

## 第3回心臓血管発生研究会

日 時：2004年7月2日(金)16:00~18:00  
 場 所：サンシャインシティ文化会館5F  
 運営委員長：中澤 誠(東京女子医科大学循環器小児科)

1. マウス冠血管形成の*in vitro*モデル

滋賀医科大学小児科

渡邊 格子, 花戸 貴司, 中川 雅生

三重大学第一病理学

今中-吉田 恭子

心臓の発生における冠動脈の形成は、発生初期の心臓の静脈洞付近にある横中隔組織由来の組織であるproepicardial organ(PEO)から生じる。PEOは胎生9~9.5日に認められる、カリフラワー状の間葉細胞である。PEO由来の間葉細胞は心外膜下層で冠血管の内皮細胞に分化し、管腔を形成する血管新生vasculogenesisと、続いて起こる血管形成angiogenesisによって冠動脈を形成する。そこでわれわれは、PEOを取り出してコラーゲン上で培養し、PEOより管腔構造物を形成させることに成功した。この管腔構造物は血管内皮細胞に発現するPECAM陽性細胞を持っており、脈管であることが分かった。そこでこの脈管が発生・発達するにあたり、いかなる血管増殖因子や成長因子・細胞接着因子が関与しているのかを分子生物学的に解析し、*Flk-1*, *Flt-1*, *VEGF*, *b-FGF*, *Ang-1*, *Ang-2*, *TNC*が関与していることが分かった。

## 2. 新規胎生期差次的発現遺伝子のクローニング

東京大学医科学研究所先端診療部

中岡 隆志, 張 暁紅, 山下 直秀

胎生期、左右の心臓領域の細胞が正中で癒合して、できた心臓管腔から、左右の房室を備え成熟した心臓が形成されると考えられてきたが、最近この概念が少し見直しされ、主要心臓領域以外に、前方心臓領域、あるいは補助心臓領域の細胞が神経提細胞とともに心血管流出路形成に大きな役割を担っていることが提唱されている。hdfマウスは*LacZ*応答遺伝子のトランスジェニックマウス作成中にたまたまできたストレインであり、心血管流出路形成過程を解析する目的では、格好のモデルマウスである。hdfマウスを用いて、遺伝子発現量に関する解析を行った結果、胎生9.5日のhdfホモ胎児心臓領域においてその発現量が顕著に低下している遺伝子*Hag2*を新たに見いだした。この遺伝子は胎生期に発現調節を受け、前方心臓領域や神経提細胞の分布する胎生9~10.5日の鰓弓で強い発現を認めるので、現在、心臓流出路形成過程でのその役割について検討を行っている。

3. 心臓血管形成における*hesr1*と*hesr2*の協調的な機能  
国立遺伝学研究所発生工学研究室, 総合研究大学院大学

小久保博樹, 相賀裕美子

東京女子医科大学循環器小児科

富田-宮川 幸子

Department of Biochemistry and Molecular Biology,

M.D. Anderson Cancer Center

Randy L. Johnson

Notchシグナル伝達系は、心血管系の発生に重要な役割を果たすことが明らかとなってきた。マウスの*hesr*遺伝子群(*hesr1*, *2*, *3*)は、Notchシグナル伝達系の直接の標的遺伝子として知られるhairy and enhance of split/HESのsubfamilyを形成し、basic helix-loop-helixを持つ転写抑制因子として機能する。これまで、glidlockとして知られているzebrafish *hesr2* mutantでは、血管系にその表現型が認められたが、マウス *hesr2* ホモ変異体では心臓のみ異常を認めた。これらは、AV valveの低形成により血行動態に異常を来し、生後10日目までにほとんど死亡した。これに対し、*hesr1* 遺伝子は心血管系に発現するが、そのホモ変異体は生存、生殖可能であった。今回、*hesr1* と *hesr2* の機能的相互作用について検討するため、ダブルノックアウトマウスを作成したところ、胎生11.5日目頃までに致死となることが判明した。その心臓は、心室肉柱層(trabeculation)が低形成で、単心室様構造を示した。また、AV cushionでは、上皮から間充細胞への転換がほとんど認められなかった。血管では、動脈のマーカであるephrin B2の発現が認められず、動脈の特異化が起こっていないことが示唆された。以上の結果から、*hesr1* と *hesr2* は相捕的に作用し、心臓血管形成に重要な役割を果たすことが考えられる。

## 4. 肺血管新生における細胞間相互作用 先天性心疾患における肺血管床の制御を目的として

京都府立医科大学大学院医学研究科発達循環病態学

山元 康敏, 白石 公, 濱岡 建城

同 細胞分子機能病理学

高松 哲郎

先天性心疾患に対する治療法の発達により、その予後は著しく改善されてきたが、無脾症候群 + 総肺静脈還流異常、左心低形成症候群、肺動脈閉鎖兼心室中隔欠損など一部のチアノーゼ性心疾患の予後はいまだ不良である。これ

ら先天性心疾患に対する( Fontan手術をはじめとする )根治術の適応, 予後は肺血管床の発達に大きく依存する. 未熟な肺血管床を有する先天性心疾患に対し, 今後その制御を目的とした新しい治療戦略を確立するうえで, 科学的根拠に基づいた肺血管新生の理解が必須と考えられる. 従来より発生学の見地から, 肺上皮の発生は分子レベルで詳細に解析されてきたが, 肺血管新生に関する報告は少ない. われわれの施設では, 肺組織を構成する細胞間相互作用について, 特に血管内皮増殖因子( VEGF )およびその受容体に着目し, 分子細胞生物学的に検討してきた. 本研究会では, 正常, 異常肺血管新生のメカニズム, さらに先天性心疾患における肺血管床の制御の可能性について報告する.

#### 教育講演

「21世紀の心臓大血管発生研究 from gene to morphology」

慶應義塾大学医学部小児科

山岸 敬幸

心臓大血管の形態形成は時間的, 空間的に秩序立った多くの過程の芸術的なオーケストレーションによって成り立っている. 1990年代に心臓特異的転写因子の単離と遺伝子改変動物を用いた研究により, 心臓大血管形態形成の分子生物学的基礎が次第に明らかになってきた. 例えば *GATA4*は原始心筒と心臓中隔の形成に, *Nkx2.5*と*dHAND*はそれぞれ左右心室の形成に, *Tbx1*は大動脈弓および心臓流出路の発生に重要な役割を果たす. さらに, 動物胚を用いた実験と先天性心疾患患者の分子遺伝学的解析を組み合わせた研究により, これらの因子の一部がヒト先天性心疾患に関与することが明らかになった. 講演では, 近年の心臓大血管発生研究の進歩を概説し, 今後の課題として, 複雑な心大血管形成を制御する多くの分子の相互作用から成るネットワークを解析する必要性, この分子ネットワークが形態形成にどのように機能しているのか from gene to morphology を解明することの重要性について, 具体的な研究例を提示して議論した. 21世紀の心臓大血管発生研究と先天性心疾患の遺伝的・疫学的研究の融合により, 先天性心疾患の発症機構解明から予防医学・再生医療への応用が期待される.