

氏名	なか がわ やす あき 中 川 靖 章
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 3024 号
学位授与の日付	平 成 18 年 11 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	Class II HDACs mediate CaMK - dependent signaling to NRSF in ventricular myocytes (心筋細胞において class II HDAC は CaMK 依存性シグナルを NRSF に伝える役割を果たす)
論文調査委員	(主 査) 教 授 瀬 原 淳 子 教 授 米 田 正 始 教 授 野 間 昭 典

論 文 内 容 の 要 旨

心臓における種々の病的状態の最終像である心不全は近年の薬物治療の進歩にも関わらず未だ死亡率の高い難治性の症候群である。心臓におけるストレス応答としての心筋細胞肥大反応の研究は心不全の発症メカニズムの解明及び治療法開発に寄与・貢献するものと考えられる。我々は転写抑制因子である NRSF (neuron-restrictive silencer factor) がその結合配列である NRSE (neuron-restrictive silencer element) を介して代表的な心肥大反応の一つとして知られる ANP・BNP 遺伝子などの心筋胎児型遺伝子再発現現象に関与し、更にそれらの遺伝子発現制御を介して心不全や突然死の発症に重要な役割を果たしていることを指摘してきた。しかし心筋遺伝子発現調節における NRSF の活性制御機構、特に心筋細胞肥大刺激が NRSF による転写抑制を阻害するメカニズムの詳細については未だ不明であった。近年カルシウムカルモジュリンキナーゼ (CaMK) によるリン酸化を介した class II ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) の心筋遺伝子発現調節への関与が報告された。CaMK は様々な心筋細胞肥大刺激で活性化されることが知られており、また NRSF は class I HDAC と複合体を形成し転写を抑制することが知られている。本研究では NRSF による心筋遺伝子発現調節における CaMK と class II HDAC の関与について検討した。まず NRSF と class II HDAC である HDAC4及び5との複合体形成を共沈実験により検討したところ、NRSF はその N 端に存在する転写抑制化領域を介して HDAC4及び5と複合体を形成することが示された。この部位は mSin3 と結合することが知られており、実際 HDAC4及び5は mSin3 と会合することが示された。培養心筋細胞において CaMK 阻害薬 KN62 は代表的な心肥大刺激であるエンドセリン 1 (ET-1) による心筋胎児型遺伝子 ANP の発現亢進を有意に抑制した。培養心筋細胞における ET-1 による ANP 及び BNP promoter の CaMK 依存性の活性化は NRSE 依存性であることが示され、またアデノウイルスベクターを用いて優性抑制変異体 NRSF を発現させた培養心筋細胞では ET-1 による ANP 発現亢進に対する KN62 の抑制作用が有意に減弱していた。CaMK は class II HDAC をリン酸化し核外へ移行させ、その転写抑制作用を阻害する。CaMK リン酸化部位に変異を加えた HDAC5 は ET-1 による ANP 及び BNP promoter の活性化を抑制したが、その抑制作用は NRSE 依存性であった。これらのことから CaMK 依存性の class II HDAC 核外移行が ET-1 による NRSF の転写抑制作用の阻害に寄与しているものと考えられた。実際、非刺激下の培養心筋細胞における NRSF-HDAC5 複合体形成は ET-1 刺激下では認められず、また大動脈弓部を部分的に結紮し作成したマウス圧負荷心肥大モデルの心室においても、sham マウスと比較し NRSF-HDAC5 複合体形成が減弱していた。以上より、活性化した CaMK により NRSF-class II HDAC 複合体形成が阻害され NRSF による転写抑制が解除されることが、肥大刺激による ANP 及び BNP などの心筋胎児型遺伝子の再発現に関与することが示唆された。

本研究は NRSF による心筋遺伝子発現調節への class II HDAC の関与を初めて明らかにしたものであり、これらの分子を標的とした新たな心不全の診断法、治療法の開発の可能性を示唆したものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究では、申請者は主に培養心筋細胞を用いて、心肥大刺激であるエンドセリン-1 (ET-1) による ANP 及び BNP 遺伝子発現亢進における NRSF の転写抑制機能阻害への CaMK および class II ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) の関与について検討した。CaMK によるリン酸化により転写抑制活性が調節されることが知られる class II HDAC である HDAC4 及び 5 は、NRSF の N 端側に存在する転写抑制領域を介して NRSF と会合しており、また CaMK のリン酸化部位を欠如した変異型 HDAC5 は、NRSF 依存性に ET-1 による ANP 及び BNP のプロモーター活性の亢進を抑制したことなどより、ANP 及び BNP 遺伝子の ET-1 刺激による発現亢進に CaMK が NRSF を介して作用することが示された。更に ET-1 刺激下での培養心筋細胞およびマウスの圧負荷心肥大モデルにおいて NRSF と HDAC5 の会合の減少を認めた。以上のことより、心肥大刺激において、CaMK による class II HDAC の核外移行により NRSF-HDAC の会合が減少し、その転写抑制機能が低下することが ANP 及び BNP 遺伝子発現に関与することが示唆された。

本研究は NRSF による心筋での遺伝子発現調節における class II HDAC の関与をはじめて明らかにしたものであり、心肥大の病態の解明と新規治療法の開発に寄与するものである。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値のあるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成18年10月25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。