

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 15 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21790738

研究課題名（和文）新たな p53 機能制御タンパク “Fortilin” を介した心疾患制御の可能性

研究課題名（英文） Fortilin, a novel p53 inhibiting protein, in cardiovascular system.

研究代表者

藤田 孝之（FUJITA TAKAYUKI）

横浜市立大学・医学部・助教

研究者番号：40468202

研究成果の概要（和文）：

Fortilin は、マウス心不全モデルにおける心不全発症を抑制する。

p53 は心不全の発症を促進することが報告されている。Fortilin は近年 p53 機能抑制タンパクであることが明らかとなった。我々は Fortilin を心臓に過大発現したマウスを作成し、心不全モデルを用いて Fortilin の心不全発症における役割を検討した。本研究から Fortilin に心不全発症を抑制する作用があることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Fortilin overexpression preserves cardiac function in mice model of heart failure.

Recent studies indicate that p53 promotes the deterioration of cardiac function. Fortilin is a novel p53 inhibiting protein. In this study, we generated Fortilin transgenic mice that overexpress Fortilin in the hearts. The anthracycline chemotherapy agent developed more severe heart failure in control mice than the Fortilin transgenic mice. These data suggest that Fortilin overexpression may induce preferable effects on cardiac function in heart failure.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：循環器内科学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：分子心臓病態学

1. 研究開始当初の背景

Fortilin は Translationally controlled tumour protein (TCTP)とも呼ばれるアポトーシス抑制タンパクである。172 個のアミノ酸で構成され、約 24kDa であり、多くの組

織に広く発現している。特に癌細胞に多く発現しており、悪性度の高い癌にはより多く発現しているとの報告がある。また Fortilin/TCTP は細胞増殖や、高血圧発症と

の関連を示唆する報告もみられ、生体内で重要な役割を果たすタンパクであることが明らかになっている。アポトーシス抑制の機序としては、同じくアポトーシス抑制タンパクとして知られている MCL-1 と直接結合し、互いに分解を抑制しあっていることが観察されていたが、近年 Fortilin/TCTP が p53 タンパクと直接結合しその機能を抑制していることが報告された。これにより Fortilin/TCTP のアポトーシス抑制作用のメカニズムが更に一つが明らかになったのに加え、Fortilin/TCTP は p53 の機能制御を介して多くの生体機能に関与している可能性が示唆された。

p53 は癌抑制遺伝子の一つであり、ゲノムの守護神と呼ばれ、癌予防に極めて重要なタンパクとして知られる。ヒトの癌の 50% で p53 の遺伝子変異が見られ、p53 の機能異常が発癌に大きくかかわると考えられている。また近年では、p53 が動脈硬化の進展、心不全、細胞老化など、腫瘍以外の疾患の病態にも強くかかわっているとの報告が相次ぎ、さらに注目を集めている。p53 は主に転写因子として機能しており、アポトーシス、細胞増殖、血管新生、DNA 修復等にかかわる多くのタンパクの発現を調節している。Fortilin/TCTP は p53 の DNA 結合部位が存在するドメインに結合することが判明した。Fortilin/TCTP の存在下では p53 は DNA に結合しにくくなることがゲルシフトアッセイにより明らかとなり、Fortilin/TCTP は p53 の転写因子としての機能を阻害していると考えられた。さらに Fortilin/TCTP の過大発現下では p53 による Bax(アポトーシス誘導タンパク)の誘導が抑制されることが観察された。p53 の過大発現によって誘導されるアポトーシスを、Fortilin/TCTP の過大発現によって抑制できることや、逆に SiRNA に

よる Fortilin/TCTP 発現低下によりそのアポトーシスが促進されることも証明され、Fortilin/TCTP が p53 機能を抑制することでアポトーシスを抑制していることが裏付けられた。

以上のこれまで明らかとなった所見から、Fortilin/TCTP の発現量、機能をコントロールすることで p53 機能を適切に制御し、アポトーシス等が関与する様々な病態を制御しうることが示唆された。心筋細胞のアポトーシスは心不全の発症に関与していると考えられている。本研究において我々は Fortilin/TCTP の心不全発症における役割を検討した。

2. 研究の目的

心不全発症における Fortilin/TCTP の役割を明らかにする。Fortilin/TCTP は p53 機能抑制タンパクであり、細胞死を抑制する作用が報告されている。本研究では、心筋細胞における Fortilin/TCTP の機能を増強することで、心不全発症のメカニズムの一つである心筋細胞死を抑制し、病態の進展を予防することの可能性を検討した。

3. 研究の方法

αMHC プロモーターを利用し、Fortilin/TCTP を心臓特異的に過大発現したマウスを作成した。同マウスにおけるアントラサイクリン系抗癌剤誘発心不全の発症、進行を心臓カテーテル検査、心臓超音波検査により評価し野生型マウスと比較した。また Fortilin/TCTP の発現を SiRNA によって抑制させた培養心筋細胞を用いた検討から、アントラサイクリン系抗癌剤や虚血刺激による心筋細胞障害への Fortilin/TCTP の作用を検討した。

4. 研究成果

(1) Fortilin/TCTP 心臓特異的過大発現マウス(トランスジェニックマウス)の作成.

α MHC プロモーター制御下に Fortilin/TCTP を発現するように設計した DNA を遺伝子導入することにより, 心臓特異的に Fortilin/TCTP を過大発現するトランスジェニックマウスを作成した.

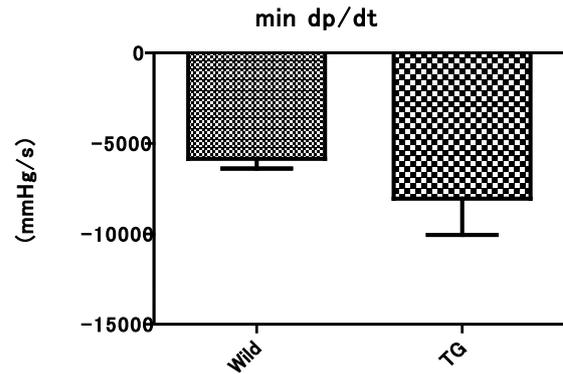
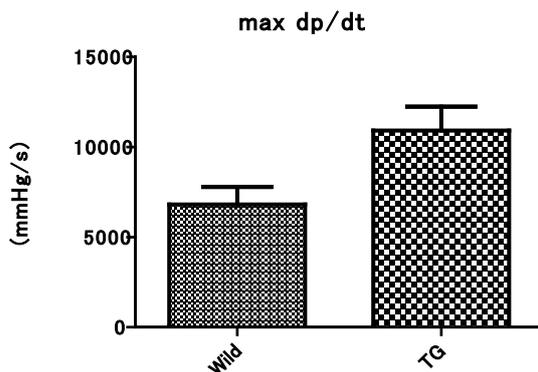
作成したマウスの各臓器の Fortilin/TCTP 発現量はウイスタンブロットング法にて確認した. 心室筋において Fortilin/TCTP の過大発現が確認された. その他の組織においては, 野生型マウスと比較して Fortilin/TCTP 発現量の有意な差異は認められなかった.

(2) Fortilin/TCTP トランスジェニックマウスは, 野生型マウスと比較してアントラサイクリン系抗癌剤投与後の心機能低下が軽度である.

① アントラサイクリン系抗癌剤投与後早期の心機能

アントラサイクリン系抗癌剤投与 5 日後の心機能を, 心臓カテーテル検査にて検討した.

ア. カテーテル



Fortilin/TCTP トランスジェニックマウス (TG) では, max dp/dt, min dp/dt いずれも野生型マウス (wild) よりも保たれていた. Fortilin/TCTP の過大発現が, アントラサイクリン系抗癌剤による心筋障害を抑制する事が示唆された.

② 長期間のアントラサイクリン系抗癌剤投与後の心機能

アントラサイクリン系抗癌剤を 4 週間にわたって投与した後の心機能を心臓カテーテル検査と心臓超音波検査により評価した.

ア. カテーテル検査

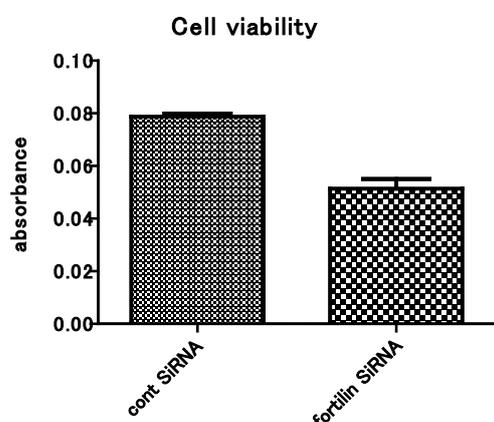
投与開始早期の心機能検査の所見と同様に, トランスジェニックマウスでは野生型マウスと比較して心機能がより保たれている事が示唆された.

イ. 心臓超音波検査

心機能の指標である左室駆出率は, トランスジェニックマウスでより高く計測され, 心筋細胞における Fortilin/TCTP の過大発現による心機能障害の抑制効果が画像検査からも示唆された.

(3) Fortilin/TCTP の発現が抑制された心筋細胞では, アントラサイクリン系抗癌剤による細胞障害が促進される.

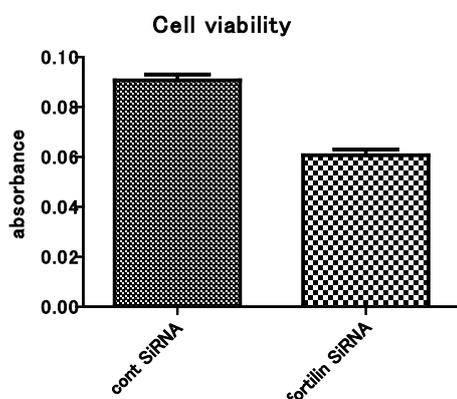
培養心筋細胞の Fortilin/TCTP 発現量を, Fortilin/TCTP SiRNA を用いて低下させ, アントラサイクリン系抗癌剤投与によって誘導される細胞死の程度を, MTT アッセイによって評価した.



Fortilin/TCTP の発現量が低下した細胞では, アントラサイクリン系抗癌剤による心筋細胞障害がより強く誘導される事が示唆された.

(4) Fortilin/TCTP の発現が抑制された心筋細胞では, 虚血刺激による細胞障害が促進される.

上記 (3) 同様に培養心筋細胞の Fortilin/TCTP 発現量を Fortilin/TCTP SiRNA を用いて低下させた後に, 虚血刺激を与え, 誘導される細胞死の程度を MTT アッセイにより評価した.



Fortilin/TCTP の発現量が低下した細胞においては, 虚血刺激による心筋細胞障害がより強く誘導されることが示唆された.

p53 は悪性腫瘍の発生予防において重要な役割を果たすタンパク質としてよく知られているが, 心疾患発症においては望ましくない作用についても指摘されている. p53 は虚血性心疾患やアントラサイクリン系抗癌剤による心不全の発症を促進することが報告されているし, また p53 によって誘導されるアポトーシスは冠動脈プラークの破綻から, 虚血性心疾患の発症にかかわる可能性も指摘されている. Fortilin/TCTP は p53 機能抑制タンパクでありその機能の促進は, 上記の p53 のもつ心疾患発症への有害な作用に対して抑制的に働くことが期待される. 本研究においては Fortilin/TCTP を心筋細胞において過大発現させることにより, アントラサイクリン系抗癌剤や虚血刺激による心筋障害が軽減される事が観察された. 今後さらなる検討を加えることで, Fortilin/TCTP をターゲットとした新たな心疾患治療, 予防手段が確立される可能性が考えられる. またアントラサイクリン系抗癌剤は有用な抗癌剤として広く用いられているが, 副作用である心筋障害の懸念からその使用量の制限を余儀なくされることがある. 将来的に Fortilin/TCTP に注目した治療の確立によりアントラサイクリン系抗癌剤による心筋障害の抑制が実現すれば, 悪性腫瘍患者への十分な抗癌剤の使用も可能となると考えられ, 悪性腫瘍の治療効果の改善にもつながることが期待される.

5. 主な発表論文等

(研究代表者, 研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

(現在論文投稿準備中.)

6. 研究組織

(1)研究代表者

藤田 孝之 (FUJITA TAKAYUKI)

横浜市立大学・医学部・助教

研究者番号：40468202

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：