

平成 21 年 6 月 16 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19390219

研究課題名（和文） 心筋細分化・再生と肥大の情報伝達機構解明とトランスレーショナルリサーチ

研究課題名（英文） Elucidating signaling mechanisms of myocardial cell hypertrophy and differentiation and their translational research

研究代表者

長谷川 浩二 (Hasegawa Koji)

独立行政法人国立病院機構（京都医療センター臨床研究センター）展開医療研究部・部長

研究者番号：50283594

研究成果の概要：

心不全のより根本的治療を確立するためには、心筋細胞情報伝達の最終到達点である核内の共通経路を標的とした治療法を確立する必要がある。我々は内因性ヒストンアセチル化酵素（HAT）活性を有する p300 と GATA 転写因子群の協力（p300/GATA経路）が心不全発症における遺伝子発現調節に極めて重要であることを示した（Mol Cell Biol 2003; 23: 3593-606、Circulation 2006; 113: 679-90）。本研究においては、p300によるGATA4のアセチル化部位を同定し（J Biol Chem. 2008;283:9828-35）し、またp300の特異的アセチル化阻害作用を持つクルクミンが心不全の進行を抑制することを高血圧性心疾患ならびに心筋梗塞後の2つの慢性心不全ラットモデルにおいて証明した（J Clin Invest 2008;118:868-878）。

一方、心筋細胞の脱落が激しい末期心不全の根本的な治療には心筋再生療法が必須である。我々は、多分化能と無限増殖能を持つ胚性幹（ES）細胞において、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤であるトリコスタチンA（TSA）による刺激が、ヒストンや転写因子GATA4をアセチル化し、心筋分化効率を著明に上昇させることを見出した（J Biol Chem 2005; 280: 19682-8）。本研究においては、マウス胚性幹（ES）細胞において Cyclin dependent kinase（CDK）9 が転写調節因子 GATA4 と結合し、その分化に関与していること（2007年11月、American Heart Associationにて発表）、ES細胞の分化過程で発現が上昇する miRNA-1 が CDK9 の翻訳抑制を通じて心筋分化を負に制御しているという新たな知見を得た（Circ J in press）。ES細胞と同様の多分化能と無限増殖能を持つ人工多能性幹（iPS）細胞において心筋分化システムを確立し、iPS細胞の株間には大きな分化効率の差異が存在すること、心筋分化効率が極めて低いiPS細胞株でもTSAにより、著明に心筋分化が亢進することを見出した（2008年Regenerative Medicine & Stem Cellで発表）。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	7,600,000	2,280,000	9,880,000
2008年度	6,800,000	2,040,000	8,840,000
年度			
年度			
年度			
総計	14,400,000	4,320,000	18,720,000

研究分野：医歯薬学

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：心不全、再生医療、心筋細胞、転写因子、p300、分化、iPS細胞、肥大

### 1. 研究開始当初の背景

心不全は増加しつつある虚血性心疾患、高血圧性心疾患の最終像であり、この問題を解決することは社会的、臨床的に極めて重要である。これまでの心不全薬物治療は心不全において活性化される細胞外の神経・体液性因子を標的としたものであった。心不全のより根本的治療を確立するためには、心筋細胞情報伝達の最終到達点である核内の共通経路を標的とした治療法を確立する必要がある。我々は内因性ヒストンアセチル化酵素（HAT）活性を有する p300 と GATA 転写因子群の協力（p300/GATA 経路）が心不全発症における遺伝子発現調節に極めて重要であることを示した（Mol Cell Biol 2003; 23: 3593-606、Circulation 2006; 113: 679-90）。これにより心筋細胞核のアセチル化、脱アセチル化のコントロールが心不全の進行に中心的役割

を果たすことが国際的に認識されつつあり、p300 HAT 活性が心不全治療の重要なターゲットであると考えられる。

一方、心筋細胞の脱落が激しい末期心不全の根本的な治療には心筋再生療法が必須である。体性幹細胞の細胞の増殖能・心筋分化能には限界があり、臨床現場で十分な量の心筋細胞を得るのは極めて困難である。我々は、多分化能と無限増殖能を持つ胚性幹（ES）細胞において、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤であるトリコスタチン A（TSA）による刺激が、ヒストンや転写因子 GATA4 をアセチル化し、心筋分化効率を著明に上昇させることを見出した（J Biol Chem 2005; 280: 19682-8）。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は（1）心筋細胞核の過剰なアセチル化を標的とした心不全の新規薬物

療法を確立すること、(2) 末期心不全の心筋再生療法を目指し心筋分化機構を解明することである。

### 3. 研究の方法

最近、健康食品やカレーに用いる香辛料として使用されている天然物ウコンの主成分であるクルクミンが p300 の特異的アセチル化阻害作用を持つということが明らかになった。このクルクミンが心不全治療薬となりうるかどうかを動物モデルで検討した。

最近、ES 細胞と同様の多分化能と無限増殖能を持つ人工多能性幹 (iPS) 細胞が体細胞への遺伝子導入により作出された。マウス胚性幹 (ES) 細胞及び iPS 細胞において心筋細胞分化機構の解明を行った。

### 4. 研究成果

p300 の特異的アセチル化阻害作用を持つクルクミンが心不全の進行を抑制することを高血圧性心疾患ならびに心筋梗塞後の 2 つの慢性心不全ラットモデルにおいて証明した (*J Clin Invest* 2008;118:868-878)。さらに、p300 による GATA4 のアセチル化部位を同定し (*J Biol Chem.* 2008;283:9828-35)、また梗塞後心不全においてクルクミンと心不全の標準治療薬である ACE 阻害薬 (エナラプリル) が相加的に心機能を改善することを見出した。これらの事実は心筋細胞核内情報伝達を標的とした薬物療法が臨床現場において有用であることを示唆する。

マウス ES 細胞において Cyclin dependent kinase (CDK) 9 が転写調節因子 GATA4 と結合し、その分化に関与していること、ES 細胞

の分化過程で発現が上昇すること (2007 年 11 月, American Heart Association にて発表)、miRNA-1 が CDK9 の翻訳抑制を通じて心筋分化を負に制御しているという新たな知見を得た (*Circ J* in press)。複数のマウス iPS 細胞株において心筋分化システムを確立し、iPS 細胞の株間には大きな分化効率の差異が存在すること、心筋分化効率が極めて低い iPS 細胞株でも TSA により、著明に心筋分化が亢進することを見出した (2008 年 *Regenerative Medicine & Stem Cell* で発表)。

### 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 5 件)

① Hosseinkhani M, Hasegawa K, Ono K, Kawamura T, Takaya T, Morimoto T, Wada H, Shimatsu A, Prat SG, Suemori H, Nakatsuji N, Kita T. Trichostatin A induces myocardial differentiation of monkey ES cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 356,386-391,2007, 査読有り

② Morimoto T, Sunagawa Y, Kawamura T, Takaya T, Wada H, Nagasawa A, Komeda M, Fujita M, Shimatsu A, Kita T, Hasegawa K. The dietary compound curcumin inhibits p300 histone acetyltransferase activity and prevents heart failure in rats. *J Clin Invest* 118,868-878,2008 査読有り

③ Takaya T, Kawamura T, Morimoto T, Ono K,

Kita T, Shimatsu A, Hasegawa K. Identification of p300-targeted acetylated residues in GATA4 during hypertrophic responses in cardiac myocytes. J Biol Chem 283, 9828-9835, 2008 査読有り

④Horie T, Ono K, Nagao K, Nishi H, Kinoshita M, Kawamura T, Wada H, Shimatsu A, Kita T, Hasegawa K, Oxidative stress induces GLUT4 translocation by activation of PI3-K/Akt and dual AMPK kinase in cardiac myocytes. J Cell Physiol. 215, 733-742,2008 査読有り

⑤Horie T, Ono K, Kinoshita M, Nishi H, Nagao K, Kawamura T, Abe Y, Wada H, Shimatsu A, Kita T, Hasegawa K., TG-interacting factor is required for the differentiation of preadipocytes. J Lip Res. 6, 1224-1234,2008 査読有り

〔学会発表〕(計2件)

① Takaya T, Hasegawa K. etc. Roles of muscle-specific microRNAs during differentiation of mouse embryonic stem cells into cardiac myocytes. American Heart Association Annual Scientific Sessions 2007, 2007/11/4-7, Orlando, Florida

② 長谷川 浩二 Signaling Pathways That Mediate Differentiation of ES and iPS Cells into Cardiomyocytes. Annual World Congress of Regenerative Medicine & Stem Cell. 2008/12/4 中国 Guangzhou

〔図書〕(計1件)

①森本 達也、長谷川 浩二  
秀潤社, 細胞工学 Vol. 26, 396-400頁2007年  
「転写因子のアセチル化と心臓リモデリング」

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

〔その他〕

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

長谷川 浩二 (Hasegawa Koji)

独立行政法人国立病院機構 (京都医療センター臨床研究センター) 展開医療研究部長

研究者番号: 50283594

### (2) 研究分担者

尾野 亘 (Ono Kou)

京都大学大学院医学研究科 循環器内科 助教

研究者番号: 00359275

### (3) 連携研究者

森崎 隆幸 (Morisaki Takayuki)

国立循環器病センター バイオサイエンス部 部長

研究者番号: 30174410

米田 正始 (Komeda Msashi)

名古屋ハートセンター 副院長

研究者番号: 20303810

平家 俊男 (Heike Toshio)

京都大学大学院医学研究科 小児科 准教授

研究者番号: 9019173