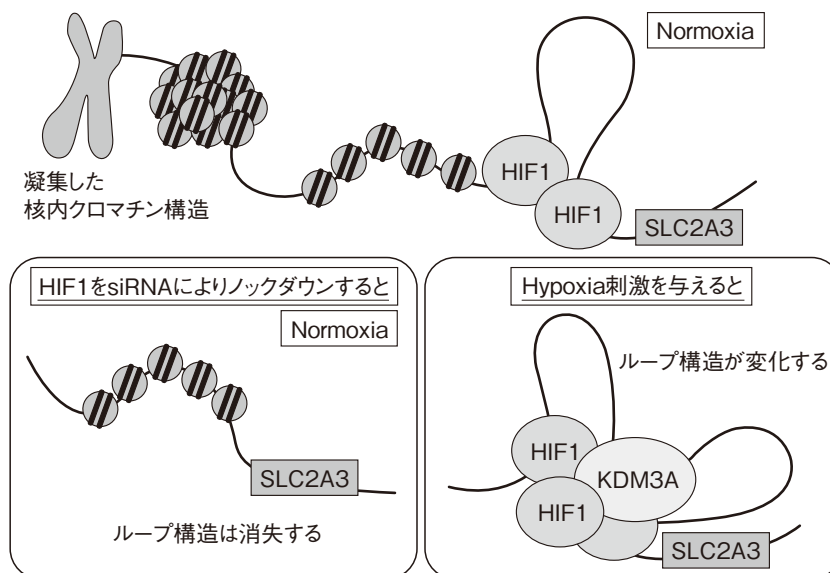


図 1 HIF1 とヒストン修飾酵素 KDM3A を介したクロマチン立体構造変化

表 エピゲノム因子をターゲットとした創薬の例

薬効機序	商品名	一般名	適応疾患	会社名
DNA メチル基転移酵素阻害薬	ビダーザ ダコジェン	azacitidine decitabine	骨髄異形成症候群 骨髄異形成症候群	日本新薬 未承認
ヒストン脱アセチル化酵素阻害薬	ゾリンザ イストダックス	vorinostat romidepsin	皮膚 T 細胞性リンパ腫 皮膚 T 細胞性リンパ腫	大鵬薬品 未承認

transporter3) は HIF1 が転写開始点とその上流 -35 kb の部位に正常酸素分圧下で結合し、低酸素下ではさらに -24 kb の部位に HIF1 が結合することがわかった。われわれは、これらの部位がクロマチン立体構造上は近接構造にあることを Chromosome Conformational Capture (3C) アッセイを用いて明らかにした。さらに、この立体構造は低酸素刺激により変化し、それには HIF1 およびその下流遺伝子の一つであるヒストン脱メチル化酵素の一つである KDM3A (lysine (K)-specific demethylase 3A) が関与していることを明らかにした。KDM3A は HIF1 が結合する部位と同じ部位にリクルートされ、HIF1 と協調的に複合体を形成してクロマチン立体構造を変化させることにより、その下流遺伝子である *SLC2A3* の発現を制御する新たなメカニズムを解明した(図 1)。これらの実験結果から、低酸素刺激によりクロマチン構造は変化すること、さらにその変化には転写因子 HIF1 とヒストン修飾酵素 KDM3A が協調的に働いて下流遺伝子の発現を制御していることが明らかとなった。また、正常酸素分圧下でも、HIF1 を siRNA によってノックダウンするとクロマチンループ構造は消失することも確認している(図 1)。

これらのクロマチンループ構造変化は *SLC2A3* 以外の部位でも細胞内でダイナミックに変化している可能性が十分考えられる。われわれは、低酸素刺激と PPAR β/δ リガンド刺激を共に加えたとき、低酸素刺激により HIF1 によって高度に誘導される *ANGPTL4* (angiopoietin like-4) 遺伝子上で HIF1 および PPAR β/δ の結合が増加し、*ANGPTL4* の発現を相乗的に誘導することも見出している⁴¹⁾。

今後の展望

エピジェネティックな遺伝子発現制御機構はさまざまな分野で急速に研究が進んでいる。特に発生、分化、癌などの領域では、エピゲノム因子をターゲットとした創薬の開発が目覚ましく、すでに臨床応用されているものもある(表)。慢性腎臓病をはじめとしてアレルギー・リウマチ疾患、心疾患など慢性的に病態が進行する疾患においても、エピジェネティックな遺伝子発現制御機構が、あたかもジグソーパズルの最後の 1 ピースのように、その病態を解き明かすためのカギを握る可能性が十分に考えられる(図 2)。DNA メチル化、ヒストン修飾、microRNA、ヒスト

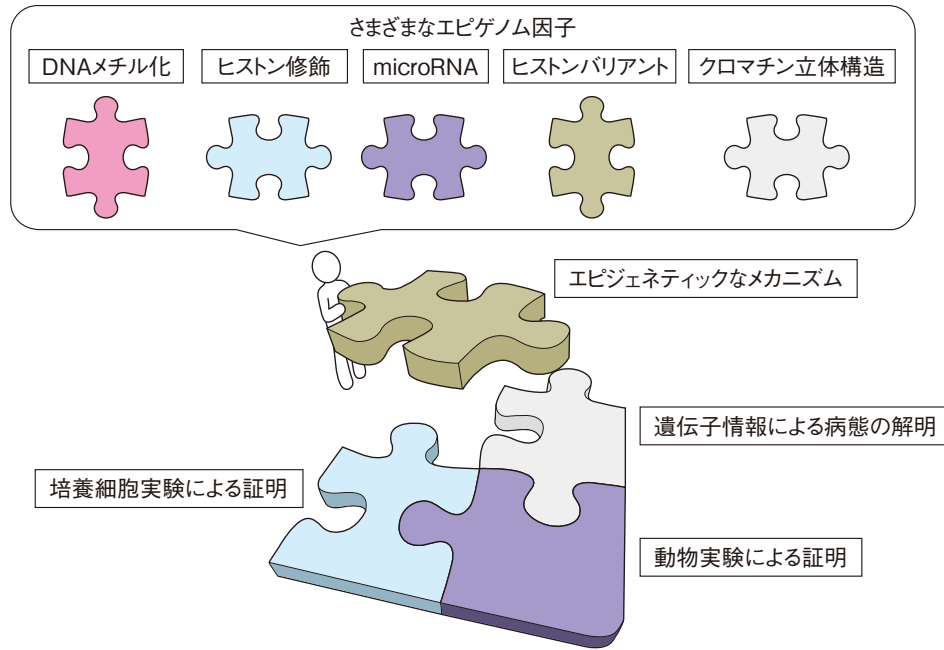


図 2 腎臓病態生理理解明への糸口

ンバリエント、クロマチン立体構造などさまざまなエピゲノム因子がどのように腎臓の各病態に関与し制御しているのかを明らかにすることが、今後の基礎研究の進歩、そして新たな治療薬への開発に重要な役割を果たすことになる期待される。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

文 献

- Hayashi K, Sasamura H, Nakamura M, et al. KLF4-dependent epigenetic remodeling modulates podocyte phenotypes and attenuates proteinuria. *J Clin Invest* 2014 ; 124 : 2523-2537.
- Lefevre GM, Patel SR, Kim D, et al. Altering a histone H3K4 methylation pathway in glomerular podocytes promotes a chronic disease phenotype. *PLoS Genet* 2010 ; 6 : e1001142.
- Park JT, Kato M, Lanting L, et al. Repression of let-7 by transforming growth factor- β 1-induced Lin28 up-regulates collagen expression in glomerular mesangial cells under diabetic conditions. *Am J Physiol Renal Physiol* 2014 : ajprenal 00458 02014.
- Castro NE, Kato M, Park JT, et al. Transforming growth factor β 1(TGF- β 1)enhances expression of profibrotic genes through a novel signaling cascade and microRNAs in renal mesangial cells. *J Biol Chem* 2014 ; 289 : 29001-29013.
- Kato M, Arce L, Wang M, et al. A microRNA circuit mediates transforming growth factor-beta1 autoregulation in renal glomerular mesangial cells. *Kidney Int* 2011 ; 80 : 358-368.
- Kato M, Wang L, Putta S, et al. Post-transcriptional up-regulation of Tsc-22 by Ybx1, a target of miR-216a, mediates TGF- β -induced collagen expression in kidney cells. *J Biol Chem* 2010 ; 285 : 34004-34015.
- Kato M, Zhang J, Wang M, et al. MicroRNA-192 in diabetic kidney glomeruli and its function in TGF-beta-induced collagen expression via inhibition of E-box repressors. *Proc Nat Acad Sci USA* 2007 ; 104 : 3432-3437.
- Kato M, Putta S, Wang M, et al. TGF-beta activates Akt kinase through a microRNA-dependent amplifying circuit targeting PTEN. *Nat Cell Biol* 2009 ; 11 : 881-889.
- Kato M, Dang V, Wang M, et al. TGF-beta induces acetylation of chromatin and of Ets-1 to alleviate repression of miR-192 in diabetic nephropathy. *Sci Signal* 2013 ; 6 : ra43.
- Chen YQ, Wang XX, Yao XM, et al. Abated microRNA-195 expression protected mesangial cells from apoptosis in early diabetic renal injury in mice. *J Nephrol* 2012 ; 25 : 566-576.
- Putta S, Lanting L, Sun G, et al. Inhibiting microRNA-192 ameliorates renal fibrosis in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2012 ; 23 : 458-469.
- Sun G, Reddy MA, Yuan H, et al. Epigenetic histone methylation modulates fibrotic gene expression. *J Am Soc Nephrol* 2010 ; 21 : 2069-2080.
- Reddy MA, Sumanth P, Lanting L, et al. Losartan reverses permissive epigenetic changes in renal glomeruli of diabetic db/db mice. *Kidney Int* 2014 ; 85 : 362-373.
- Tanaka T, Kato H, Kojima I, et al. Hypoxia and expression of hypoxia-inducible factor in the aging kidney. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2006 ; 61 : 795-805.
- Tanaka T, Kojima I, Ohse T, et al. Hypoxia-inducible factor modulates tubular cell survival in cisplatin nephrotoxicity. *Am J Phys Renal Phys* 2005 ; 289 : F1123-1133.

16. Tanaka T, Kojima I, Ohse T, et al. Cobalt promotes angiogenesis via hypoxia-inducible factor and protects tubulointerstitium in the remnant kidney model. *Lab Invest J Tech Met Pathol* 2005 ; 85 : 1292–1307.
17. Tanaka T, Miyata T, Inagi R, et al. Hypoxia in renal disease with proteinuria and/or glomerular hypertension. *Am J Pathol* 2004 ; 165 : 1979–1992.
18. Nangaku M. Chronic hypoxia and tubulointerstitial injury : a final common pathway to end-stage renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2006 ; 17 : 17–25.
19. Mimura I, Nangaku M. The suffocating kidney : tubulointerstitial hypoxia in end-stage renal disease. *Nat Rev Nephrol* 2010 ; 6 : 667–678.
20. Hasegawa K, Wakino S, Simic P, et al. Renal tubular Sirt1 attenuates diabetic albuminuria by epigenetically suppressing Claudin-1 overexpression in podocytes. *Nat Med* 2013 ; 19 : 1496–1504.
21. Peng L, Yuan Z, Ling H, et al. SIRT1 deacetylates the DNA methyltransferase 1 (DNMT1) protein and alters its activities. *Mol Cell Biol* 2011 ; 31 : 4720–4734.
22. Akpa MM, Iglesias DM, Chu LL, et al. Wilms tumour suppressor, WT1, suppresses epigenetic silencing of the beta-catenin gene. *J Biol Chem* 2014. Epub ahead of print
23. Dressler GR. Epigenetics, development, and the kidney. *J Am Soc Nephrol* 2008 ; 19 : 2060–2067.
24. Dressler GR, Patel SR. Epigenetics in kidney development and renal disease. *Transl Res* 2015 ; 165(1) : 166–176. Epub 2014 Jun 4.
25. Dressler GR. Patterning and early cell lineage decisions in the developing kidney : the role of Pax genes. *Pediat Nephrol* 2011 ; 26 : 1387–1394.
26. Patel SR, Kim D, Levitan I, et al. The BRCT-domain containing protein PTIP links PAX2 to a histone H3, lysine 4 methyltransferase complex. *Devel Cell* 2007 ; 13 : 580–592.
27. Patel SR, Bhumbra SS, Paknikar RS, et al. Epigenetic mechanisms of Groucho/Grg/TLE mediated transcriptional repression. *Mol Cell* 2012 ; 45 : 185–195.
28. Patel SR, Ranghini E, Dressler GR. Mechanisms of gene activation and repression by Pax proteins in the developing kidney. *Pediat Nephrol* 2014 ; 29 : 589–595.
29. Kowluru RA, Santos JM, Mishra M. Epigenetic modifications and diabetic retinopathy. *BioMed Res Int* 2013 ; 2013 : 635284.
30. Zhong Q, Kowluru RA. Epigenetic modification of Sod2 in the development of diabetic retinopathy and in the metabolic memory : role of histone methylation. *Invest Ophthal Vis Sci* 2013 ; 54 : 244–250.
31. Bechtel W, McGoohan S, Zeisberg EM, et al. Methylation determines fibroblast activation and fibrogenesis in the kidney. *Nat Med* 2010 ; 16 : 544–550.
32. Sato Y, Yoshizato T, Shiraishi Y, et al. Integrated molecular analysis of clear-cell renal cell carcinoma. *Nat Genet* 2013 ; 45 : 860–867.
33. Li B, Qiu B, Lee DS, et al. Fructose-1,6-bisphosphatase opposes renal carcinoma progression. *Nature* 2014 ; 513 : 251–255.
34. Beckerman P, Ko YA, Susztak K. Epigenetics : a new way to look at kidney diseases. *Nephrol Dial Transplant* 2014 ; 29 : 1821–1827.
35. Ueda K, Fujiki K, Shirahige K, et al. Genome-wide analysis of murine renal distal convoluted tubular cells for the target genes of mineralocorticoid receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2014 ; 445 : 132–137.
36. Witasap A, Ekstrom TJ, Schalling M, et al. How can genetics and epigenetics help the nephrologist improve the diagnosis and treatment of chronic kidney disease patients? *Nephrol Dial Transplant* 2014 ; 29 : 972–980.
37. Wing MR, Devaney JM, Joffe MM, et al. DNA methylation profile associated with rapid decline in kidney function : findings from the CRIC study. *Nephrol Dial Transplant* 2014 ; 29 : 864–872.
38. Mimura I, Kanki Y, Kodama T, et al. Revolution of nephrology research by deep sequencing : ChIP-seq and RNA-seq. *Kidney Int* 2014 ; 85(1) : 31–38.
39. Mimura I, Tanaka T, Nangaku M. Novel therapeutic strategy with hypoxia-inducible factors via reversible epigenetic regulation mechanisms in progressive tubulointerstitial fibrosis. *Sem Nephrol* 2013 ; 33 : 375–382.
40. Mimura I, Nangaku M, Kanki Y, et al. Dynamic change of chromatin conformation in response to hypoxia enhances the expression of GLUT3 (SLC2A3) by cooperative interaction of hypoxia-inducible factor 1 and KDM3A. *Mol Cell Biol* 2012 ; 32 : 3018–3032.
41. Inoue T, Kohro T, Tanaka T, et al. Cross-enhancement of ANGPTL4 transcription by HIF1 alpha and PPAR beta/delta is the result of the conformational proximity of two response elements. *Genome Biol* 2014 ; 15 : R63.