

## 転写因子による細胞外マトリックス制御機構から迫る脳小血管病発症機序の解明

高井 淳

東北医科薬科大学医学部 医化学教室

### 【研究の背景】

脳小血管の硬化、虚血性変化などの異常は、近年では脳小血管病 (cerebral small vessel disease, CSVD) と総称され、脳出血・脳梗塞のみならず、歩行障害や認知機能低下を含む多彩な臨床症状の主要な病因となることが明らかになりつつある。超高齢社会を迎えた本邦において、CSVD は要介護状態や認知症の根底にある原因として注目されており、その発症機序を分子レベルで理解することは、新規予防法・治療法の開発に直結する重要な課題である。GATA2 は DNA 上の GATA モチーフに結合するジンクフィンガー型転写因子で、血液系細胞および血管内皮細胞の分化・成熟・恒常性維持に必須であり、白血病や免疫不全との関連がこれまでに数多く報告されている。一方で、成体脳における GATA2 の機能や、脳血管 ECM 制御への関与については十分に検討されていない。2023 年には GATA2 ハプロ不全患者において小血管性の脳梗塞が集積して認められることが報告され、GATA2 の異常が CSVD の発症・進展に関与する可能性が強く示唆されたが、その分子基盤は未解明であった。

### 【目 的】

本研究では、主に生化学的・分子生物学的手法を用いて、GATA2 が脳小血管に及ぼす影響を解析し、CSVD 発症への関与機序を明らかにすることを目的とした。具体的には、①成体脳における GATA2 発現細胞集団とその空間的分布を明らかにすること、②GATA2 の発現変動が細胞外基質 (extracellular matrix, ECM) 関連遺伝子群の転写およびクロマチン構造に与える影響を包括的に解析すること、③CSVD と関連する ECM 因子との接点を見出し、GATA2 異常と CSVD 病態を結びつける分子メカニズムの候補を提示することを目指した。

### 【方 法】

成体脳組織における GATA2 の発現部位には未解明な点が多いため、GATA2 遺伝子座に GFP をノックインした GATA2-GFP ノックインマウスを用いて、その発現分布を詳細に検討した。脳単細胞懸濁液を用いたフローサイトメトリー解析により、血管内皮マーカーと GFP の共発現を定量評価するとともに、透明化処理 (clearing) を施した脳標本に対する GFP 免疫染色および 3 次元イメージングにより、脳全体における GATA2 陽性血管ネットワークの空間分布を可視化した。さらに、ドキシサイクリン誘導性に GATA2 を発現する安定細胞株を樹立し、GATA2 非発現条件と比較しながら RNA-seq により網羅的な遺伝子発現変化を評価した。同時に、ATAC-seq によるクロマチンアクセス性解析、および CUT&Tag による GATA2 結合部位の同定を実施し、転写制御とクロマチン構造を統合した形で GATA2 標的遺伝子群の同定を試みた。得られたオミクスデータに対しては、機能アノテーション解析や経路解析を行い、特に ECM 関連経路および CSVD 関連遺伝子群との関連性を重点的に検討した。

### 【結 果】

GATA2-GFP ノックインマウスを用いたフローサイトメトリー解析および透明化処理を施した脳標本における GFP 免疫染色

の結果から、GATA2 はマウス成体脳の広範な血管内皮細胞集団に発現していることが示され、皮質・皮質下白質・海馬・基底核など、CSVD 病変が問題となる領域にも GFP 陽性血管が連続的に分布していた。また、ドキシサイクリン非投与 (GATA2 非発現) 群とドキシサイクリン投与群 (GATA2 発現) を比較した RNA-seq 解析から、GATA2 誘導により細胞外基質関連遺伝子群の発現が有意に増加した。特に、CSVD と関連が報告されている IV 型コラーゲンをコードする *Col4a1/Col4a2* 遺伝子座において、GATA2 が遺伝子制御領域に直接結合することが CUT&Tag により示され、ATAC-seq 解析でも同領域のクロマチンアクセス性が増加していた。これらの変化に対応して、*Col4a1/Col4a2* の mRNA 発現量は 10 倍以上に増加しており、GATA2 が ECM 関連遺伝子群の転写活性化とクロマチン構造変化を協調的に制御していることが示唆された。

## 【考 察】

本研究は、GATA2 が *Col4a1/Col4a2* をはじめとする ECM 関連遺伝子群の転写とクロマチンアクセス性を高めることを示し、GATA2 が脳血管における ECM 制御のマスター調節因子として機能し得ることを明らかにした。本研究は ECM 異常、なかでも IV 型コラーゲンを中心とした基底膜の量的・質的变化が、GATA2 依存的な転写制御異常と結びつく可能性を具体的なメカニズムとして提示した。GATA2 ハプロ不全患者で報告された小血管性脳梗塞の集積は、GATA2 活性低下により脳血管基底膜の恒常性が破綻し、血管脆弱性や局所虚血が生じやすくなっている状態と想定され、本研究結果はその生物学的妥当性を支持するものである。今後は、マウス個体での病態モデルにおいて GATA2 機能阻害／過剰発現を行い、血管構造変化、血流動態、認知機能などを総合的に解析することで、GATA2 異常が CSVD 病態に及ぼす影響をより直接的に検証する必要がある。また、ヒト臨床検体を用いた GATA2 発現および ECM 構成の解析は倫理手続きの見通しが立っており、患者病理像と本研究で得られた分子メカニズムを結びつける重要なステップになると考えられる。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究は、脳卒中や認知症の原因となる CSVD に対し、GATA2 による脳小血管 ECM 制御異常という新たな病態機序を提示するものである。現在、CSVD に対する臨床的介入は主として降圧療法等の対処療法に限られており、分子レベルの病態に基づく標的治療は確立していない。本研究により、GATA2 およびその下流の ECM 異常が CSVD の発症・進展に関わることが示されれば、GATA2 活性や ECM 異常を指標としたリスク評価・早期診断、さらには病勢モニタリングのための新規バイオマーカーの開発につながると期待される。また、GATA2 自体やその下流経路を標的とした分子標的治療薬、あるいは ECM 恒常性を是正する治療介入は、従来とは異なる機序をもつ CSVD 治療戦略として位置づけられうる。本研究を進展させることで、個々の患者の遺伝背景や血管病態に応じた、より精密な予防・治療戦略の構築に貢献できると考えられる。

## 【参考・引用文献】

1. 高井ら. 血液内科. 2021.
2. Wardlaw et al, Lancet Neurol. 2019.
3. Yang et al, Neuroepidemiology. 2023.
4. Bordes et al, Nature Reviews Neurology. 2022.
5. Bierman-Chow et al, Neurology. 2023.