

## 21世紀の心臓大血管発生研究 From genes to morphology

山岸 敬幸

慶應義塾大学医学部小児科

## Key words :

先天性心疾患, 成因, 分子遺伝学, ノックアウトマウス, 22q11.2欠失症候群

**Toward a Molecular Understanding of Cardiovascular Development in the 21st Century: From Genes to Morphology**

Hiroyuki Yamagishi

Department of Pediatrics (Division of Pediatric Cardiology), Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan

Congenital heart disease (CHD) occurs in nearly 1% of all live births and is the major cause of infant mortality and morbidity. In addition, about 3 per 1,000 live births will require some intervention during the first year of life. Despite its clinical importance, the underlying genetic etiology of most CHD remains unknown (so-called “multi-factorial” disease). Since CHD results from abnormal morphogenesis of the embryonic cardiovascular system and usually involves defects in specific structural components of the developing heart and vessels, an understanding of the individual modular steps in cardiovascular morphogenesis is particularly relevant to CHD. Transcription factors can regulate the expression of other genes in a tissue-specific and quantitative manner and are thus major regulators of embryonic developmental processes. Several transcription factors that regulate modular steps in cardiovascular morphogenesis have been described by using animal models, and the recent discoveries from human genetic analyses in patients with CHD have been of direct medical relevance to the study of cardiac transcription factors in heart development. Nkx2.5/Csx and dHAND/Hand2 are together essential for ventricular morphogenesis. Tbx1 plays a role in a molecular pathway that controls the aortic arch and conotruncal development. Through the use of animal models combined with human genetic investigations, a molecular framework that controls cardiovascular morphogenesis, and a molecular basis of CHD (an understanding ranging “from genes to morphology”) is beginning to emerge. We can now begin to elucidate the multiple genetic “hits” that might contribute to CHD, some of which could provide targets for the prevention of, or genetic intervention in, cardiovascular diseases.

**要 旨**

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た。例えばGATA4は原始心筒と心臓中隔の形成に、Nkx2.5とdHANDは左右心室の形成に、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。本稿では、近年の心臓大血管発生研究の進歩を概説する。そして、今後の課題として、複雑な心臓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、すなわち from genes 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解説する。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。

心臓大血管発生研究と先天性心疾患の成因解明

心臓大血管系は高等な循環機能 体循環と肺循環の

分離 を獲得するために、進化において複雑に形態を変化させてきた。高等動物の複雑な心臓大血管形態形成は、時間的、空間的に秩序立った多くの過程、すな

平成16年11月30日受付

平成17年5月9日受理

別刷請求先：〒160-8582 東京都新宿区信濃町35

慶應義塾大学医学部小児科 山岸 敬幸

わち由来の異なる細胞集団の移動，増殖，分化，プログラム細胞死，相互作用によって成立する，いわば自然が創造した芸術である．この過程は解剖学的には古くから記述されていたが，その分子機構については，最近までほとんど知られていなかった<sup>1)</sup>．

先天性心疾患は，心臓大血管の発生異常に起因し，出生1,000人につき5～10人に起こる頻度の高い先天異常である<sup>2)</sup>．先天性心疾患の成因は，一般に以下のように大別できる<sup>2)</sup>．

多因子遺伝(遺伝と環境の相互作用によるものと考えられるが，特定の原因を明らかにすることができない場合：約85%)

環境因子(妊娠母体の感染，薬物投与，疾患など<sup>注)</sup>，胎児期の環境が原因として特定される場合：約2%)

染色体異常(染色体の数の異常，欠失，重複，微細欠失などが明らかな場合：約8%)

単一遺伝子病(単一遺伝子の欠失，点突然変異などが検出される場合：約5%)

[注：具体例として，先天風疹症候群，抗痙攣薬(ジフェニルヒダントイン，トリメタジオンなど)，母体糖尿病などが，先天性心疾患の危険因子と判明している<sup>2)</sup>．]

先天性心疾患は，単一の蛋白の異常により発症する酵素欠損症などの遺伝性疾患と異なり，複雑な心臓大血管の発生過程に関与する多くの蛋白の異常により発症すると推測され，その成因解明はこれまで困難であった．近年，分子発生生物学の発展により，さまざまな発生現象の分子機構が明らかになり，以下のようなアプローチにより，先天性心疾患の成因研究が進歩した．

#### 1) 発生生物学のアプローチ

a) 心臓の発生に関与する遺伝子を動物胚から特定する．

b) ヒトにみられる先天性心疾患を動物モデルで再現する．

#### 2) 分子遺伝学のアプローチ

a) 先天性心疾患家族例，先天性心疾患を合併する遺伝性症候群の家系を解析(連鎖解析)する．

b) 先天性心疾患を合併する染色体異常症候群を研究する．

#### 1. 発生生物学のアプローチ

ヒト心大血管系の形成は胎生20日頃(マウスの胎生7.5日頃)開始され，胎生50日頃(マウスの胎生14日頃)までにほぼ完成する(Fig. 1)<sup>3)</sup>．胚葉形成直後，側板中胚葉(lateral plate mesoderm)由来の心臓前駆細胞により，脊索前板前方部に三日月型の心臓原基(cardiac crescent)が

発生し，胚の正中に原始心筒(heart tube)を形成する．原始心筒は右方に屈曲(looping)し，左右心室および心房の形態が明らかになる．各心房・心室間に中隔または弁が形成されて(septation & valve formation)，2心房2心室の形態となる．

一方，大血管の原基として，大動脈嚢から左右対称に6対の咽頭弓動脈が形成される．このうち，第III，IV，VI咽頭弓動脈には，外胚葉由来の間葉系細胞である心臓神経堤細胞(cardiac neural crest cell)が分布し，血管平滑筋に分化する．心臓神経堤細胞により誘導される血管リモデリング(remodeling)により，第III，IV咽頭弓動脈は大動脈とその分枝を，第VI咽頭弓動脈は肺動脈と動脈管をそれぞれ形成する．

心臓流出路は，胎生期の動脈幹(原始心筒の頭側部)から形成される．動脈幹の形成には，咽頭弓動脈周囲の咽頭弓中胚葉領域(前方心臓領域 anterior heart field: AHF)に由来する細胞が関与する<sup>4)</sup>．また，動脈幹部にまで移動した心臓神経堤細胞により，動脈幹中隔が形成され，1本の管状構造をした動脈幹が2本の大血管(基部)に分割される．動脈幹の分割，および同時に起こる回旋によって後方に形成された大動脈(基部)は左心室に，前方に形成された肺動脈(基部)は右心室に整合(alignment)することが，出生後の体循環と肺循環の分離に必須である．

1989年，ショウジョウバエの心臓に局限して発現する，homeobox型転写因子をコードする遺伝子(*tinman*)が単離された．ショウジョウバエでは，*tinman*の機能欠損により心臓が全く形成されず，この転写因子が心臓の発生に必須であることが明らかになった．この遺伝子の命名(*tinman*)は，Lyman Frank Baumの小説「オズの魔法使い(The Wizard of Oz, 1900)」に登場する心臓のないブリキの男の名前に由来しており，*tinman*の心臓発生における重要性をユニークに表現している．そこで，哺乳類における*tinman*関連遺伝子の単離が試みられ，1993年にマウス*Nkx2.5/Csx*が単離された<sup>5,6)</sup>．*Nkx2.5*は，マウスの発生から出生後に至るまで，心臓に強く発現しており，この発見を契機に哺乳類でも心臓の発生において発現する転写因子が次々に同定された．

さらに，gene targetingを利用したノックアウトマウス(KOマウス)の研究により，発見された転写因子の機能が解析された．その結果，時間および空間特異的に心臓原基に発現する数々の転写因子が，上述した心臓大血管発生過程の各ステップに重要な役割を果たしていることが明らかになってきた．例えば，*GATA4* KOマウスでは，心臓原基は発生するが，原始心筒は形成されず，*GATA4*がこのステップに必須である，ということ

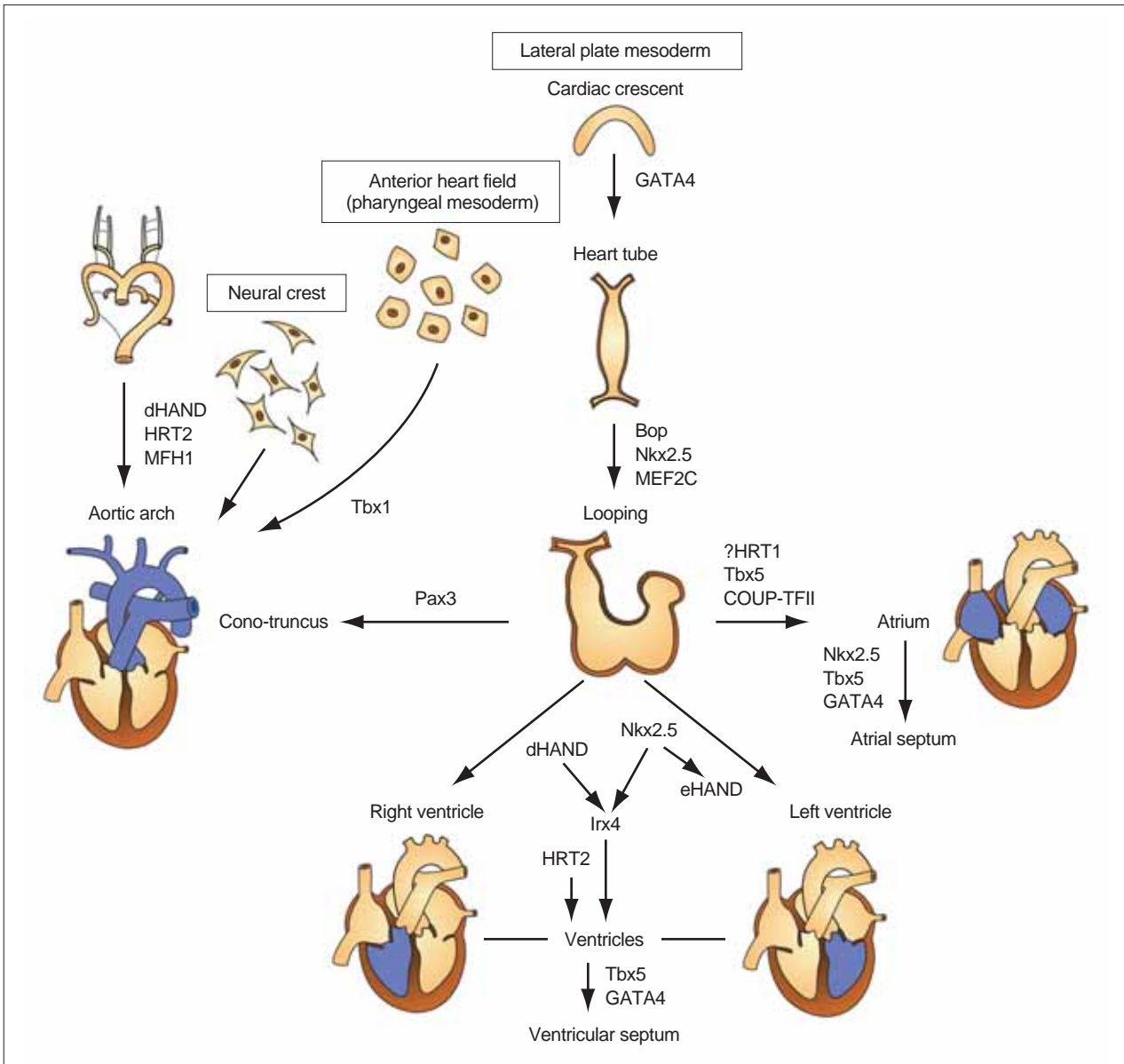


Fig. 1 Transcription factors functioning in the pathways of cardiovascular development.

が明らかとなった<sup>7)</sup>。このような研究の積み重ねにより解明されてきた、各ステップで機能するおもな転写因子をFig. 1に記載した。

## 2. 分子遺伝学的アプローチ

分子遺伝学的解析法の発展により、先天性心疾患の一部が単一遺伝子の異常により発症することが明らかにされた (Table 1)。上記 2-a) 先天性心疾患家族例、先天性心疾患を合併する遺伝性症候群の家系の解析 (連鎖解析) による研究成果の代表例として、ヒト *NKX2.5* が挙げられる。房室伝導障害を伴う心房中隔欠損の 4 家

系 (常染色体優性遺伝) を対象とした連鎖解析により、染色体 5q34 が責任領域として特定された<sup>8)</sup>。その領域に座位する *NKX2.5* は、前述の発生生物学的アプローチにより、生物種を超えて心臓発生に重要な役割を果たすことが示唆されており、対象家系の心疾患の原因候補遺伝子と考えられた。そこで、これらの家系において *NKX2.5* 遺伝子の塩基配列が解析された結果、点突然変異が発見された<sup>9)</sup>。その後、ファロー四徴症や三尖弁異常を伴う家族例、孤発例の一部にも *NKX2.5* の点突然変異が認められ、症候群に伴わない先天性心疾患の一部が、単一遺伝子病として発症することが示唆された<sup>9)</sup>。

Table 1 Human genes implicated in congenital heart diseases

Gene	Locus	Disease
ACVR2b	3p22-p21.3	Heterotaxy, DORV, TGA, PTA
BMPR2	2q33	PPH
CFC1	2q21.1	Heterotaxy, DORV, TGA
CHD7	8q12	CHARGE association, TOF, IAA (B), VSD
Connexin43	6q21-q23.2	Heterotaxy, RVOT obstruction
CRELD1	3p25.3	AVSD
ELN	7q11.23	Williams syndrome, SVAS, PPS
FBN1	15q21.1	Marfan syndrome, MVP, AAE
GATA4	8p23.1-p22	ASD, VSD, cardia bifida
JAG1	20p12	Alagille syndrome, PS, TOF, VSD
LEFTY A	1q42.1	Heterotaxy
NKX2.5	5q34	ASD, AV block, TOF, Ebstein, VSD
PTPN11	12q24.1	Noonan syndrome, ASD, PS, HCM LEOPARD syndrome, HCM
TAZ	Xq28	Barth syndrome, LV non-compaction
TBX1	22q11.2	22q11 deletion syndrome, IAA(B), PTA, TOF, VSD
TBX5	12q24.1	Holt-Oram syndrome, ASD, VSD
TEK	9p21	Venous malformations
TFAP2B	6p21-p12	Char syndrome, PDA
ZIC3	Xq26.2	Heterotaxy

上記 2-b) 先天性心疾患を合併する染色体異常症候群の研究」による成果の例として、22q11.2欠失症候群の主要な原因遺伝子である *TBX1* が挙げられる。22q11.2欠失は、先天性心疾患では21トリソミーに次いで2番目に、円錐動脈幹心奇形では最も頻度の高い染色体微細異常である。大動脈弓離断症 (B型)、総動脈幹遺残症、ファロー四徴症の症例に高頻度に認められ、鎖骨下動脈起始異常の合併が多い。そのため、22q11症候群の原因遺伝子を明らかにすることは、本症候群に高率に合併する先天性心疾患の原因遺伝子の解明につながると期待されてきた<sup>10)</sup>。

分子遺伝学的解析により、22q11.2欠失領域から30以上の遺伝子が単離されたが、これらの遺伝子の変異解析だけでは、原因遺伝子を特定することはできなかった。そこで、上記 1-b) ヒトにみられる先天性心疾患を動物モデルで再現する「アプローチ」により、この領域にある複数の遺伝子を同時に欠失した変異マウスが数種類樹立され、その表現型が解析された。いくつかの遺伝子欠失の組み合わせで、大動脈弓離断症や鎖骨下動脈起始異常が認められ、遺伝子型と表現型の比較により原因遺伝子の絞り込みが行われた。その結果、*TBX1* が変異マウスに認められる心血管異常の原因であることが示唆された。さらに、*Tbx1* KOマウスが作製され、

*Tbx1*ヘテロ変異マウスで、10～50%に大動脈弓異常が起こり、*Tbx1*が22q11症候群モデルマウスの大動脈弓異常の責任遺伝子と特定された<sup>11-13)</sup>。引き続き行われた22q11症候群の症状を呈し、22q11.2微細欠失を持たない患者200人以上の解析では、*TBX1*遺伝子の異常は発見されなかったが<sup>12)</sup>、最近臨床表現型を詳細に調べられた患者10家系のうち3家系に、それぞれ異なる*TBX1*遺伝子の点突然変異が検出され、*TBX1*遺伝子単独の変異が、22q11症候群および合併心疾患の原因となり得ることが示唆された<sup>14)</sup>。

#### 心臓大血管発生研究の課題 From genes to morphology

これまでの研究で、心臓大血管発生および先天性心疾患発症に関与する遺伝子が数多く同定されてきた。しかし、以下の2つの点に関して、私たちが理解していることはごくわずかである。

遺伝子の異常がどのように形態形成の異常を引き起こすのか？

最終的な形態異常(表現型)が完成される機構は？

したがって、21世紀の方向性として、関連する遺伝子(群)の作用により、どのように複雑な心臓大血管の“かたちづくり”が行われるのか、すなわち from genes

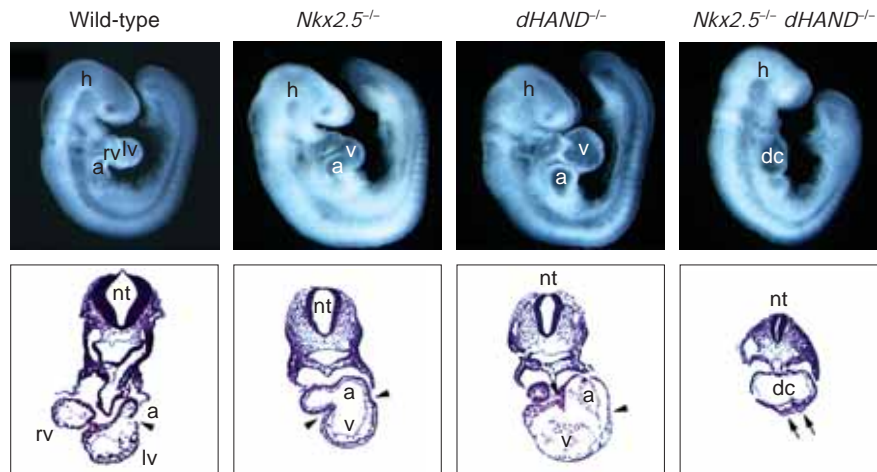


Fig. 2 Ventricular dysgenesis in *Nkx2.5/dHAND* double-knock-out mouse. Phenotype at E9.5; the left lateral views (A–D) and transverse sections (E–H) of wild-type (A, E), *Nkx2.5*<sup>-/-</sup> (B, F), *dHAND*<sup>-/-</sup> (C, G), and *Nkx2.5*<sup>-/-</sup>*dHAND*<sup>-/-</sup> (D, H) embryos are shown. Unlike each single mutant, the double mutant has only a dorsally located chamber (dc=atrium) and some accumulation of ventricular cells in its small ventral area (arrows).  
a: atrium, h: head, nt: neural tube, v: ventricle

A	B	C	D
E	F	G	H

to morphology について研究していく必要がある。そのためには、例えば、これまでに発見された心臓大血管の形成に参与する転写因子それぞれの作用・標的遺伝子を明らかにする必要がある。また、心臓大血管の形成は多くの因子によるオーケストレーションによって成り立つので、各転写因子間の相互作用や、転写制御を含む分子経路について検討する必要がある。これらの分子作用が、実際の心臓大血管発生過程において細胞の増殖・分化・移動・プログラム細胞死・相互作用をどのように司っているかを、発生過程の各ステップで明らかにしていくことにより、初めて“遺伝子と形態”の関係が有機的に解明され、真の意味で先天性心疾患の発症機構を理解することにつながると考えられる。このような視点に立って、最近私たちが行ってきた2つの研究について紹介する。

#### 1. 左右心室の初期形成を司る分子機構の研究

bHLH型転写因子、*dHAND/Hand2*および*eHAND/Hand1*の2つの遺伝子は、ニワトリ胚において心臓原基の発生から、原始心筒の形成、loopingの過程で心臓全体に同様に発現し、gene redundancy(遺伝的相補性)を有する。しかし、マウス胚においては、*dHAND*と*eHAND*はそれぞれ異なった心臓の領域に発現する。すなわち原始心筒の形成からloopingに伴い、*dHAND*は右心室原基に、*eHAND*は左心室原基に優位に発現する。*dHAND*

KOマウスでは、原始心筒がloopingし始める頃までの形態形成は正常であるが、loopingが始まると右心室原基の増大化が特異的に障害される。その結果、心臓は1つの心室と1つの心房を持つ形態となり、胎生致死となる(Fig. 2C, G)<sup>5)</sup>。*eHAND* KOマウスは胎盤機能異常により胎生早期に死亡し、心臓大血管形成の詳細な解析は不可能だったが、*dHAND*との相同性および相補的な発現パターンから、*eHAND*は左心室原基の形成に機能すると推測された<sup>16)</sup>。

マウス*Nkx2.5*は胎生7.5日から心臓全体に発現する。*Nkx2.5* KOマウスでは、原始心筒形成までは正常だが、looping初期に1つの心室と1つの心房を持つ形態で心臓発生が停止し胎生致死となる(Fig. 2B, F)。この変異マウスの心臓では、いくつかの転写因子と同時に*eHAND*の発現が低下している<sup>17)</sup>。

私たちは、各転写因子間の遺伝的相互作用について検討するために、*Nkx2.5*と*dHAND*の2つの転写因子を同時に欠損した変異マウスを樹立した<sup>18)</sup>。*Nkx2.5/dHAND* KOマウスでは、原始心筒の形成は正常だった。loopingが始まる時期には、Fig. 2に示すように*Nkx2.5* KOマウスと*dHAND* KOマウスで、それぞれ2つの心腔(1つの心室と1つの心房)が認められるのに対し、*Nkx2.5/dHAND* KOマウスでは1つの心腔しか認められなかった(Fig. 2D, H)。*Nkx2.5/dHAND* KOマウスの心腔は心房様の形態を示し、心房特異的転写因子*HRT1*、*COUP-TFII*を発

現していた。このことから、*Nkx2.5/dHAND* KOマウスでは心房だけしか形成されず、*Nkx2.5*と*dHAND*の遺伝的相互作用が左右心室の形態形成に必須であることが示唆された。さらに、*Nkx2.5* KOマウスにおいて、*eHAND*の発現が胎生7.5日の心臓原基から心室原基形成に至るすべての過程で低下していることが確認され、*Nkx2.5/dHAND* KOマウスでは、*dHAND*と*eHAND*の発現がないことが、右・左心室原基の形成不全の原因であると推測された。興味深いことに、*Nkx2.5/dHAND* KOマウスの心腔の一部に心室特異的転写因子*HRT2*、および心室特異的収縮蛋白*MLC2V*を発現する少数の細胞が存在した(Fig. 2H矢印)。したがって、*Nkx2.5/dHAND* KOマウスでは心室細胞の分化は起こるが、心室細胞の数が増えて心室を形成する過程が障害されていると考えられた。また、*dHAND* KOマウスの詳細な解析では、右心室細胞が分化した後、過剰のプログラム細胞死(アポトーシス)が起こることにより右心室の形成が障害されることが判明した。これら一連の研究結果により、*dHAND*と*Nkx2.5*(おそらく一部*eHAND*を介して)の心臓大血管形成における作用は、心室細胞の分化後、右・左心室原基の発育・形成に必須であることが明らかになった。

## 2. 22q11.2欠失症候群に合併する先天性心疾患の発症分子機構の研究

*Tbx1* KOヘテロ変異マウスで大動脈弓異常が起こり(Fig. 3G, H)、*Tbx1* KOホモ変異マウスでは、総動脈幹遺残、胸腺低形成、副甲状腺低形成、口蓋裂、顔面頭蓋骨異常など、22q11症候群の主要症状すべてが認められる。また、これまでに少なくとも200人以上の22q11症候群の症状を呈し、22q11.2微細欠失を持たない患者の遺伝子解析が行われ、3種類の異なる*TBX1*遺伝子の点変異が検出された。したがって、22q11症候群発症の主要な原因が、*TBX1*遺伝子の欠失であることは間違いのないと思われる。しかし、同時に*TBX1*単独の異常により、22q11症候群の臨床表現型をすべて説明できる症例が多くないことも示唆される。また、ヒト22q11症候群と同様の遺伝子型を持つ*Tbx1* KOヘテロ変異マウスでは、大動脈弓異常以外の症状は認められない。これらの事実から、22q11症候群のすべての症状の発症には、

*Tbx1*以外の遺伝子の関与が必要である、22q11.2遺伝子欠失に加えて、二次的な遺伝的、環境的要因が必要である、マウスとヒトで発症機構が異なる、などの可能性が考えられる<sup>19)</sup>。

私たちは、*Tbx1*の発現部位に*lacZ*(X-gal染色により青色に染まるマーカー遺伝子)を発現するトランスジェ

ニックマウスを樹立し、*Tbx1*の心臓大血管発生における転写制御機構について研究してきた<sup>20, 21)</sup>。*Tbx1*は、AHFを含む咽頭弓動脈周囲の中胚葉組織、胸腺や副甲状腺の原基である咽頭嚢、および背側大動脈周囲に特異的に発現する(Fig. 3M, N)。まず、胚発生に重要な働きをする分泌蛋白、Sonic hedgehog(*Shh*)を欠損するマウス(*Shh* KOマウス)で、*Tbx1*の発現が低下しており(Fig. 3I, J)、*Shh*が*Tbx1*の発現維持に必要であることが明らかになった。*Shh* KOマウスの表現型を解析したところ、大動脈弓を形成する第IV咽頭弓動脈に異常が起こることが分かった(Fig. 3C, D)。次に*Tbx1*の発現制御領域(プロモーター領域)を解析したところ、forkhead型転写因子、*Foxc1*および*Foxc2*が*Tbx1*遺伝子の上流転写調節領域にあるFox-binding siteに結合し、*Tbx1*の転写を直接活性化することが明らかになった(Fig. 3B)。*Foxc2* KOマウスでは、*Tbx1* KOヘテロマウスと同様、大動脈弓離断症が認められる(Fig. 3E, F)。また、*Tbx1*の発現は、*Foxc2* KOマウスで低下しており(Fig. 3K, L)、*Foxc2*の発現は*Shh* KOマウスの咽頭弓で低下していた。以上のことから、大動脈弓の形態形成(Fig. 3A)には、*Shh*-*Foxc1/2*-*Tbx1*によって制御される分子機構(Fig. 3B)が重要な役割を果たすことが示唆された。したがって、*Shh*、*Foxc1/2*は*Tbx1*の上流因子として、その発現を調節することにより、22q11症候群の大動脈異常の発症に関与している可能性がある。さらに別の研究により、線維芽細胞増殖因子(fibroblast growth factor; FGF)、血管内皮増殖因子(vascular endothelial growth factor; VEGF)と*Tbx1*との関連が報告された<sup>22)</sup>。以上、一連の結果より、22q11症候群および合併する心疾患の発症において、*Tbx1*のヘテロ欠失に、*Shh*、*Foxc1/2*、FGF、VEGFなどの*Tbx1*関連分子の遺伝子異常または特殊な多型(二次性の遺伝要因)が加わることにより、最終的な表現型が完成される機序が推測される。

## 結語：21世紀の心臓大血管発生研究の展望

21世紀の心臓大血管発生研究は、私たちの知的好奇心を満たし、生物の発生と進化の神秘を探求するものであると同時に、先天性心疾患の臨床に貢献するものでなければならない。心臓の発生生物学的研究、モデル動物を用いた心臓の形態形成に関与する遺伝子の解析、先天性心疾患を合併する症候群および家族例の分子遺伝学的研究などを組み合わせることにより、先天性心疾患の原因遺伝子と発症機構を解明するためのアプローチの幅は広がってきた。一つの先天性心疾患の発症には、複数の細胞系譜、遺伝子、環境因子が関与している。生物学的・遺伝学的・疫学的アプローチの

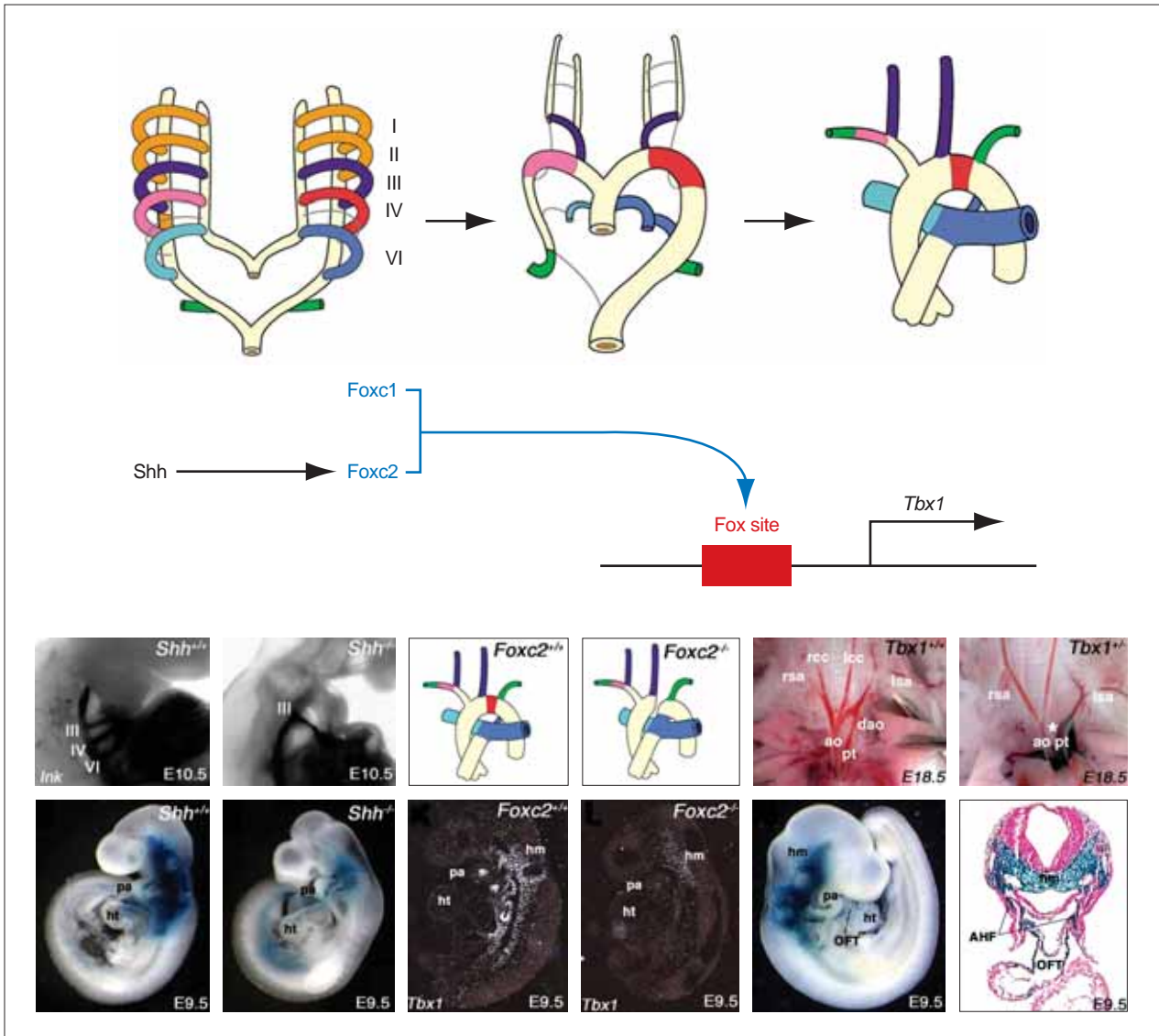


Fig. 3 A molecular cascade in aortic arch morphogenesis involving *Tbx1*. (A) Morphogenesis of the aortic arch from six pairs of pharyngeal arch arteries is shown in color-coordinated fashion. (B) Molecular regulation of *Tbx1* by *Foxc1/2* and sonic hedgehog (*Shh*) is shown. (C–H) Aortic or pharyngeal arch artery phenotype of *Shh*<sup>+/+</sup> (C), *Shh*<sup>-/-</sup> (D), *Foxc2*<sup>+/+</sup> (E), *Foxc2*<sup>-/-</sup> (F), *Tbx1*<sup>+/+</sup> (G), and *Tbx1*<sup>+/-</sup> (H) mice are shown. The fourth pharyngeal arch artery defect or interrupted aortic arch type B is demonstrated in *Shh*<sup>-/-</sup> (D), *Foxc2*<sup>-/-</sup> (F), and *Tbx1*<sup>+/-</sup> (H) mice. (I–N) Expression of *Tbx1* (blue in I, J, M, N; white in K, L) in *Shh*<sup>+/+</sup> (I), *Shh*<sup>-/-</sup> (J), *Foxc2*<sup>+/+</sup> (K), and *Foxc2*<sup>-/-</sup> (L) mice, and wild-type whole embryo (M) and transverse section (N) are shown. *Tbx1* is down-regulated in *Shh*<sup>-/-</sup> (J) and *Foxc2*<sup>-/-</sup> (L) mice. Roman numerals indicate pharyngeal arches or arch arteries.  
 ao: aorta, dao: ductus arteriosus, hm: head mesenchyme, ht: heart, lcc: left common carotid artery, lsa: left subclavian artery, pa: pharyngeal arch, pt: pulmonary trunk, rcc: right common carotid artery, rsa: right subclavian artery

A					
B					
C	D	E	F	G	H
I	J	K	L	M	N

融合により、これらの要素を一つ一つ明らかにしていくことにより、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、すなわち、主効果遺伝子を操作することによる遺伝子治療・再生医療、二次性の遺伝要因を明らかにすることによる遺伝相談への

活用、遺伝性症候群の包括的管理への応用、環境因子を明らかにすることによる予防医学、などが期待される。

先天性心疾患の成因解明と予防・再生医療は、小児循環器医の夢である。一人でも多くの小児循環器医

が、心臓大血管の発生研究に興味を抱き、この分野がより一層発展することを願う。本総説がその一助となれば幸いである。

#### 謝 辞

本稿で紹介した研究の共同研究者であり、本稿の執筆にご協力いただきましたUniversity of Texas Southwestern Medical Center、Deepak Srivastava教授ならびに慶應義塾大学医学部小児科、山岸千尋先生に深謝します。研究の一部は、文部科学省科学研究費、Pfizer成長発達講座研究補助金の援助により行われた。本稿の内容は、第3回心臓血管発生研究会(2004年7月)の教育講演で発表した。

#### 【参考文献】

- 1 Sadler TW: Langman's Medical Embryology (9th Ed). Baltimore, Lippincott Williams & Wilkins, 2004
- 2 Nora J: Cardiovascular Diseases: Genetics Epidemiology, and Prevention. Oxford University Press, New York, 1991
- 3 山岸敬幸, 山岸千尋: 心大血管形態形成の分子メカニズム bHLHタンパク質の役割. 実験医学 1999; 17: 1298-1304
- 4 山岸敬幸, 仲澤麻紀, 土橋隆俊: 心臓流出路の形態形成に関わる新しい細胞系譜と遺伝子. 矢崎義雄, 山口徹, 高本真一, ほか編: Annual Review循環器 2004. 東京, 中外医学社, 2004, pp34-40
- 5 Komuro I, Izumo S: Csx: A murine homeobox-containing gene specifically expressed in the developing heart. Proc Natl Acad Sci USA 1993; 90: 8145-8149
- 6 Lints TJ, Parsons LM, Hartley L, et al: Nkx-2.5: A novel murine homeobox gene expressed in early heart progenitor cells and their myogenic descendants. Development 1993; 119: 419-431
- 7 Molkenin JD, Lin Q, Duncan SA, et al: Requirement of the transcription factor GATA4 for heart tube formation and ventral morphogenesis. Genes Dev 1997; 11: 1061-1072
- 8 Schott JJ, Benson DW, Basson CT, et al: Congenital heart disease caused by mutations in the transcription factor NKX2-5. Science 1998; 281: 108-111
- 9 Benson DW, Silberbach GM, Kavanaugh-McHugh A, et al: Mutations in the cardiac transcription factor NKX2.5 affect diverse cardiac developmental pathways. J Clin Invest 1999; 104: 1567-1573
- 10 Yamagishi H: The 22q11.2 deletion syndrome. Keio J Med 2002; 51: 77-88
- 11 Merscher S, Funke B, Epstein JA, et al: TBX1 is responsible for cardiovascular defects in velo-cardio-facial/DiGeorge syndrome. Cell 2001; 104: 619-629
- 12 Lindsay EA, Vitelli F, Su H, et al: Tbx1 haploinsufficiency in the DiGeorge syndrome region causes aortic arch defects in mice. Nature 2001; 410: 97-101
- 13 Jerome LA, Papaioannou VE: DiGeorge syndrome phenotype in mice mutant for the T-box gene, Tbx1. Nat Genet 2001; 27: 286-291
- 14 Yagi H, Furutani Y, Hamada H, et al: Role of TBX1 in human del22q11.2 syndrome. Lancet 2003; 362: 1366-1373
- 15 Srivastava D, Thomas T, Lin Q, et al: Regulation of cardiac mesodermal and neural crest development by the bHLH transcription factor, dHAND. Nat Genet 1997; 16: 154-160
- 16 Riley P, Anson-Cartwright L, Cross JC: The Hand1 bHLH transcription factor is essential for placental and cardiac morphogenesis. Nat Genet 1998; 18: 271-275
- 17 Lyons I, Parsons LM, Hartley L, et al: Myogenic and morphogenetic defects in the heart tubes of murine embryos lacking the homeo box gene Nkx2-5. Genes Dev 1995; 9: 1654-1666
- 18 Yamagishi H, Yamagishi C, Nakagawa O, et al: The combinatorial activities of Nkx2.5 and dHAND are essential for cardiac ventricle formation. Dev Biol 2001; 239: 190-203
- 19 Yamagishi H, Srivastava D: Unraveling the genetic and developmental mysteries of 22q11 deletion syndrome. Trends Mol Med 2003; 9: 383-389
- 20 Yamagishi H, Maeda J, Hu T, et al: Tbx1 is regulated by tissue-specific forkhead proteins through a common Sonic hedgehog-responsive enhancer. Genes Dev 2003; 17: 269-281
- 21 Hu T, Yamagishi H, Maeda J, et al: Tbx1 regulates fibroblast growth factors in the anterior heart field through a reinforcing autoregulatory loop involving forkhead transcription factors. Development 2004; 131: 5491-5502
- 22 Stalmans I, Lambrechts D, De Smet F, et al: VEGF: A modifier of the del22q11 (DiGeorge) syndrome? Nat Med 2003; 9: 173-182