

氏 名	ひら い まれ とし 平 井 希 俊
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2838 号
学位授与の日付	平 成 17 年 3 月 23 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	FOG-2 competes with GATA-4 for transcriptional coactivator p300 and represses hypertrophic responses in cardiac myocytes (FOG-2 は GATA-4 のコアクチベーター p300 を競合阻害し、心筋細胞肥大を抑制する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 米 田 正 始 教 授 清 水 章 教 授 中 尾 一 和

論 文 内 容 の 要 旨

心肥大とそれに引き続く心不全の発症は、心筋細胞へのストレスによりいくつもの細胞内シグナル伝達経路が活性化されることと密接な関係がある。しかしながら、種々のシグナルが心筋細胞核に到達後、どのようなメカニズムで転写制御を行うのかはよくわかっていない。 Zn^{2+} フィンガー転写因子 GATA-4、転写コアクチベーター p300、そして GATA-4 結合タンパク FOG-2 はいずれも遺伝子欠損マウスが心臓形成不全を示し、心臓特異的遺伝子の発現調節における役割が注目されている。なかでも FOG-2 は、心筋細胞において GATA-4 依存性の心筋特異的遺伝子転写活性を抑制するが、その抑制作用のメカニズムは明らかではない。

我々はこれまでに GATA-4 が心筋細胞肥大に関わる遺伝子群の転写調節を行うこと、そして、GATA-4 の転写活性を最大限に発揮するためにはコアクチベーター p300 との相互作用が必要であることを見出した。本研究では、FOG-2 の GATA-4 依存性転写活性の抑制メカニズムが GATA-4 と p300 との相互作用を阻害することにあるのではないかという仮説をたて、これを検証した。さらに、FOG-2 が心筋細胞肥大を抑制できるかどうかとも検討した。

まず、FOG-2 が心筋細胞肥大を抑制できるかどうかを、免疫染色およびノーザンブロッティングにて検証した。フェニレフリンやエンドセリン刺激による心筋細胞面積の増大は、FOG-2 の過剰発現により抑制された。また、フェニレフリン刺激による β ミオシン重鎖、心房利尿因子 (ANF)、エンドセリン-1 (ET-1) といった心肥大に関わる遺伝子の発現の亢進も FOG-2 の過剰発現により抑制された。

次に FOG-2 の発現が p300/GATA-4 の結合にどのように影響するかを、免疫沈降ウエスタンブロッティングにて検討した。COS 細胞に FOG-2 を発現させると p300 と GATA-4 との結合は抑制され、これとは対照的に GATA-4 と結合できなくした FOG-2 変異体は p300/GATA-4 の結合を抑制しなかった。心筋細胞をフェニレフリンで刺激すると p300 の発現が亢進する一方、GATA-4 の発現は一定である。このときの p300/GATA-4 の結合を免疫沈降にて検討したところ、フェニレフリン刺激により p300/GATA-4 の結合は増強したが、FOG-2 の過剰発現によりこの結合は抑制された。また、フェニレフリン刺激にて GATA-4 依存性の ET-1 プロモーター活性が亢進し、GATA-4 の DNA 結合活性も増強するが、これらも FOG-2 の過剰発現により抑制された。

心筋細胞におけるデータとは対照的に、内因性の p300 の機能が破綻している COS 細胞に FOG-2 を過剰発現させても、GATA-4 依存性の ET-1 プロモーター活性は抑制されず、また、GATA-4 の DNA 結合活性も抑制されなかった。しかし、p300 を発現させた COS 細胞では、FOG-2 は GATA-4 依存性の ET-1 プロモーター活性の亢進を抑制し、さらに GATA-4 の DNA 結合活性を抑制した。

以上の結果から、FOG-2 は心筋細胞肥大を抑制すること、そのメカニズムとして FOG-2 がコアクチベーター p300 と競合して GATA-4 に結合することが示唆された。FOG-2 の GATA-4 転写活性の抑制メカニズムは、これまで FOG-2 がアダプターとして他の抑制性の転写因子をリクルートしてその活性を発揮すると考えられてきたが、コアクチベーターの

競合的阻害という新しいメカニズムの関与が示された。

論文審査の結果の要旨

心肥大とそれにつづく心不全は現在、最も多い死因のひとつである。心肥大に関係する遺伝子群の転写調節には、転写因子 GATA-4 が重要な役割を果たしている。最近、GATA-4 結合タンパクとして同定された FOG-2 が、心筋細胞で GATA-4 依存性の転写活性を抑制することが報告された。そこで本研究では、FOG-2 の心肥大における役割と、転写抑制のメカニズムについて検討した。

心筋細胞に FOG-2 を過剰発現させると、フェニレフリン刺激による心筋細胞肥大は抑制され、同時に GATA-4 の DNA 結合能も抑制された。一方、GATA-4 の転写活性は、転写コアクチベーター p300 と結合することにより最大限に発揮される。そこで、FOG-2 は p300 と GATA-4 との結合を阻害することにより、転写を抑制するのではないかという仮説をたてた。免疫沈降実験の結果、FOG-2 を発現させると p300/GATA-4 結合は抑制され、対照的に GATA-4 と結合できなくした FOG-2 変異体を発現させても、p300/GATA-4 結合は抑制されなかった。以上から FOG-2 は心筋細胞肥大を抑制し、そのメカニズムとして FOG-2 は、p300 を競合阻害することにより GATA-4 依存性の転写活性を抑制する可能性が示唆された。

以上の研究は、心肥大での転写調節メカニズムの解明に貢献し、心肥大の新たな治療法の開発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17年2月8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。