

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2016

課題番号：24590371

研究課題名(和文) GATA転写因子群による腎臓機能維持を介した慢性腎臓病の予防戦略

研究課題名(英文) GATA factor-mediated maintenance of renal function

研究代表者

森口 尚 (MORIGUCHI, Takashi)

東北医科薬科大学・医学部・教授

研究者番号：10447253

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：腎系球体メサンギウム細胞と腎尿細管細胞は、腎機能維持の根幹を担う細胞群である。我々は、GATA転写因子群のGATA2およびGATA3が、尿細管細胞とメサンギウム細胞に特異的に発現することを発見した。GATA3はメサンギウム細胞の維持に必須であり、GATA3を欠損すると糸球体腎炎を自然発症した。GATA2は腎集合管細胞において、水再吸収関連遺伝子群と炎症関連遺伝子群を制御することが解った。急性腎臓病誘導時には、GATA2は炎症関連遺伝子群の発現活性化に関わるため、GATA2欠損マウスでは腎臓病誘導への耐性が観られた。GATA因子阻害剤の投与は、急性腎臓病誘導時の炎症症状を抑制し腎障害を軽減した。

研究成果の概要(英文)：We demonstrated that zinc finger transcription factors, i.e., GATA2 and GATA3 is specifically expressed in renal collecting duct cells and glomerular mesangial cells, respectively. GATA3 plays a critical role for maintenance of the glomerular mesangial cells. Hence, GATA3-deficiency led to the occurrence of spontaneous glomerulonephritis. GATA2 regulates a series of genes involved in water-reabsorption. Therefore, renal tubular cell-specific GATA2-deficient mice exhibited higher amount of urine. GATA2 also participates in the regulation of induced expression of inflammatory cytokine genes in the diseased kidney. The renal tubular cell-specific GATA2-deficient mice showed reduced expression level of the inflammatory cytokine genes and resistance against acute kidney injury. Furthermore, a newly identified GATA-inhibitor nicely ameliorated renal damages in the diseased kidney. Collectively, we propose that GATA2 can be a potential therapeutic target for the inflammatory kidney diseases.

研究分野：分子遺伝学

キーワード：メサンギウム細胞 腎臓病 虚血再還流障害 GATA因子 尿細管

1. 研究開始当初の背景

腎臓での糸球体メサンギウム細胞傷害と尿細管機能の破綻は、腎臓病病態形成の中心となるイベントである。しかし、これらの病理学的変化の分子メカニズムは、未だ明らかではない。我々は、GATA 転写因子群が腎臓の初期発生に必須な因子であることを明らかにしてきた。一方、成体腎臓においてはGATA 転写因子群の GATA2 および GATA3 が、尿細管細胞および腎糸球体メサンギウム細胞のそれぞれで特異的に発現することを発見した。また近年、ヒト GATA3 遺伝子変異家系においてメサンギウム増殖性糸球体腎炎の発症が報告され、GATA 因子がヒト腎臓機能維持に重要な役割を果たすことが示唆されている。

2. 研究の目的

腎臓内において GATA2 は尿細管細胞に、GATA3 は糸球体メサンギウム細胞に特異的に発現することから、GATA2 と GATA3 が、それぞれの発現細胞において、細胞の恒常性維持と腎臓病発症防止のために機能していると予測した。そこで本研究では、それぞれの細胞系列での GATA2 および GATA3 欠失マウスを用いて、その生理機能と病態時での役割を明らかにする。さらに、GATA 因子の機能を修飾する化合物を用いて、腎臓病誘導に対する予防・治療効果を明らかにする。

3. 研究の方法

本申請研究では、メサンギウム細胞および尿細管細胞での GATA2 および GATA3 の生理機能と病態時の機能を理解するために、以下の研究を進める。

- (1) 糸球体メサンギウム細胞特異的な GATA3 欠失マウスを作成し、GATA3 の糸球体機能維持と糸球体腎炎予防への貢献を明らかにする。
- (2) 尿細管細胞特異的に GATA2 を欠損するマウスを樹立し、尿細管での GATA2 の生理機能と腎臓病誘導に対する感受性を評価する。
- (3) GATA 転写因子の機能を修飾する化合物を用いて、腎臓病誘導に対する予防・治療効果を評価する。

4. 研究成果

- (1) GATA3 の部分欠損マウスとトランスジェニックマウスレスキュー法を組み合わせ、メサンギウム細胞特異的 GATA3 遺伝子欠損マウスを創出した (G3YR マウス)。G3YR マウスは、生後1ヶ月以降、メサンギウム基質増殖性腎炎を自然発症した。血清クレアチニンレベル、血中尿

素窒素レベルの増加を認め、腎機能障害の症状を示した。G3YR マウスのメサンギウム細胞では、糸球体傷害の原因となるセリンプロテアーゼインヒビターである、メグシン遺伝子の発現レベルが著しく増加していた。GATA3 は糸球体の発生維持に必須である PDGFR の発現を維持することにより、正常なメサンギウム細胞の維持に貢献することが解った。

- (2) GATA2 は腎集合管細胞において、水チャネルの Aqp2 やバゾプレッシン受容体の Avpr2 など、水再吸収に関わる遺伝子群を包括的に制御することが解った。そのため、尿細管細胞特異的な GATA2 欠損マウス (G2CKO マウス) は著しい多尿を示した。また、虚血再灌流による急性腎臓病誘導時には、GATA2 が炎症性サイトカイン遺伝子群の発現活性化に関わることが解った。そのため G2CKO マウスは、急性腎臓病誘導に対して耐性を示した。
- (3) 新たに同定した GATA 因子阻害剤のミトキサントロン投与により、急性腎臓病誘導時の炎症性サイトカイン遺伝子発現誘導が抑制され、腎傷害の症状が軽減した。今後、GATA 因子を標的とした創薬により腎臓病の新たな治療薬が開発され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13件)

- (1) 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*. 2017 Jan 9. pii: MCB.00592-16. doi: 10.1128/MCB.00592-16.
- (2) Moriguchi T, Yu L, Otsuki A, Ainoya K, Yamamoto M, Engel JD. Gata3 hypomorphic mutant mice rescued with a YAC transgene suffer a glomerular mesangial cell defect. *Mol Cell Biol*. 2016 36(17): 2272-2281. doi: 10.1128/MCB.00173-16.
- (3) Kobayashi EH, Suzuki T, Funayama R, Nagashima T, Hayashi M, Sekine H, Tanaka N, Moriguchi T, Motohashi H, Nakayama K, Yamamoto M. Nrf2 suppresses macrophage inflammatory response by blocking proinflammatory cytokine transcription. *Nat Commun*. 2016 May 23; 7:11624. doi: 10.1038/ncomms11624.
- (4) Moriguchi T. Versatile activity of the master

- regulator of the antioxidant response in tumor initiation, progression and metastasis. *Cancer Cell & Microenvironment*. 2016. 3: e1355. doi: 0.14800/ccm.1355 (2016)
- (5) Satoh H, Moriguchi T, Saigusa D, Baird L, Yu L, Ebina M, Shibata T and Yamamoto M. NRF2 prevents cancer initiation by intensifying host defense systems, while accelerating cancer cell growth in chemical-induced lung carcinogenesis. *Cancer Research*. 2016. 76: 3088-3096. doi:10.1158/0008-5472.CAN-15-1584.
- (6) Keleku-Lukwete N, Suzuki M, Ohtsuki A, Tsuchida K, Katayama S, Hayashi M, Naganuma E, Moriguchi T, Tanabe O, Engel JD, Imaizumi M and Yamamoto M. Amelioration of inflammation and tissue damage in sickle cell model mouse by Nrf2 activation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015. 112: 12169-12174.
- (7) Moriguchi T, Yu L, Takai J, Hayashi M, Satoh H, Suzuki M, Ohneda K, Yamamoto M. The Human GATA1 Gene Retains a 5' Insulator that Maintains Chromosomal Architecture and GATA1 Expression Levels in Splenic Erythroblasts. *Mol Cell Biol*. 2015. 35: 1825-1837.
- (8) Hayashi M, Takai J, Yu L, Motohashi H, Moriguchi T, Yamamoto M. Whole-body in vivo monitoring of inflammatory diseases exploiting human interleukin 6-luciferase transgenic mice. *Mol Cell Biol*. 2015. 35: 3590-3601.
- (9) Moriguchi T*, Suzuki M, Yu L, Takai J, Ohneda K, Yamamoto M. Progenitor stage-specific activity of a *cis*-acting double GATA motif for *Gata1* gene expression. *Mol Cell Biol*. 2015. 35: 805-815. *corresponding author
- (10) Morito N, Yoh K, Ojima M, Okamura M, Fujita A, Nakamura M, Hamada M, Moriguchi T, Yamagata K and Takahashi S. MafB plays a protective role in diabetic nephropathy through slit-diaphragm proteins, anti-oxidative enzymes and Notch pathways of podocytes. *J Am Soc Nephrol*. 2014. 2546-2557.
- (11) Hamada M, Nakamura M, Tran MT, Moriguchi T, Hong C, Ohsumi T, Dinh TT, Kusakabe M, Hattori M, Katsumata T, Arai S, Nakashima K, Kudo T, Kuroda E, Wu CH, Kao PH, Sakai M, Shimano H, Miyazaki T, Tontonoz P, Takahashi S. MafB promotes atherosclerosis by inhibiting foam-cell apoptosis. *Nat Commun*. 2014. 5:3147. doi: 10.1038/ncomms4147.
- (12) Hamada M, Nakamura M, Tran MT, Moriguchi T, Hong C, Ohsumi T, Dinh TT, Kusakabe M, Hattori M, Katsumata T, Arai S, Nakashima K, Kudo T, Kuroda E, Wu CH, Kao PH, Sakai M, Shimano H, Miyazaki T, Tontonoz P, Takahashi S. MafB promotes atherosclerosis by inhibiting foam-cell apoptosis. *Nat Commun*. 2014. 5:3147. doi: 10.1038/ncomms4147.
- (13) Takai J, Moriguchi T*, Suzuki M, Yu L, Ohneda K, and Yamamoto M. *Gata1* 5' regulatory region harbors distinct *cis*-regulatory modules that direct gene activation in erythroid cells and inactivation in HSCs. *Blood*. 2013. 122:3450-3460. *corresponding author
- (学会発表) (計8件)
- (1) 森口尚, 山本雅之, エンゲル ジェームス ダグラス. Gata3 Hypomorphic Mutant Mice Rescued with a Yeast Artificial Chromosome Transgene Suffer a Glomerular Mesangial Cell Defect. 第 39 回 日本分子生物学会 年会 (神奈川県・横浜市)2016 年 11 月 30 日.
- (2) 森口尚, 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 (宮城県・仙台市) 2016 年 9 月 25-27 日.
- (3) 林 真貴子, 森口 尚, 鈴木 未来子, 小林 枝里, 山本 雅之. 生体防御因子 Nrf2 の遺伝的および薬剤誘導的活性化は多発性硬化症の症状を改善する. 第 89 回生化学会大会 (宮城県・仙台市)2016 年 9 月 25-27 日.
- (4) 佐藤 大希, 森口 尚, 六反 啓文, 海老名 雅人, 柴田 龍弘, 山本 雅之. 抗酸化ストレス転写因子 Nrf2 過剰発現マウスの著明な肺発癌抑制能を誘導する機構. 第 75 回 日本癌学会学術総会. (神奈川県・横浜市) 2016 年 10 月 7 日.
- (5) 森口 尚. Mechanisms of Gata1 gene inactivation in hematopoietic stem cells. 第 38 回日本分子生物学会年会ワークショップ (兵庫県・神戸市) 2015 年 12 月 2 日.
- (6) 林 真貴子, 高井 淳, 于 磊, 本橋 ほづみ, 森口 尚, 山本 雅之. ヒトILモニターマウスを用いた in vivo イメージングによる炎症状態解析システムの開発とその利用. 第 88 回日本生化学会大会・第 38 回日本分子生物学会年会合同大会 (兵庫県・神戸市) 2015 年 12 月 3 日.

- (7) 森口 尚. 転写因子 GATA2 の腎集合管での生理機能について. 第1回 川島カンファレンス(岐阜県・各務原市)2015年11月15日
- (8) Moriguchi T. Human GATA1 BAC DNA harboring a chromatin insulator recapitulates the spatiotemporal expression pattern of mouse Gata1 and rescues the hematopoietic deficiency in Gata1.05 knockdown mutant mice. 19th Annual Hemoglobin Switching Conference. (イギリス・オクスフォード). Sep 5th 7th, 2014.

[その他]

ホームページ等

<http://www.tohoku-mpu.ac.jp/medicine/about/dm/bc/>

6 . 研究組織

森口 尚 (MORIGUCHI, Takashi)
東北医科薬科大学・医学部・教授
研究者番号 : 1 0 4 4 7 2 5 3

(2)研究分担者

()

研究者番号 :

(3)連携研究者

森戸 直記 (MORITO, Naoki)
筑波大学・医学医療系・講師
研究者番号 : 7 0 4 6 3 8 2 5

阿部 倫明 (ABE, Michiaki)
東北大学・大学病院・講師
研究者番号 : 4 0 4 0 0 2 4 6

(4)研究協力者

()