

GATA2 regulates body-water homeostasis through maintaining Aquaporin 2 expression in renal collecting ducts.

著者	于 磊
号	84
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3358号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/61290">http://hdl.handle.net/10097/61290</a>

氏名	ウレイ 于磊
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	2015年3月25日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程) 医科学 専攻
学位論文題目	GATA2 regulates body-water homeostasis through maintaining Aquaporin 2 expression in renal collecting ducts. (転写因子 GATA2 は腎集合管でのアクアポリン2 遺伝子発現制御を介して体液バランスを制御する)
論文審査委員	主査 教授 山本 雅之 教授 本橋 ほづみ 教授 清水 律子

## 論文内容要旨

The transcription factor GATA2 plays a crucial role in early developmental stages of kidney, while its expression pattern and physiological functions in adult kidney is largely unclear. I examined the tissue distribution GATA2 in kidney of adult mice taking advantages of *Gata2*<sup>GFP/+</sup> mice, in which GFP fluorescence faithfully recapitulates the endogenous GATA2 expression. Immunohistochemical analysis revealed a robust GFP expression specifically in the renal medulla, where renal collecting ducts (CD) are mainly distributed. I found that a series of CD cell-specific markers were abundantly expressed in the flow cytometry-sorted GFP-positive cells, indicating that GATA2 is predominantly expressed in the CD cells. To address physiological function of GATA2 in the CD cells, I generated renal tubular cell-specific *Gata2*-deficient mice (*Gata2*-CKO) by crossing *Gata2* floxed mice with renal tubular cell-specific and doxycycline-inducible *Pax8*-Cre mice. I found that the *Gata2*-CKO mice exhibited high 24-hr urine volume and low urine osmolality, two important signs of diabetes insipidus. Consistently, the *Gata2*-CKO mice showed a significantly decreased level of Aquaporin 2 (*Aqp2*) that is an important water channel expressed in CD and responsible for reabsorption of water from urine. To address the molecular mechanism underlying the GATA2-*Aqp2* regulatory axis, I introduced biotin-tagged GATA2 into a mouse CD-derived cell line and performed chromatin pull-down assays. Our result revealed direct GATA2-binding to conserved GATA motifs in the *Aqp2* promoter region. A luciferase reporter assay by using an *Aqp2* promoter-reporter showed that GATA2 trans-activates *Aqp2* promoter activity through the GATA motifs. These results thus demonstrate that GATA2 contributes to the maintenance of the body-water homeostasis by directly transactivating the *Aqp2* gene expression in CD cells of adult mouse kidney.

## 審査結果の要旨

博士論文題目 GATA2 regulates body-water homeostasis through maintaining Aquaporin 2 expression in renal collecting duct.(転写因子 GATA2 は腎集合管でのアクアポリン2 遺伝子発現制御を介して体液バランスを制御する)

所属専攻・分野名 医科学専攻・医化学分野

氏名 于 磊

Zn フィンガー型転写因子 GATA2 は腎尿路系発生に重要な役割を果たすことが知られている。一方、成体マウス腎臓内での *Gata2* 遺伝子の発現分布や、その生理機能は明らかになっていない。本研究では、*Gata2* 遺伝子座に GFP（緑色蛍光タンパク質）遺伝子を挿入したマウスを用いて解析を行い、*Gata2* 遺伝子が腎集合管特異的に発現することを明らかにした。さらに、尿細管細胞特異的に *Gata2* 遺伝子を欠失する条件つき欠失マウス (*Gata2* CKO マウス) を用いた解析から、本マウスが多尿と尿濃縮障害を呈することを示した。その後の分子生物学的解析から、GATA2 が水チャネルであるアクアポリン2 遺伝子の発現レベルを維持することにより、尿からの水再吸収を促進し、体液恒常性を保つ役割を担うことを解明した。これらの結果は、本 *Gata2* CKO マウスが、アクアポリン2 レベルの低下による、ヒト腎性尿崩症のモデルとなることを示す。

臨床において、様々な基礎疾患に合併し、アクアポリン2 レベルの低下による続発性腎性尿崩症を発症することが知られている。本研究では、このような続発性腎性尿崩症に *Gata2* 遺伝子の発現レベル低下が関わる可能性が考察されており、さらなる解析により新たな病態メカニズムの解明や、治療法の開発につながる可能性が論じられている。このようにマウス解析により得られた知見からヒト疾患の病態メカニズムを分子レベルで解明する可能性が示されたことは、臨床につながりうる基礎医学研究として、非常に評価すべき点であると考えられる。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。