

筋疾患における転写因子 GATA4 の役割

高谷 智英

信州大学大学院総合理工学研究科農学専攻先端生命科学分野

要 約 高等動物には、心筋、骨格筋、平滑筋の3種類の筋組織があり、それぞれユニークな性質を持つ筋細胞によって構成されている。超高齢社会では、心臓病、寝たきり、動脈硬化などの筋組織の機能不全を伴う疾患が増加している。近年の研究で、各筋組織における転写因子GATA4の役割が明らかになりつつある。GATA4は、転写コアクチベーターであるp300依存的にアセチル化されることでDNA結合能が亢進し、下流遺伝子の発現を促進する。現在、p300/GATA4複合体の転写活性を標的とした、筋疾患の新しい予防・治療法の開発が進んでいる。GATA4を中心とした筋疾患の分子基盤の解明が、今後ますます増加する循環器疾患とロコモティブ症候群への対応に貢献することが期待される。

キーワード：GATA4, 筋肉, 心血管疾患, 骨格筋幹細胞, 再生医療

1. はじめに

筋肉は動物を動物たらしめる運動器官である。筋組織を構成する筋細胞が収縮することで、器官や個体を動かす力が生じる。高等動物の筋肉は、心筋、骨格筋、平滑筋に大別される。各筋細胞のユニークな性質によって、動物の多様な運動が実現される（表1）。

心臓を構成する心筋細胞は、胚の発生段階から個体が死に至るまで、自律的に収縮（拍動）を続ける。最終分化した心筋細胞は増殖しないため、生後の心臓は、個々の心筋の生理的な肥大によって成長する。

骨格筋は、多数の筋細胞が融合した長大な多核細胞である筋線維から構成される。心筋と同じく筋線維も細胞分裂しないが、筋線維と基底膜の間には、衛星（サテライト）細胞と呼ばれる体性幹細胞が存

在し、骨格筋の旺盛な成長・再生を担っている¹⁾。

心筋と骨格筋は、アクチン線維とミオシン線維が規則正しく並んだ筋節（サルコメア）構造を持つ横紋筋で、大きな収縮力を発揮する。一方、内臓壁や血管壁に存在する平滑筋には筋節がなく、収縮力も弱いが、細胞分裂によって増殖することができる。

健康で活動的な暮らしには、これら全ての筋肉の働きが欠かせない。一方、先進国では、西欧的な生活習慣と超高齢化に起因する、心臓病、寝たきり、動脈硬化といった筋組織の機能不全による疾患が増加している。本総説では、各筋疾患における転写因子GATA4の役割を概説し、今後ますます増加するであろう循環器疾患とロコモティブ症候群の予防・治療戦略について、現時点での仮説も交えて紹介する。

2. GATA 転写因子

GATA因子は、GATA配列(WGATAR)に結合するzinc finger型の転写因子群で、細胞の分裂、分化、アポトーシス、癌化などの多様な細胞プロセスを制御する。脊椎動物の6つのGATA因子(GATA1～GATA6)は、2つのサブファミリーに別れる。GATA1～GATA3は主に造血系で発現し、造血幹細胞の増殖と各種血球への分化に決定的な役割を果たす。一方、GATA4～GATA6は発生初期から内胚葉と中胚葉で広く発現し、成体では心臓、卵巣、精巣、胚、肝臓、小腸などの器官で検出される²⁾。特に、GATA4とGATA6は機能的に

表1 筋肉の細胞と組織の特徴

	心筋	骨格筋	平滑筋
筋細胞の特性	細胞分裂 しない	細胞融合 单核 (稀に2核)	平滑筋 する
筋組織の特性	筋節構造 横紋筋	筋節構造 横紋筋	平滑筋
	組織再生 しない	組織再生 する	組織再生 する
	不随意筋	随意筋	不随意筋

受理日 2016年10月31日

採択日 2017年1月25日

冗長である場合が多い。歴史的に、GATA4 欠損マウスが心臓形成不全で胚性致死となることから^{3,4)}、心臓発生における GATA4 の分子機構が詳しく研究されてきた。2000年頃から、病態生理学的条件下にある成体心筋細胞における GATA4 の研究が進み、GATA4 を標的とした心疾患の予防・治療戦略が描かれるようになってきた。また近年、Cre-loxP システムを利用した多くのコンディショナルノックアウトマウス系統が樹立され、心臓以外の器官における GATA4/6 の機能も明らかになりつつある。以下では心臓を中心に、筋組織における GATA4 の働きと疾患の関連性について述べる。

3. GATA 4 の転写活性を標的とした心不全治療

社会の超高齢化と生活習慣の欧米化に伴って、日本人の死因に占める心血管疾患の割合が増加している。その最終病像である心不全の予防・治療法の確立は、国民福祉および医療経済における喫緊の課題である。

生活習慣病であるメタボリック症候群（肥満、糖尿病、脂質異常症、高血圧）は、相乗的にアテローム性動脈硬化を誘導する。動脈硬化は血栓や塞栓による血流遮断の原因となり、最終的に心筋梗塞などの重大な疾患を引き起こす。心筋梗塞が起きると、虚血部位で心筋細胞の脱落や間質の線維化が生じ、心機能が低下する。残存した心筋細胞は、心機能を補うために代償的に肥大するが、このストレスフルな適応反応はやがて破綻し、左室拡張を伴う心不全へと至る。また、高血圧によって心臓に過度の圧負荷が掛かることでも心筋細胞は肥大する。高血圧性の心肥大は左室収縮力を低下させ、やがて心不全へと陥る。心不全は、心臓のポンプ機能の悪化により、全身の臓器へ充分に血液が供給できない病態である。心不全に対する根本的な薬物療法は、いまだ確立されていない。アンジオテンシン変換酵素 (angiotensin converting enzyme, ACE) 阻害薬、アンジオテンシンII受容体拮抗薬 (angiotensin II receptor blocker, ARB)、 β 遮断薬などが心不全治療薬として用いられるが、重症心不全患者の5年生存率は低いままである。これらの薬剤は、心不全で活性化される細胞膜上の受容体や細胞外の液性因子を標的とする。しかし、複雑な病態生理的条件下にある心筋細胞に到達する全てのシグナルをブロックすることは至難である。そこで、細胞内シグナルの共通最終到達点である核内を標的とすることで、心不全

に対する根本的かつ特異的な治療薬が開発できるのではないかと考えられた。特に、心不全の前段階である心筋細胞の肥大反応を制御する転写機構が、世界中で研究されている。

アドレナリン作動薬フェニレフリンなどの肥大刺激を心筋細胞に与えると、GATA4、MEF2 (myocyte enhancer factor 2), Nkx2.5 (NK-2 transcription factor related 5) などの転写因子がリン酸化、アセチル化される。これらの翻訳後修飾は転写因子を活性化し、その下流にある β -ミオシン重鎖 (β -myosin heavy chain, β -MHC), 心房性ナトリウム利尿ペプチド (atrial natriuretic peptide, ANP), エンドセリンなどの肥大反応遺伝子の発現を促進する。

長谷川らは、肥大反応依存的に GATA4 をアセチル化する核内因子として、ヒストンアセチル化酵素 (HAT) 活性を有する転写コアクチベーター p300を見出した⁵⁾。p300はGATA4 と直接結合し、GATA4 の DNA 結合部位に近い311/318/320/322番目のリジン残基をアセチル化することで、GATA4 の DNA 結合能を高めて転写活性を亢進する⁶⁻⁸⁾。心臓特異的に p300を過剰発現させたマウスでは、心筋細胞における GATA4 のアセチル化と肥大反応遺伝子の発現が著明に亢進し、心筋梗塞後の心不全の進行も野生型に比べて有意に増悪する。一方、HAT 活性を欠く変異体 p300過剰発現マウスでは、心不全の進行は野生型と同程度であった⁹⁾。つまり、心筋細胞核内で p300/GATA4 依存的に制御される遺伝子の発現が、心肥大および心不全の発症と進展に必須であるといえる。p300/GATA4 の活性を制御できれば、新たなアプローチによる心不全薬の開発につながると期待される。

p300の HAT 活性の特異的な阻害剤として、クルクミンが報告されている¹⁰⁾。クルクミンはウコンに3～5%含まれる黄色のポリフェノールで、インドではカレーの香辛料・着色料として、中国では漢方として用いられている。近年では、アメリカ食品医薬品局 (Food and Drug Administration, FDA) の認可食材として、クルクミンを含有する様々な健康食品が市販されている。クルクミンの生理活性は、フリーラジカル除去による抗酸化作用や、NF- κ B の抑制による抗炎症作用などが知られ、癌やアルツハイマー病にクルクミンを適用する臨床試験も多数実施されている¹¹⁾。

著者らのグループは、培養心筋細胞を用いた実験で、クルクミンが p300 依存的な GATA4 のアセチ

ル化を阻害し、p300/GATA4複合体の下流にある肥大反応遺伝子の発現を抑制することで、フェニレフリンが誘導する心筋細胞肥大を改善することを見出した。続いて、クルクミンによる心不全治療効果を、2種の動物実験で検討した。外科的処置により急性心筋梗塞を導入したラットに、術後7日目から6週間、クルクミン50 mg/kg/日を連日経口投与した。対照群に比べクルクミン投与群では、心筋細胞肥大による左心室壁の肥厚が抑制され、左室収縮能も改善された。次に、高血圧性心不全モデルである食塩感受性 Dahl ラットに、心肥大を呈する11週齢から末期心不全となる18週齢まで、同様にクルクミンを投与した結果、やはりクルクミン投与群で心肥大と心収縮が改善された。いずれのモデルも、クルクミン投与群の心臓で、p300のタンパク質レベル、p300/GATA4複合体の形成、GATA4のアセチル化、肥大反応遺伝子の発現が抑制されていた¹²⁾。以上から、心筋細胞においてクルクミンは、p300依存的なGATA4のアセチル化を阻害し、心筋肥大と心不全の発症を抑制することが明らかとなった（図1）。

心筋細胞核内のp300/GATA4を標的とするクルクミンは、心筋細胞膜上や細胞外の因子を標的とする既存の心不全治療薬と競合せず、相加的な効果をもたらすことが期待される。クルクミンとACE阻害薬エナラブリルを心筋梗塞ラットに投与した結果、

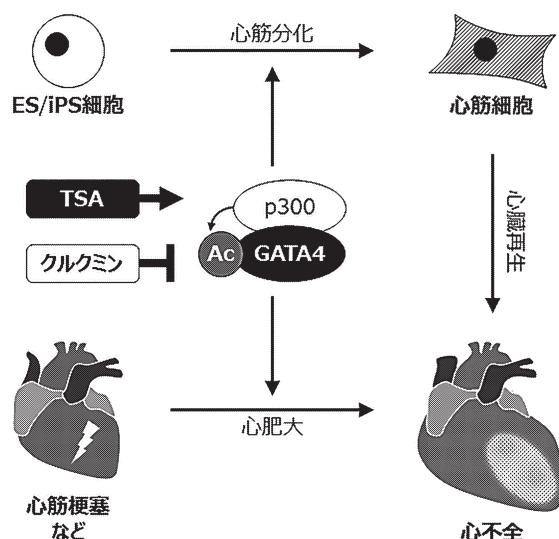


図1 GATA4の転写活性の制御と心疾患
GATA4はp300によってアセチル化（Ac）されることで転写活性が亢進する。クルクミンで心筋細胞におけるGATA4のアセチル化を抑制すると、心肥大・心不全の発症が抑制される。トリコスタチンA（TSA）でES/iPS細胞におけるGATA4のアセチル化を亢進すると、心筋細胞への分化が促進される。

単独投与群に比べ、クルクミン／エナラブリル併用群で相加的な心機能改善効果を認めた¹³⁾。難溶性のクルクミンは腸管からの吸収が悪く、大量に摂取しなければ効果が得られないが¹⁴⁾、高吸収クルクミン製剤を用いると¹⁵⁾、天然クルクミンの1/100の投与量（0.5 mg/kg）で心筋梗塞ラットの心機能を改善する効果が得られる¹⁶⁾。高吸収クルクミン製剤は、ヒトの経口摂取でも高い血中濃度が認められる^{17,18)}。高血圧性心肥大を伴う軽症心不全患者の臨床試験では、プラセボ群と比較して、高吸収クルクミン製剤を24週間内服した群で有意に左室拡張能が改善された。血圧への影響や副作用は認めなかった。

これらの研究により、心筋核内のp300/GATA4複合体を標的とするクルクミンは、既存の薬剤とは異なる機序で作用する、安価で安全性が確認された新しい心不全治療薬となる可能性が示された。

4. ES/iPS細胞を用いた心臓再生治療におけるGATA4の役割

クルクミンは、心肥大を伴う心不全の発症や進展を抑制したが、重症心不全に対する治療効果は不明である。生後、心筋細胞は増殖しないため、梗塞などの障害を受けても心臓組織は再生されない。基本的に、心不全の症状の増悪は不可逆的であり、薬物による根治は望めない。現在、末期心不全患者に対する治療は、心臓移植か人工心臓の装着しかないが、ドナー不足、高額の医療費、生活の質（quality of life, QOL）の低下など、多くの課題が残されている。そこで、幹細胞を分化誘導して得た心筋細胞を梗塞巣などに移植し、失われた心臓組織を補う再生療法が関心を集めている。用いる幹細胞のソースとして、造血幹細胞のような心筋に分化し得る体性幹細胞と、胚性幹細胞（embryonic stem cell, ES細胞）を代表とする万能性幹細胞が考えられる。体性幹細胞は患者本人から採取できるが、心筋分化効率が低く、細胞分裂の回数も限られ、移植治療に必要な大量の心筋を得るのが困難である。一方、ES細胞は無限に増殖し、比較的よく心筋に分化するが、臨床応用には、受精卵の破壊という倫理的問題と、患者とは異なる細胞を用いるという免疫的課題があった。2006年に樹立された人工多能性幹細胞（induced pluripotent stem cell, iPS細胞）は、これらの問題を一気に克服するものであった^{19,20)}。iPS細胞の特性はES細胞と極めて近いため、ES細胞の心筋分化誘導で培われた知見は、ほぼそのままiPS細胞にも適用可能である。

ES 細胞から特定の細胞種への分化誘導は、胚発生における組織・器官形成を模すことが多い。GATA4 は心臓形成に不可欠の遺伝子であり、ES 細胞の心筋分化にも重要な役割を担うと考えられる。しかし、単に ES 細胞で GATA4 を過剰発現させても心筋分化は著明に亢進せず、GATA4 の活性化＝アセチル化が必要であることが推測された。GATA4 は p300 によりアセチル化され、ヒストン脱アセチル化酵素 (histone deacetylase, HDAC) により脱アセチル化される。マウス ES 細胞に HDAC 阻害剤トリコスタチン A (trichostatin A, TSA) を投与すると、GATA4 のアセチル化が亢進して心筋特異的な遺伝子の発現が誘導され、心筋分化率が向上する²¹⁾。TSA はマウス ES 細胞だけでなく、マウス iPS 細胞の心筋分化も同様に亢進した。iPS 細胞は、様々な体細胞に複数の（ときに異なる）遺伝子のセットを導入して樹立されるため、自発的な心筋分化率は株ごとに異なる。しかし TSA によって、異なる iPS 細胞株をいずれも効率的に心筋へと分化誘導することが可能となった²²⁾。

また、TSA の心筋分化促進作用は、靈長類カニクリザルの ES 細胞でも認められた²³⁾。以上の結果は、TSA による GATA4 の活性化が iPS 細胞を用いた心臓再生療法に有用であることを示唆する（図 1）。

心筋細胞は肥大時に、遺伝子発現パターンが胎児型に変化する。つまり、心筋細胞の肥大反応と、ES/iPS 細胞の心筋分化の転写制御機構は同一である可能性が高い。我々は心筋細胞において、サイクリン依存的 リン酸化酵素 (cyclin - dependent kinase, Cdk)9 が、p300/GATA4 と複合体を形成して肥大反応を促進することを見出したが²⁴⁾、p300/GATA4/Cdk9 複合体は ES 細胞の心筋分化も亢進する²⁵⁾。また、ES 細胞の心筋分化を抑制するマイクロ RNA である miR-1 は、Cdk9 を標的として阻害している^{26,27)}。

GATA4 の転写活性は、心疾患では抑制され、心筋再生では亢進されることが望ましい（図 1）。GATA4 を中心とする転写複合体の分子機構を明らかにすることで、その活性の自在な制御が可能になると考えられる。クルクミンと TSA は、いずれも GATA4 のアセチル化を制御する因子の阻害剤だが、最近、GATA4 の DNA 結合能を直接阻害する小分子が報告された²⁸⁾。今後、このような化合物の研究が、さらに効果的で特異性の高い心疾患治療法の開発に発展することが期待される。

5. 血管疾患と GATA 因子の関わり

心疾患に最も関係する危険因子の一つが動脈硬化である。血管は、内膜、中膜、外膜の 3 層から構成される。内膜は 1 層の血管内皮細胞からなる。中膜は血管平滑筋や弾性纖維で構成され、静脈に比べて動脈でよく発達しており、その伸縮性と弾性を実現する。外膜は主に結合組織である。メタボリック症候群によって惹起されるアテローム性動脈硬化では、様々な血中因子によって内皮細胞が活性化され、単球が内膜に接着・集合する。このとき、悪玉コレステロールの血中濃度が高いと、単球がマクロファージ化してプラーク（粥腫）を形成するとともに、血管平滑筋が内膜に遊走して増殖し、プラークが肥厚する。動脈壁の肥厚は高血圧の一因となる。また、プラークの破綻により血栓が生じると、心筋梗塞や脳梗塞を引き起こす。冠動脈などが閉塞すると、ステントで血管壁を拡張して血流を回復させねばならない。ステント留置術では金属製のステントを血管内に留置するが、やはり約 15～30% の確率で平滑筋の増殖による内膜肥厚が生じ、血管の再狭窄が起こる。血管平滑筋の増殖抑制は、血管疾患における大きな課題の一つである。

血管平滑筋では GATA4 と GATA6 が発現しているが、GATA6 が平滑筋細胞の増殖と分化を支配的に制御しているとされる。HMG-CoA 還元酵素阻害薬スタチンは、循環器領域で最もよく用いられている薬剤で、血中コレステロールを低下させる以外にも多彩な作用を示す。増殖中の血管平滑筋にスタチンを投与すると、Rho-ROCK 経路を介して GATA6 が活性化される。GATA6 は平滑筋型ミオシンの発現を誘導し、血管平滑筋を増殖型から分化型に形質転換する²⁹⁾。ラットを用いた実験では、頸動脈の障害後に、血管壁での GATA6 の発現が一時的に低下して内膜が肥厚するが、このとき GATA6 を過剰発現させると内膜肥厚が抑制される³⁰⁾。以上の研究は、血管平滑筋における GATA6 の活性化によって動脈の内膜肥厚を抑制できる可能性を示唆する。GATA4 同様、GATA6 も p300 依存的にアセチル化される。今後、p300/GATA6 による平滑筋遺伝子の転写制御機構の解明が進めば、血管以外の他臓器における平滑筋疾患にも有用な知見が得られると期待される。

6. 骨格筋幹細胞における GATA4 の働き

超高齢社会を迎えた日本では、心血管疾患に加え、ロコモティブ（運動器）症候群が大きな問題となっている。ロコモティブ症候群は、骨格筋を中心とする運動器の障害によって活動的な生活が送れない状態、および、その原因となる運動器疾患や加齢現象を包括的に扱う概念である。2007年に日本整形外科学会が提唱した新しい概念で、まだ明確な定義や診断基準は確立されていないが、今後、日本に続き各国で超高齢化が進むにつれ、健康寿命を脅かす世界的な課題になることが予想される。ロコモティブ症候群に含まれる運動器疾患には、骨粗鬆症や関節リウマチがある。加齢現象としては、サルコペニア（加齢性筋肉減弱症）と呼ばれる、筋力・筋量の減少を主徴とする運動機能不全が注目を集めている。ロコモティブ症候群が進行すると寝たきりとなる可能性がある。このような極度の運動不足は骨格筋の廃用性萎縮の原因となり、患者は要介護状態となって、自立した生活が可能な健康寿命が短縮するという悪循環に陥る。

興味深いことに、骨格筋の筋量と活動量は、重症心不全患の予後の独立した危険因子でもある³¹⁾。また、ロコモティブ症候群の患者はメタボリック症候

群を合併していることが多く、運動器と循環器の病態生理学的な連関が強く示唆されているが、そのメカニズムについてはわかっていない。メタボリック症候群や心血管疾患では様々な血中因子が増減するが、これらは心筋細胞や血管平滑筋におけるGATA4の発現や活性を変化させることで、心血管疾患を増悪させる。著者は、仮にGATA4が骨格筋組織で機能していれば、循環器疾患とロコモティブ症候群の連関を説明する共通因子になり得ると考え（図2），骨格筋におけるGATA因子の研究を行っている。骨格筋組織は幹細胞である衛星細胞の働きによって再生される¹⁾。通常、衛星細胞は静止状態にあるが、筋損傷などの刺激により筋芽細胞（前駆細胞）へと活性化される。筋芽細胞は分裂して増殖した後、筋細胞へ分化する。最終的に、筋細胞は互いに融合して多核の筋管を形成し、骨格筋を再構成する（図3）。サルコペニアでは衛星細胞数が減少し、筋組織の修復・再生能が低下する。また、個々の衛星細胞自体も、加齢によって性質が変わることが報告されているが、いまだ不明な点が多い。衛星細胞におけるGATA因子の発現も明らかではなかった。マウス筋芽細胞株C2C12におけるGATA4の発現は報告されているが³²⁾、C2C12が細胞株であること、GATA4は癌遺伝子でもあることから、生体内の衛星細胞におけるGATA4の発現

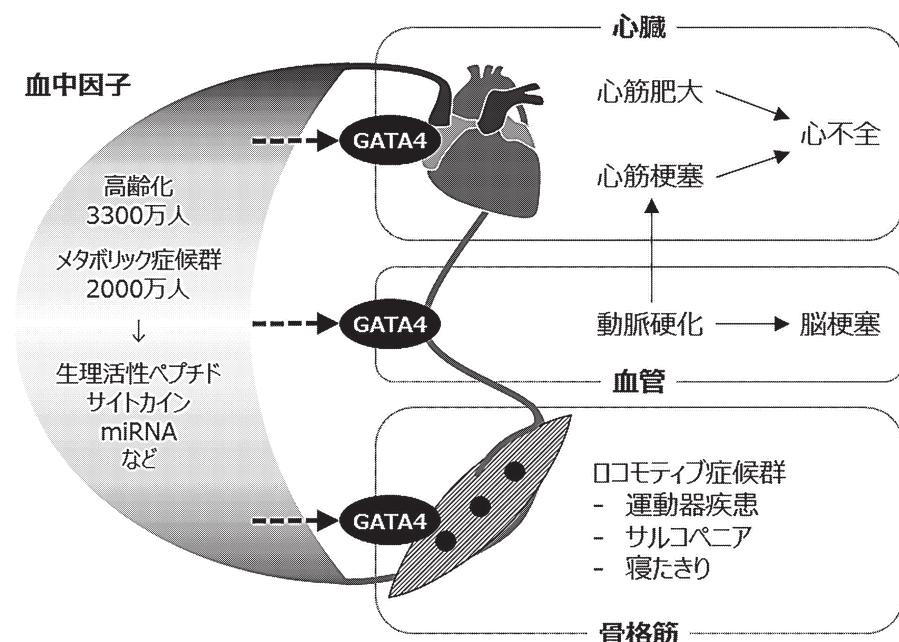


図2 GATA4 を介した循環器と運動器の病態連関仮説

高齢化やメタボリック症候群で変動する多数の血中因子は、心筋や血管平滑筋のGATA4の発現や活性を変化させ、心血管疾患の発症に関与する。仮に骨格筋においてもGATA4が機能していれば、循環器と運動器でも疾患などが生じ得ると考えられる。

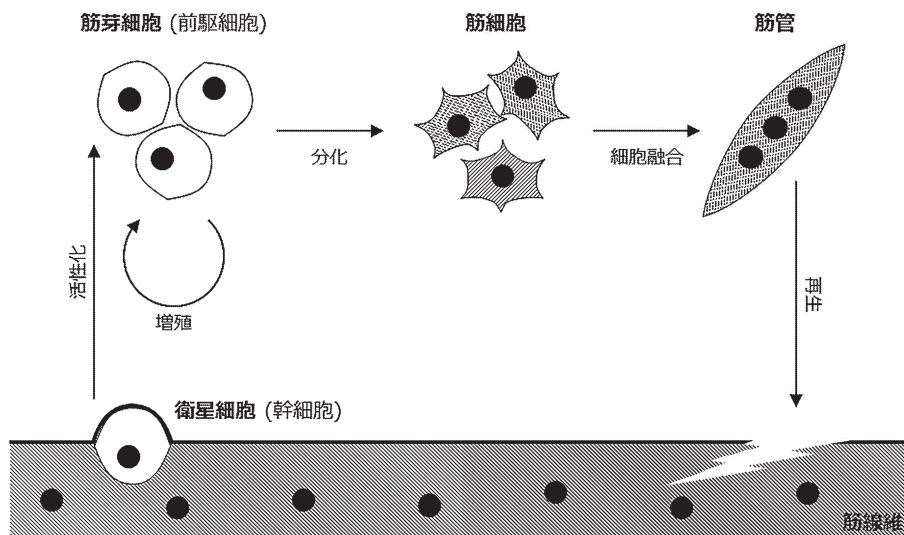


図3 衛星細胞による骨格筋の再生機構

通常、筋線維上の衛星細胞は静止状態にあるが、筋再生時に活性化されて筋芽細胞となる。筋芽細胞は細胞分裂による増殖を繰り返した後、筋細胞へと分化する。筋細胞は互いに融合して多核の筋管を形成する。筋管は、既存の筋線維とさらに融合したり、新しい筋線維へと成長することで骨格筋組織を再生する。

とその機能を確認する必要があった。

著者の実験で、GATA4は静止期の衛星細胞では発現していないが、衛星細胞の活性化とともに誘導され、筋芽細胞の増殖を促進し、筋分化を抑制することが明らかになってきた。遺伝子改変マウスを用いた動物実験では、生体内でGATA4が骨格筋の再生に重要な役割を果たしていることが示された（未発表）。これらの実験では若齢の健康な成体マウスを用いているため、老化個体の骨格筋や衛星細胞におけるGATA4の動態はまだ不明である。今後さらに研究を進め、メタボリック症候群・心血管疾患と、ロコモティブ症候群の病態連関におけるGATA4の役割を明らかにしたい。筋疾患と共に通する分子基盤を明らかにすることで、個々の筋疾患を統合して「全身の筋肉障害」と捉え直し、健康長寿を実現するための新たな治療・予防法の開発に貢献できればと考えている。

7. 謝 辞

本稿の著者の研究の一部は、日本学術振興会特別研究員・海外特別研究員制度および科学研究費補助金、ならびに上原記念生命科学財団海外留学助成金の一環として行われました。研究を遂行するにあたりご指導頂きました、国立病院機構京都医療センターの長谷川浩二先生、静岡県立大学の森本達也先生、京都大学の尾野亘先生、ならびにミネソタ大学の朝倉淳先生に感謝申し上げます。

引用文献

- 1) Yin H, Price F, Rudnicki MA. Satellite cells and the muscle stem cell niche. *Physiol Rev*, 93, 23–67, 2013.
- 2) Molkentin JD. The zinc finger-containing transcription factors GATA-4, -5, and -6. *J Biol Chem*, 275, 38949–38952, 2000.
- 3) Molkentin JD, Lin Q, Duncan SA, Olson EN. Requirement of the transcription factor GATA4 for heart tube formation and ventral morphogenesis. *Genes Dev*, 11, 1061–72, 1997.
- 4) Kuo CT, Morrissey EE, Anandappa R, Sigrist K, Lu MM, Parmacek MS, Soudais C, Leiden JM. GATA4 transcription factor is required for ventral morphogenesis and heart tube formation. *Genes Dev*, 11, 1048–1060, 1997.
- 5) Hasegawa K, Meyers MB, Kitsis RN. Transcriptional coactivator p300 stimulates cell type-specific gene expression in cardiac myocytes. *J Biol Chem*, 272, 20049–20054, 1997.
- 6) Yanazume T, Hasegawa K, Morimoto T, Kawamura T, Wada H, Matsumori A, Kawase Y, Hirai M, Kita T. Cardiac p300 is involved in myocyte growth with decompensated heart failure. *Mol Cell Biol*, 23, 3593–3606, 2003.
- 7) Takaya T, Kawamura T, Morimoto T, Ono K, Kita T, Shimatsu A, Hasegawa K. Identification of p300-targeted acetylated residues in GATA4 dur-

- ing hypertrophic responses in cardiac myocytes. *J Biol Chem*, 283, 9828–9835, 2008.
- 8) Yoshida Y, Morimoto T, Takaya T, Kawamura T, Sunagawa Y, Wada H, Fujita M, Shimatsu A, Kita T, Hasegawa K. Aldosterone signaling associates with p300/GATA4 transcriptional pathway during the hypertrophic response of cardiomyocytes. *Circ J*, 74, 156–62, 2010.
- 9) Miyamoto S, Kawamura T, Morimoto T, Ono K, Wada H, Kawase Y, Matsumori A, Nishio R, Kita T, Hasegawa K. Histone acetyltransferase activity of p300 is required for the promotion of left ventricular remodeling after myocardial infarction in adult mice *in vivo*. *Circulation*, 113, 679–690, 2006.
- 10) Balasubramanyam K, Varier RA, Altaf M, Swaminathan V, Siddappa NB, Ranga U, Kundu TK. Curcumin, a novel p300/CREB-binding protein-specific inhibitor of acetyltransferase, represses the acetylation of histone/nonhistone proteins and histone acetyltransferase - dependent chromatin transcription. *J Biol Chem*, 279, 51163–51171 2004.
- 11) Shimatsu A, Kakeya H, Imaizumi A, Morimoto T, Kanai M, Maeda S. Clinical application of curcumin, a multi-functional substance. *Anti-Aging Med*, 9, 75–83, 2012.
- 12) Morimoto T, Sunagawa Y, Kawamura T, Takaya T, Wada H, Nagasawa A, Komeda M, Fujita M, Shimatsu A, Kita T, Hasegawa K. The dietary compound curcumin inhibits p300 histone acetyltransferase activity and prevents heart failure in rats. *J Clin Invest*, 118, 868–878, 2008.
- 13) Sunagawa Y, Morimoto T, Wada H, Takaya T, Katanasaka Y, Kawamura T, Yanagi S, Marui A, Sakata R, Shimatsu A, Kimura T, Kakeya H, Fujita M, Hasegawa K. A natural p300-specific histone acetyltransferase inhibitor, curcumin, in addition to angiotensin-converting enzyme inhibitor, exerts beneficial effects on left ventricular systolic function after myocardial infarction in rats. *Circ J*, 75, 2151–2159, 2011.
- 14) Sunagawa Y, Sono S, Katanasaka Y, Funamoto M, Hirano S, Miyazaki Y, Hojo Y, Suzuki H, Morimoto E, Marui A, Sakata R, Ueno M, Kakeya H, Wada H, Hasegawa K, Morimoto T. Optimal dose-setting study of curcumin for improvement of left ventricular systolic function after myocardial infarction in rats. *J Pharmacol Sci*, 126, 329–336, 2014.
- 15) Sasaki H, Sunagawa Y, Takahashi K, Imaizumi A, Fukuda H, Hashimoto T, Wada H, Katanasaka Y, Kakeya H, Fujita M, Hasegawa K, Morimoto T. Innovative preparation of curcumin for improved oral bioavailability. *Biol Pharm Bull*, 34, 660–665, 2011.
- 16) Sunagawa Y, Wada H, Suzuki H, Sasaki H, Imaizumi A, Fukuda H, Hashimoto T, Katanasaka Y, Shimatsu A, Kimura T, Kakeya H, Fujita M, Hasegawa K, Morimoto T. A novel drug delivery system of oral curcumin markedly improves efficacy of treatment for heart failure after myocardial infarction in rats. *Biol Pharm Bull*, 35, 139–144, 2012.
- 17) Morimoto T, Sunagawa Y, Katanasaka Y, Hirano S, Namiki M, Watanabe Y, Suzuki H, Doi O, Suzuki K, Yamauchi M, Yokoji T, Miyoshi-Morimoto E, Otsuka Y, Hamada T, Imaizumi A, Nonaka Y, Fuwa T, Teramoto T, Kakeya H, Wada H, Hasegawa K. Drinkable preparation of Theracurmin exhibits high absorption efficiency—a single-dose, double-blind, 4-way crossover study. *Biol Pharm Bull*, 36, 1708–1714, 2013.
- 18) Sunagawa Y, Hirano S, Katanasaka Y, Miyazaki Y, Funamoto M, Okamura N, Hojo Y, Suzuki H, Doi O, Yokoji T, Morimoto E, Takahashi T, Ozawa H, Imaizumi A, Ueno M, Kakeya H, Shimatsu A, Wada H, Hasegawa K, Morimoto T. Colloidal submicron-particle curcumin exhibits high absorption efficiency—a double-blind, 3-way crossover study. *J Nutr Sci Vitaminol*, 61, 37–44, 2015.
- 19) Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 126, 663–676, 2006.
- 20) Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 131, 861–872, 2007.
- 21) Kawamura T, Ono K, Morimoto T, Wada H, Hirai M, Hidaka K, Morisaki T, Heike T, Nakahata T, Kita T, Hasegawa K. Acetylation of GATA-4 is involved in the differentiation of embryonic stem cells into cardiac myocytes. *J Biol Chem*, 280, 19682–19688, 2005.
- 22) Kaichi S, Hasegawa K, Takaya T, Yokoo N, Mima T, Kawamura T, Morimoto T, Ono K, Baba S, Doi H, Yamanaka S, Nakahata T, Heike T. Cell line-dependent differentiation of induced plur-

- ipotent stem cells into cardiomyocytes in mice. *Cardiovasc Res*, 88, 314–323, 2010.
- 23) Hosseinkhani M, Hasegawa K, Ono K, Kawamura T, Takaya T, Morimoto T, Wada H, Shimatsu A, Prat SG, Suemori H, Nakatsuji N, Kita T. Trichostatin A induces myocardial differentiation of monkey ES cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 356, 386–91, 2007.
- 24) Sunagawa Y, Morimoto T, Takaya T, Kaichi S, Wada H, Kawamura T, Fujita M, Shimatsu A, Kita T, Hasegawa K. Cyclin-dependent kinase-9 is a component of the p300/GATA4 complex required for phenylephrine-induced hypertrophy in cardiomyocytes. *J Biol Chem*, 285, 9556–9568, 2010.
- 25) Kaichi S, Takaya T, Morimoto T, Sunagawa Y, Kawamura T, Ono K, Shimatsu A, Baba S, Heike T, Nakahata T, Hasegawa K. Cyclin-dependent kinase 9 forms a complex with GATA4 and is involved in the differentiation of mouse ES cells into cardiomyocytes. *J Cell Physiol*, 226, 248–254, 2011.
- 26) Takaya T, Ono K, Kawamura T, Takanabe R, Kaichi S, Morimoto T, Wada H, Kita T, Shimatsu A, Hasegawa K. MicroRNA-1 and MicroRNA-133 in spontaneous myocardial differentiation of mouse embryonic stem cells. *Circ J*, 73, 1492–1497, 2009.
- 27) Takaya T, Nishi H, Horie T, Ono K, Hasegawa K. Roles of microRNAs and myocardial cell differentiation. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 111, 139–52, 2012.
- 28) El-Hachem N, Nemer G. Identification of new GATA4-small molecule inhibitors by structure-based virtual screening. *Bioorg Med Chem*, 19, 1734–1742, 2011.
- 29) Wada H, Abe M, Ono K, Morimoto T, Kawamura T, Takaya T, Satoh N, Fujita M, Kita T, Shimatsu A, Hasegawa K. Statins activate GATA-6 and induce differentiated vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 374, 731–736, 2008.
- 30) Mano T, Luo Z, Malendowicz SL, Evans T, Walsh K. Reversal of GATA-6 downregulation promotes smooth muscle differentiation and inhibits intimal hyperplasia in balloon-injured rat carotid artery. *Circ Res*, 84, 647–654, 1999.
- 31) Anker SD, Ponikowski P, Varney S, Chua TP, Clark AL, Webb-Peploe KM, Harrington D, Kox WJ, Poole-Wilson PA, Coats AJ. Wasting as independent risk factor for mortality in chronic heart failure. *Lancet*, 349, 1050–1053, 1997.
- 32) Wang LW, Jia Y, Rogers H, Wu YP, Huang S, Noguchi CT. GATA-binding protein 4 (GATA-4) and T-cell acute leukemia 1 (TAL1) regulate myogenic differentiation and erythropoietin response via cross-talk with sirtuin 1 (Sirt1). *J Biol Chem*, 287, 30157–30169, 2012.

The Roles of Transcription Factor GATA4 in Muscular Disorders

Tomohide TAKAYA

Integrated Bioscience Division, Department of Agriculture,
Graduate School of Science and Technology, Shinshu University

Summary

Higher animals have three types of muscles; cardiac, skeletal, and smooth muscles. Each muscle tissue is composed of specific muscle cells with unique characteristics. Aging societies show increases of the disorders associated with muscular dysfunction such as heart disease, bedridden, and atherosclerosis. Recent studies have revealed the role of transcription factor GATA4 in these muscle tissues. Transcriptional coactivator p300 acetylates GATA4, improves its DNA-binding and transcriptional activities, and facilitates down-stream gene expression. Thus it has been developing the new preventive and therapeutic strategies which target the transcriptional activity of p300/GATA4 complex. Studying molecular mechanisms of GATA4 in muscular diseases will be helpful for treating cardiovascular and motor disorders.

Key words: GATA4, muscle, cardiovascular disease, skeletal muscle stem cells, regenerative medicine