

京都大学	博士（医学）	氏名	高谷 智 英
論文題目	Identification of p300-targeted acetylated residues in GATA4 during hypertrophic responses in cardiac myocytes (心筋細胞肥大においてp300によりアセチル化されるGATA4リジン残基の同定)		
(論文内容の要旨) <p>GATA転写因子群は、ヒストンアセチル化酵素であるp300やCBPによってアセチル化され、そのDNA結合能や転写活性が亢進する。GATA1やGATA3では既に修飾部位が同定されており、赤血球分化やヘモグロビン合成にはGATA1の、T細胞の生存や誘導にはGATA3のアセチル化が必要であることが報告されている。</p> <p>GATA4は、心筋細胞肥大の過程においてp300によるアセチル化を受けることが知られているが、その修飾部位はまだ同定されていない。</p> <p>マウスGATA4には11残基のリジンが存在し、その内の9残基は2つのZnフィンガードメインのC末端尾部に集中している(241～267番アミノ酸のNモチーフに2残基、295～329番のCモチーフに7残基)。GATA4のN及びCモチーフのアミノ酸配列はヒトとマウスで100%一致しており、GATA1、GATA3とも高い相同性を示す。</p> <p>p300によりアセチル化されるGATA4のリジン残基を同定するため、両モチーフのリジンをそれぞれアラニンに置換した変異GATA4を作成し、その転写活性を測定した。Nモチーフの変異は、心筋特異的遺伝子である心房性ナトリウム利尿因子(ANF)及びエンドセリン(ET)-1遺伝子のプロモーターの転写活性に影響を与えなかった。一方、Cモチーフの311、318、320及び322番のリジン残基を置換すると、p300依存的な転写活性が有意に抑制された。そこで、上記4つのアミノ酸置換を同時に持つ変異M456をGATA4に導入し、詳細な解析を行った。</p> <p>M456変異により、GATA4のp300依存的なANF及びET-1プロモーター転写活性は完全に失われた。また、p300と共発現させた野生型GATA4で観察される、抗アセチル化リジン残基抗体との反応、酢酸ナトリウムの取り込みが変異GATA4では検出されなかった。変異GATA4も野生型と同様にp300と結合できることから、M456変異によって置換されたリジン残基がp300によってアセチル化されることが考えられた。</p> <p>またM456変異は、p300依存的なGATA4のDNA結合能を阻害したが、FOG-2およびGATA6といったGATA4結合タンパク質との複合体形成や、核への移行は阻害しなかった。以上のことから、GATA4のアセチル化は、主にDNAとの結合に関係していることが明らかになった。</p> <p>レンチウイルスを用い、新生仔ラット培養心筋細胞に変異GATA4を発現させ、フェニレフリンによって肥大反応を誘導した。変異GATA4を発現する心筋細胞では、対照群に比べ、フェニレフリン投与後の細胞表面積、アミノ酸の取り込み、肥大応答遺伝子であるANF及びミオシン重鎖のmRNA発現量が有意に低下していた。変異GATA4は内因性のGATA4に対して優性</p>			

阻害型として機能し、心筋細胞肥大反応を抑制することが考えられた。

以上の結果から、GATA4の311、318、320ないし322番のリジン残基がp300によってアセチル化され得ること、GATA4のアセチル化はDNAとの結合に必須であることが示された。また、p300によるアセチル化を受けない変異GATA4も転写(調節)因子と結合できることから、野生型と変異型GATA4との間で結合タンパク質の競合が起こり、それにより心筋細胞内で変異型GATA4が優性阻害型として機能し、肥大反応を抑制することが考えられた。p300によるGATA4のアセチル化を特異的に阻害することができれば、新たな心不全治療戦略の確立に貢献することが期待できる。

(論文審査の結果の要旨)

本研究では、心筋細胞肥大において転写調節因子p300によってアセチル化される、転写因子GATA4のリジン残基が同定された。

GATA4の311、318、320および322番のリジン残基を同時にアラニンに置換した変異GATA4では、心筋特異的遺伝子のp300依存的なプロモーター転写活性が著明に低下していた。また変異GATA4は、p300を含むGATA4結合因子と複合体を形成することができたが、p300依存的なDNA結合能およびアセチル基の取り込みが失っていた。ラット培養心筋細胞に変異GATA4を発現させると、フェニレフリンによって誘導される肥大反応遺伝子の発現、アミノ酸の取り込み、および細胞肥大が抑制された。これらのことから、心筋細胞肥大において、GATA4の311、318、320ないし322番目のリジン残基がp300によってアセチル化され、p300/GATA4依存的な肥大反応遺伝子の転写が活性化し、細胞肥大反応が誘導されることが示唆された。

同定したGATA4のアセチル化リジン残基の情報を利用し、p300によるGATA4のアセチル化を特異的に阻害することができれば、新たな心不全治療戦略の確立に貢献することが期待できる。

以上の研究は、心筋細胞肥大におけるp300/GATA4転写機構の解明に貢献し、心肥大をはじめとする心疾患の理解と治療に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成23年1月5日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降