慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Hypertrophic stimuli augment expression of cMG1/ERF-1, aputative zinc-finger motif transcription factor, in rat cardiomyocytes.
Sub Title	さまざまな心肥大刺激はラット心筋細胞においてzinc-finger型転写因子cMGI/ERF-1の発現を誘導する
Author	真鍋, 知宏(Manabe, Tomohiro)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.2 (2004. 6) ,p.13-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20040602-0013

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Hypertrophic stimuli augment expression of cMG1/ERF-1, a putative zinc-finger motif transcription factor, in rat cardiomyocytes.

（さまざまな心肥大刺激はラット心筋細胞において zinc-finger型転写因子cMG1/ERF-1の発現を誘導する）

真 鍋 知 宏

内容の要旨

心筋細胞は、心筋梗塞や心筋炎などで壊死した心筋の機能を代償するために、肥大することにより心臓のポンプ機能を保持しようとする。心肥大はアンジオテンシンⅡ、エンドセリン－1、ノルエピネフリンのような神経体液性因子や伸展刺激、圧負荷などの機械的負荷により惹起される。神経体液性因子や機械的負荷は細胞表面に発現している各種受容体を介して、細胞内情報伝達系を活性化し、心肥大に関連する遺伝子群の発現調節を行っている。したがって心肥大に関わるこれら一連の分子生物学的機序を明らかにすることは、心不全の機序の解明と新たな治療法開発につながる可能性がある。近年、心筋細胞において心肥大に関与するサイトカインやシグナル伝達物質が研究されている。白血病抑制因子（leukemia inhibitory factor, 以下LIF）はある種の白血病細胞の増殖を抑制する物質として同定されたが、後に心筋細胞肥大を強く引き起こす因子でもあることが判明した。LIFはInterleukin-6ファミリーに属するサイトカインであり、gp130という受容体を介して細胞内への情報伝達が行われる。トランスジェニックマウスやノックアウトマウスの知見から、gp130が心筋細胞の増殖、肥大などの過程で重要な役割を果たしていることが明らかとなっている。しかし、gp130の下流で心肥大を司る遺伝子の詳細についてこれまでのところ明らかになっていない。本研究では、LIFにより発現が変化する遺伝子をクローニングし、その遺伝子の心筋細胞肥大現象への関与を検討することを目的とした。

新生仔ラット初代培養心筋細胞にLIF刺激を行い、LIF刺激前後で発現の変化する遺伝子をRNA differential display法を用いてクローニングした。その中でcMG1/ERF-1というzinc-fingerモチーフを有する転写因子をコードする遺伝子を同定した。本遺伝子に関してLIF以外の心肥大惹起因子を作用させた際の発現の変化、機械的伸展刺激や急性圧負荷における発現の変化をNorthern blot法、さらにはこの遺伝子発現にいかなる細胞内情報伝達系が関与するのかをAG490（JAK2阻害薬）、wortmannin（PI3-K阻害薬）、PD98059（MEK阻害薬）、genistein（チロシンキナーゼ阻害薬）を用いてNorthern blot法により検討した。cMG1/ERF-1遺伝子はLIF刺激により誘導され、その発現は刺激30分後に最大となった。LIFによるcMG1/ERF-1の発現はAG490で有意に抑制され、genisteinで部分的に抑制された。PD98059やwortmanninではほとんど変化は認められなかった。これらの結果から本遺伝子の発現に対するJAK/STAT系の関与が示唆された。cMG1/ERF-1遺伝子はアンジオテンシンⅡ、エンドセリン－1、フェニレフリンなどの心肥大促進因子によっても誘導された。培養心筋細胞の機械的伸展刺激によりcMG1/ERF-1遺伝子の発現が増強した。またラット腹部大動脈結紮での急性左室圧負荷によってもcMG1/ERF-1遺伝子の発現増強が認められた。この結果から、cMG1/ERF-1はc-fosやBNPと同様に心肥大のマーカー遺伝子であり、本遺伝子の下流に存在して発現調節を受けている標的遺伝子が心肥大をより直接的に惹起する可能性が示唆された。

以上より、LIF刺激により心筋細胞においてcMG1/ERF-1遺伝子が活性化され、その経路に主にJAK/STAT系が関与しており、培養系の機械的伸展刺激のみならず、生体内での急性圧負荷によってもその発現が増加することが示された。

これまでにcMG1/ERF-1遺伝子が上皮系細胞において初期応答遺伝子として機能することは報告されていたが、心筋細胞との関係は報告されていなかった。本研究により、心肥大発症機序にcMG1/ERF-1が関与することが初めて示された。

論文審査の要旨

心肥大現象はさまざまな病的状態に対処するための心臓の代償反応の１つである。心肥大を惹起する刺激として、圧負荷や伸展刺激、サイトカインが知られている。心肥大を惹起するサイトカインの１つであるLIFはgp130をその受容体としている。このgp130の下流において、心肥大を司る遺伝子の詳細については解明されていなかった。本研究では、LIFにより発現が変化する遺伝子をRNA differential display法を用いてクローニングし、その遺伝子の心筋細胞肥大現象への関与ならびにその活性化に至る経路を検討した。その結果、cMG1/ERF-1というzinc-fingerモチーフを有し構造上転写因子と推測されている遺伝子を同定した。この遺伝子はLIF以外の心肥大惹起因子によってその発現を増強させ、培養心筋細胞における機能的伸展刺激のみならず、生体内での急性左室圧負荷によってもその発現を増強させた。また細胞内情報伝達系の各種阻害薬を用いた実験より、その経路におけるJAK/STAT系の主たる関与が示唆された。cMG1/ERF-1はc-fosやBNPと同様に心肥大のマーカー遺伝子であり、本遺伝子の下流に存在して発現調節を受けている標的遺伝子が心肥大をより直接的に惹起する可能性が示唆された。

論文審査においては、機械的伸展刺激時の細胞内情報伝達系に関する考察が論点となった。LIF刺激時にはJAK/STAT系を経てcMG1/ERF-1遺伝子が誘導されているが、機械的伸展刺激時の細胞内情報伝達系に関する検討がなされていないとの指摘があった。臨床的にはサイトカイン刺激よりも機械的伸展刺激や圧負荷刺激の方が心肥大に関連が強いと考えられるので、各種阻害薬を用いた実験を施行すべきであったとの指摘もあった。また、増殖シグナルと肥大シグナルが同一の経路なのかという問題が提起された。これに対して、心筋細胞は最終分化した細胞であり容易に増殖が生じない機構が備わっており、増殖と肥大のシグナルは別々に考えた方がよいとの回答があった。さらに、cMG1/ERF-1遺伝子が転写因子でなく、炎症性サイトカインのmRNAに結合し、その機能を不安定化させるという最新の知見に関する議論が行われた。cMG1/ERF-1を強制発現させた際に心筋細胞肥大を惹起するというデータを提示しながら、本遺伝子が肥大に対して抑制的に働くサイトカイン群のmRNAを阻害して、心筋細胞を肥大させるという仮説が提示された。また、本遺伝子に関するpolymorphismや遺伝子破壊マウスに関する報告があり、今後臨床との関連が明らかになる可能性があることも示された。その他に、生体内における心肥大と培養系における心筋細胞肥大現象を同一次元で議論することについての限界に関する意見も出された。

以上のように、本研究ではさらに検討されるべき課題を残しているものの、これまで心肥大との関連が提起されていなかったcMG1/ERF-1が、培養系のみならず生体内においても心肥大現象と関連することを初めて示したという点で有意義であり、今後発展の余地があると評価された。

論文審査担当者　主査　内科学　小川　聡
微生物学・免疫学　小安　重夫　　外科学　四津　良平
内科学　池田　康夫
学力確認担当者：
審査委員長：小安　重夫

試問日：平成16年２月24日