

平成 30 年 5 月 24 日現在

機関番号：11301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2016～2017

課題番号：16H07149

研究課題名(和文) 転写因子GATA3を中心とした顎顔面形成シグナルネットワークの解明

研究課題名(英文) The role of a transcriptional factor GATA3 in maxillofacial development

研究代表者

大槻 晃史(Otsuki, Akihito)

東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・助教

研究者番号：30778022

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：Zinc finger型転写因子GATA3は胎生期の様々な臓器・組織に発現し、これらの発生や形態形成に重要な役割を果たしている。今回我々は、胎生期の顎顔面領域におけるGATA3の発現プロファイルを詳細に解析するとともに、GATA3低発現マウスが口蓋形態の異常および腎臓の形成不全を呈し、出生後早期に死亡することを明らかにした。また、酵母人工染色体(YAC)トランスジェニックマウスの解析から、Gata3遺伝子座の周囲約662kbの領域が、胎生期の鰓弓および尿管原基におけるGATA3の発現に重要な役割を担っていることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：GATA3 is a zinc finger transcription factor that plays a crucial role in embryonic tissue development. Here, we analyzed the expression profile of GATA3 in pharyngeal arch, and demonstrate that Gata3 hypomorphic mutant mice exhibit neonatal lethality associated with oral and renal malformation. Moreover, we found that the 662-kb Gata3 yeast artificial chromosome (YAC) recapitulated Gata3 expression in pharyngeal arch and renal tubules. A transgenic rescue mouse line generated by breeding the hypomorphic mutant with a transgenic mouse line bearing the YAC construct survived to adulthood. These result shows a crucial role for GATA3 in maxillofacial development.

研究分野：医化学、分子生物学

キーワード：GATA3 転写制御

### 1. 研究開始当初の背景

組織の発生、分化に関わる遺伝子群の発現制御機構の破綻は、臨床的にも先天奇形として様々な障害を引き起こすことが知られている。例えば、口唇口蓋裂は、顎顔面領域において最も高頻度な先天性疾患であるが、その分子メカニズムには不明な点が多い。

GATA3 転写因子は、胎生期から出生後にかけて特徴的な組織特異的な発現プロファイルをもつ転写因子であり、発現する組織の発生・維持に重要な役割を担っている。GATA3 ノックアウトマウスは顎顔面領域の著しい形成不全をきたすことから、GATA3 は顎顔面形成に関わっていると考えられている。しかしながら、*Gata3* 遺伝子自身の顎顔面特異的な発現制御機構や、GATA3 の下流に存在する標的遺伝子は全く明らかではない。

また、GATA3 は、口蓋裂を示す疾患である HDR 症候群の原因遺伝子であることが知られている。本研究によって、GATA3 を中心とした顎顔面発生機構を明らかにすることは、様々な先天性疾患の病態解明と治療法の確立に寄与するものである。

### 2. 研究の目的

顎顔面領域での *Gata3* 遺伝子の発現制御機構を明らかにし、形態形成における機能解析を行う。

### 3. 研究の方法

- (1) マウス顔面領域における GATA3 発現プロファイルの同定

*Gata3* 遺伝子座に LacZ 遺伝子をノックインしたマウス (*Gata3<sup>LacZ/+</sup>*) を用いて、LacZ 染色を実施し、胎生期に GATA3 を高発現している部位を明らかにした。

- (2) GATA3 ノックダウンマウスの表現型解析

*Gata3* 遺伝子座に GATA3-緑色蛍光タンパク質 (GFP) カセットを挿入したマウス (GATA3 ノックダウンマウス) では、変異アリルからの GATA3 発現量が正常アリルの約 10-25%程度に減弱している。そこで、このマウスを用いて、顎顔面領域における表現型が生じるか検討を行った。

- (3) 顎顔面における *Gata3* 遺伝子制御領域の同定

*Gata3* 遺伝子の発現制御メカニズムを明らかにすべく、酵母人工染色体トランスジェニック (YAC-Tg) マウスを用い、その発現に重要な制御領域の同定を試みた。ま

ず、*Gata3* 遺伝子座の周囲約 662kb を含む領域と LacZ レポーター遺伝子を持つ YAC トランスジェニックマウス (*Tg<sup>B125-LacZ</sup>* マウス) を作製し、胎生期の GATA3 発現プロファイルを再現できるか検討した。

次に、同制御下において GATA3 を発現させることで、GATA3 ノックダウンマウスに見られる表現型をレスキューすることができるかを検討した。

### 4. 研究成果

- (1) マウス顔面領域における GATA3 発現プロファイルの同定

胎生 12.5 日齢のマウス胎児を用いた LacZ 染色の結果、上顎、中脳、交感神経節および内耳において特に GATA3 が高発現していることが明らかとなった。

- (2) GATA3 ノックダウンマウスの表現型解析

GATA3 ノックダウンマウスは空気嚙下および腎臓の形成不全を示し、出生後早期に死亡した。同マウスを注意深く観察すると、軟口蓋裂 (図 1) を呈しており、これに伴って異常な空気嚙下が生じていたものと考えられた。また、腎臓では著名な繊維化と糸球体数の減少が認められた。

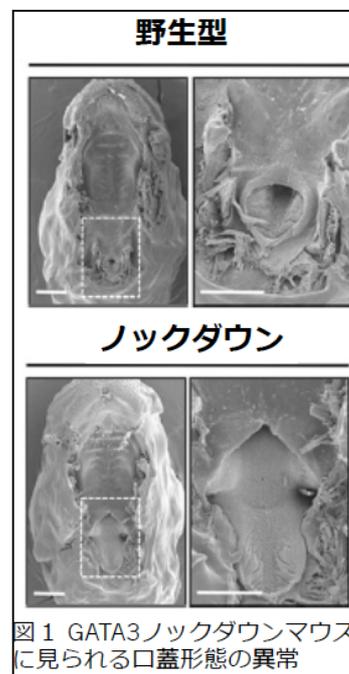


図 1 GATA3ノックダウンマウスに見られる口蓋形態の異常

※発表論文 6 より引用・一部改変

- (3) 顎顔面における *Gata3* 遺伝子制御領域の同定

*Gata3* 遺伝子座周囲約 662kb の制御下で LacZ レポーターを発現する YAC トランスジェニックマウス (*Tg<sup>B125-LacZ</sup>* マウス) を樹立し、胎生期における GATA3 発現プロ

ファイルをどの程度網羅することができるか、検討した。その結果、Tg<sup>B125</sup>LacZ マウスでは、Gata3<sup>LacZ/+</sup>マウスと同様に、胎生10.5日齢の鰓弓および腎臓原基においてLacZ レポーターの発現が観察された(図2)。

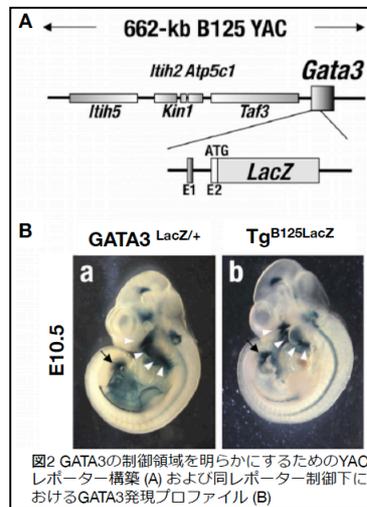


図2 GATA3の制御領域を明らかにするためのYACレポーター構築(A)および同レポーター制御下におけるGATA3発現プロファイル(B)

※発表論文6より引用・一部改変  
次に、同制御領域下でGata3遺伝子を発現するマウス(Tg<sup>B125-Gata3</sup>)を樹立し、GATA3ノックダウンマウスと交配することで、GATA3ノックダウンマウスに見られる致死的表现型をレスキューすることができるかを検討した。その結果、Tg<sup>B125-Gata3</sup>アリルをもつGATA3ノックダウンマウスは成獣まで生存可能であることが明らかとなった(表1)。

	Tg-	Tg+
野生型	24	21
ノックダウン	0	18

※発表論文6より引用・一部改変  
今後、より詳細な表現型解析を行うとともに、顎顔面におけるGATA3転写因子の標的遺伝子を明らかにすることで、胎生期における複雑な顎顔面形態形成の分子メカニズムおよび様々な病態解明につながるものと期待される。

## 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6件)

1. Katayama S, Suzuki M, Yamaoka A, Keleku-Lukwete N, Katsuoka F, Otsuki A, Kure S, Engel JD, Yamamoto M. GATA2 haploinsufficiency accelerates EVI1-driven leukemogenesis.

*Blood*, 130, 908-919 (2017) 査読有  
doi; 10.1182/blood-2016-12-756767

2. Yu L, Takai J, Otsuki A, Katsuoka F, Suzuki M, Katayama S, Nezu M, Engel JD, Moriguchi T, Yamamoto M. Derepression of the DNA methylation machinery of Gata1 gene triggers the differentiation cue for erythropoiesis. *Mol Cell Biol*. 37, e00592-16 (2017) 査読有 doi; 10.1128/MCB.00592-16
3. Tsuchida K, Tsujita T, Hayashi M, Ojima A, Keleku-Lukwete N, Katsuoka F, Otsuki A, Kikuchi H, Oshima Y, Suzuki M, Yamamoto M. Halofuginone enhances the chemo-sensitivity of cancer cells by suppressing NRF2 accumulation. *Free Radic Biol Med*. 103, 236-247 (2017) 査読有 doi; 10.1016/j.freeradbiomed.2016.12.041
4. 大槻晃史, 山本雅之. CNC-小Maf二量体による特殊なシス配列認識がつかさどる多様な生理的機能. *生化学*. 89-2 (2017) 査読有 doi:10.14952/SEIKAGAKU.2017.890278
5. Suzuki M, Otsuki A, Keleku-Lukwete N, Yamamoto M. Overview of redox regulation by Keap1-Nrf2 system in toxicology and cancer. *Curr Opin in Toxicol*. 1, 29-36 (2016) 査読有 doi; 10.1016/j.cotox.2016.10.001
6. Moriguchi T, Yu L, Otsuki A, Ainoya K, Lim KC, Yamamoto M, Engel JD. Gata3 Hypomorphic Mutant Mice Rescued with a Yeast Artificial Chromosome Transgene Suffer a Glomerular Mesangial Cell Defect. *Mol Cell Biol*. 36, 2272-2281 (2016) 査読有 doi; 10.1128/MCB.00173-16

[学会発表](計3件)

1. 大槻晃史, 勝岡史城, 山本雅之. Maf認識配列を介した転写制御の破綻によって生じる致死的表现型の解析. 第2回酸素生物学 & ダイニングコード合同若手会議, 仙台秋保温泉 岩沼屋, 宮城県仙台市, 2018年1月30日-2月1日
2. 大槻晃史, 勝岡史城, 山本雅之. Maf認識配列(MARE)を介した転写制御の破綻によって生じる致死的表现型の解析. 2017年度生命科学系学会合同年次大会, 神戸ポートアイランド, 兵庫県神戸市, 2017年12月6日-9日

3. 森口尚, 于磊, **大槻晃史**, 山本雅之,  
エンゲル ジェームスダグラス, 転写因  
子 GATA3 低発現マウスはメサンギウム  
増殖性糸球体腎炎を呈する. 第 89 回  
生化学会大会, 仙台国際センター・東  
北大学川内北キャンパス, 宮城県仙  
台市, 2016 年 9 月 25-27 日

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大槻 晃史 (OTSUKI AKIHITO)

東北大学・東北メディカル・メガバンク機  
構・助教

研究者番号 : 30778022