

Title	X-box binding protein 1 regulates brain natriuretic peptide through a novel AP1/CRE-like element in cardiomyocytes
Author(s)	澤田, 玉季
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/54099">https://hdl.handle.net/11094/54099</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	さわ たくま きよ 季
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 23625 号
学位授与年月日	平成22年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学位論文名	X-box binding protein 1 regulates brain natriuretic peptide through a novel AP1/CRE-like element in cardiomyocytes (小胞体ストレス応答関連転写因子XBP1は新規プロモーター領域を介して心筋細胞におけるBNPの発現を制御する)
論文審査委員	(主査) 教授 小室 一成 (副査) 教授 澤 芳樹 教授 楽木 宏実

### 論文内容の要旨

#### 〔目的〕

臨床現場で心不全の重症度判定指標に用いられている Brain natriuretic peptide (BNP) は、心負荷や神経体液性因子に反応して分泌が亢進することが知られているが、詳細なメカニズムは明らかではない。一方、細胞内小器官の一つである小胞体では分泌蛋白質に高次構造を付加し、蛋白質質管理を恒常的に行なっている。小胞体内に不良蛋白が蓄積しストレスセンサーIRE1 が感知すると、転写因子 X-box binding protein 1 (XBP1) が活性化されてシャペロン (GRP78) を誘導し、小胞体ストレス応答機構が働く。我々は、ヒト不全心筋において、免疫染色上 XBP1 により転写調節をうける GRP78 の発現増加を認めたため報告した。また近年、XBP1 が小胞体ストレス関連遺伝子のみならず、細胞特異的に様々な遺伝子を転写制御することが報告されている。そこで、今回我々は心臓における、小胞体ストレス応答関連転写因子 XBP1 による脳性利尿ペプチド (BNP) の発現制御機構について検討した。

#### 〔方法ならびに成績〕

ヒト不全心筋において XBP1 の活性化を RT-PCR 法を用いて検討し、不全心では XBP1 が活性化されて小胞体ストレスが生じていることを明らかにした。また、ヒト不全心筋において転写因子 XBP1 により誘導される GRP78 や BNP mRNA の発現を realtime PCR 法を用いて検討したところ、両者の増加を認め正の相関を見出した。以上よりヒト不全心筋では XBP1 の活性化と BNP mRNA の発現上昇を認めることが明らかになった。

そこで、小胞体ストレス関連転写因子 XBP1 が BNP mRNA 発現調整に関与するかどうかを以下のように検証した。ラット培養心筋細胞において、薬物的小胞体ストレスにより用量依存性に XBP1 の活性化と核内への移

行を認め、BNP mRNA の発現が上昇した。薬物的小胞体ストレス下に、2種類の siRNA (short interfering RNA) を用いて XBP1 をノックダウンすると、BNP mRNA 発現上昇は抑制された。またラット心筋細胞に対しアデノウイルスを用いて活性型 XBP1 を過剰発現させると、用量依存性に GRP78 と BNP mRNA の発現は増強した。siRNA でノックダウンした活性型 XBP1 を、アデノウイルスを用いて過剰発現させると抑制されていた BNP mRNA は再度上昇を認めた。ラット心筋細胞では、薬物的小胞体ストレスは活性型 XBP1 を介して BNP mRNA を発現上昇させることが明らかになった。次に、活性型 XBP1 による BNP mRNA 発現上昇のメカニズムを明らかにするために、プロモーターアッセイを行った。種々の長さのヒト BNP プロモーターと活性型 XBP1 を、エレクトロポレーション法を用いてラット心筋細胞に導入した。ヒト BNP プロモーター (-101 ~ -111) の間で、活性型 XBP1 によるプロモーター活性の上昇が認められ、in silico の解析により同部位が AP1/CRE-like element に相当することが明らかとなった。またヒト BNP プロモーター (+63 ~ -1780) は活性型 XBP1 により活性の上昇を認め、同プロモーターから AP1/CRE-like element を欠損させると XBP1 によるプロモーター活性の上昇は抑制された。次にクロマチン免疫沈降アッセイを用いて、活性化 XBP1 が BNP プロモーターに存在する AP1/CRE-like element に結合するか否かを検討した。ラット心筋細胞に活性型 XBP1 を過剰発現させ XBP1 で免疫沈降し AP1/CRE-like element 前後で PCR を行ったときのみプロモーターが検出された。以上より小胞体ストレス関連転写因子 XBP1 が AP1/CRE-like element を介して BNP の発現を制御することを明らかにした。

#### 〔総括〕

本研究は小胞体ストレス関連転写因子によるナトリウム利尿ペプチド発現制御を示した最初の報告である。BNP 上昇を認める心血管系疾患の病態に小胞体ストレスが強く関与することが示唆された。また、BNP は心保護効果を有する利尿ペプチドであり、XBP1 や AP1/Cre-like element 結合因子を標的とした新しい治療薬の開発が期待できる。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は小胞体ストレス応答関連転写因子 X-box binding protein 1 (XBP1) による脳性利尿ペプチド (BNP) の発現制御機構について検討したものである。ヒト不全心サンプルにおいて XBP1 の活性化と小胞体シャペロンや BNP の発現増加を認め、不全心では小胞体ストレスが生じていることを見出した。次に、培養心筋細胞において薬物的小胞体ストレスによる BNP 発現上昇は、転写因子 XBP1 を介しており、XBP1 により BNP 発現が制御されることを明らかにした。また BNP プロモーター (-101~-111) に存在する AP1/CRE-like element が活性型 XBP1 による BNP プロモーター活性上昇に重要であり、活性型 XBP1 は AP1/CRE-like element に結合することを示した。本研究は、小胞体ストレスとナトリウム利尿ペプチド系との関連を示した初めての報告であり、学位の授与に値すると考えられる。