

臓器リモデリングの分子機構：間葉系細胞における遺伝子転写制御と細胞間相互作用

Molecular mechanism of organ remodeling: Gene transcription and cell-cell interaction in mesenchymal cells

永井 良三 (Ryozo Nagai)

東京大学・医学部附属病院・教授



研究の概要

心不全、動脈硬化、メタボリックシンドロームなどの原因である組織の三次元構築の改変（リモデリング）の分子機構について転写因子 **KLF5** を中心とする遺伝子転写ネットワークと老化抑制遺伝子 **Klotho** の観点から検討を行うとともに、新しい治療法へのトランスレーションの基盤的研究を行った。

研究分野／科研費の分科・細目／キーワード

医学／内科・循環器内科学／動脈硬化、組織リモデリング、転写因子、メタボリックシンドローム

1. 研究開始当初の背景・動機

臓器傷害は間葉系細胞や免疫細胞を活性化し、線維化や肥大、さらに3次元構築の改変（リモデリング）を誘導する。その結果、心臓、腎臓、肝臓等では、心不全、腎不全、肝硬変、肝不全等の臓器不全を生ずる。臓器リモデリングに関わる分子機構を解明し、これを抑制することは臓器の機能保護を図る上で重要である。しかしながら臓器リモデリングに関わる細胞の起源やそれらの細胞の活性化機構、とくに遺伝子転写機構については不明の点が多い。ノックアウトマウスの解析から転写因子 **KLF5** が組織リモデリングに重要であると示唆されたため、**KLF5** と **klotho** を中心として研究を行った。

2. 研究の目的

臓器リモデリングの分子機構を解明するため、(1)**KLF5** の核内転写因子ネットワークによる転写調節機構の解明、とくに転写コファクターの同定と *in vivo* における機能解析、(2)発生工学により細胞特異的に **KLF5** 遺伝子発現を修飾したマウスの開発と、これを用いた臓器リモデリング関わる細胞間相互作用の解明、(3)**KLF5** の機能を抑制する低分子化合物のスクリーニング、(4)間質細胞の活性化に関わる新たな転写因子の同定と *in vitro* および *in vivo* における分子機能の解明、(5)老化抑制遺伝子 **klotho** の臓器保護作用に関して検討を行う。

3. 研究の方法

組織特異的な遺伝子改変マウスを含む各種の遺伝子改変マウスを用いて *in vivo* の機能解析を進めるとともに、プロテオミクスなどの技術を用い蛋白質相互作用や機能的相互作用の点から、転写因子ネットワークの解析を行う。

4. 研究の主な成果

心血管系の解析から転写因子 **KLF5** が、血管傷害後の新生内膜形成や心肥大・線維化に重要なことを見いだした。この機能においてはアンジオテンシン II などの外的な刺激に応じて **KLF5** が誘導され、**PDGF-A** などのパラクライン因子の発現を増強することが重要である。また、**KLF5** の機能制御においては、**KLF5** 自体のアセチル化が認められ、また **p300**、**Set** などのコファクターや、レチノイン酸受容体 **RAR** や **NF-κB** といった転写因子との相互作用が重要である。

**KLF5** と **RAR** が相互作用することに着目し、**RAR** のリガンドである合成レチノイド **Am80** が **KLF5** 機能を抑制することを見いだした。さらに **Am80** をマウスやウサギに経口投与することにより、血管傷害後の新生内膜形成、ステント留置後再狭窄が抑制できることが明らかとなった。メカニズムの詳細な解析により、リガンドの結合していない **RAR** が **KLF5** のコアクチベータとして機能して転写を活性化すること、**Am80** は **KLF5/RAR/RXR** からなる活性複合体を破壊することにより **KLF5** 機能を抑制することを報告した。**Am80** については

#### [4. 研究の主な成果 (続き)]

ApoE ノックアウトマウスの動脈硬化を抑制する機能を併せ持つことを明らかにした。

また、KLF5 ヘテロノックアウトマウスの皮下脂肪組織の発育が遅延していることから、KLF5 が脂肪細胞分化に必須の転写因子であることを見いだした。その分子機構を解析し、分化初期に発現する C/EBP と分化後期に機能する PPAR $\gamma$  との機能を結びつける役割を果たしていることを見いだした。

KLF5 がアポトーシス抑制作用を持つことも見だし、このメカニズムに PARP との相互作用が重要であることを報告した。

KLF5 の転写ネットワークについてさらにプロテオミクスで相互作用因子を同定して、機能解析を進めている。また、KLF5 以外の転写因子についても、機能的なスクリーニングとデータベースの検索を組み合わせ同定を進めた。同定した転写因子  $\delta$ EF1 が血管病態における平滑筋形質の調節に重要であることを明らかにした。

老化抑制遺伝子 klotho の機能を解析するため、klotho を発現するアデノウイルスとセンダイウイルスを作成し、klotho が血管保護作用・臓器保護作用を持つことを示した。

#### 5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

臓器リモデリングの詳細な転写調節機構を明らかにした点で画期的な研究成果を挙げた。さらに、心血管系と代謝系で共通した分子機構が病態形成に重要であることを示した点でも画期的である。また、新規治療法へのトランスレーションの基盤を作った点に関して非常に注目されている。

#### 6. 主な発表論文

(研究代表者は太字、研究分担者には下線)

1. Suzuki T, Nishi T, Nagino T, Sasaki K, Aizawa K, Kada N, Sawaki D, Munemasa Y, Matsumura T, Muto S, Sata M, Miyagawa K, Horikoshi M, **Nagai R**. Functional Interaction between the Transcription Factor Kruppel-like Factor 5 and Poly(ADP-ribose) Polymerase-1 in Cardiovascular Apoptosis. *J Biol Chem* 282:9895-9901, 2007.
2. Muto S, Senda M, Akai Y, Sato L, Suzuki T, **Nagai R**, Senda T, Horikoshi M. Relationship between the structure of SET/TAF-Ibeta/INHAT and its histone chaperone activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:4285-4290, 2007.
3. Nishimura G, Manabe I, Tsushima K, Fujiu K, Oishi Y, Imai Y, Maemura K, Miyagishi M, Higashi Y, Kondoh H, **Nagai R**. DeltaEF1 mediates TGF-beta signaling in vascular smooth muscle cell differentiation. *Dev Cell* 11:93-104, 2006.

4. Takeda N, Manabe I, Shindo T, Iwata H, Iimuro S, Kagechika H, Shudo K, **Nagai R**. Synthetic retinoid Am80 reduces scavenger receptor expression and atherosclerosis in mice by inhibiting IL-6. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 26:1177-1183, 2006.
5. Oishi Y, Manabe I, Tobe K, Tsushima K, Shindo T, Fujiu K, Nishimura G, Maemura K, Yamauchi T, Kubota N, Suzuki R, Kitamura T, Akira S, Kadowaki T, **Nagai R**. Kruppel-like transcription factor KLF5 is a key regulator of adipocyte differentiation. *Cell Metab* 1:27-39, 2005.
6. Fujiu K, Manabe I, Ishihara A, Oishi Y, Iwata H, Nishimura G, Shindo T, Maemura K, Kagechika H, Shudo K, **Nagai R**. Synthetic retinoid Am80 suppresses smooth muscle phenotypic modulation and in-stent neointima formation by inhibiting KLF5. *Circ Res* 97:1132-1141, 2005.
7. Matsumura T, Suzuki T, Aizawa K, Munemasa Y, Muto S, Horikoshi M, **Nagai R**. The deacetylase HDAC1 negatively regulates the cardiovascular transcription factor Kruppel-like factor 5 through direct interaction. *J Biol Chem* 280:12123-12129, 2005.
8. Aizawa K, Suzuki T, Kada N, Ishihara A, Kawai-Kowase K, Matsumura T, Sasaki K, Munemasa Y, Manabe I, Kurabayashi M, Collins T, **Nagai R**. Regulation of platelet-derived growth factor-A chain by Kruppel-like factor 5: new pathway of cooperative activation with nuclear factor-kappaB. *J Biol Chem* 279:70-76, 2004.
9. Suzuki T, Muto S, Miyamoto S, Aizawa K, Horikoshi M, **Nagai R**. Functional interaction of the DNA-binding transcription factor Sp1 through its DNA-binding domain with the histone chaperone TAF-I. *J Biol Chem* 278:28758-28764, 2003.
10. Miyamoto S, Suzuki T, Muto S, Aizawa K, Kimura A, Mizuno Y, Nagino T, Imai Y, Adachi N, Horikoshi M, **Nagai R**. Positive and negative regulation of the cardiovascular transcription factor KLF5 by p300 and the oncogenic regulator SET through interaction and acetylation on the DNA-binding domain. *Mol Cell Biol* 23:8528-8541, 2003.
11. Shindo T, Manabe I, Fukushima Y, Tobe K, Aizawa K, Miyamoto S, Kawai-Kowase K, Moriyama N, Imai Y, Kawakami H, Nishimatsu H, Ishikawa T, Suzuki T, Morita H, Maemura K, Sata M, Hirata Y, Komukai M, Kagechika H, Kadowaki T, Kurabayashi M, **Nagai R**. Kruppel-like zinc-finger transcription factor KLF5/BTEB2 is a target for angiotensin II signaling and an essential regulator of cardiovascular remodeling. *Nat Med* 8:856-863, 2002.

ホームページ等

[http:// plaza.umin.ac.jp/nagai/](http://plaza.umin.ac.jp/nagai/)