

第 1 回心臓血管発生研究会

日 時：2002年 7 月12日(金)16：30～

会 場：日本都市センターC会場

会 長：中澤 誠(東京女子医科大学附属日本心臓血圧研究所循環器小児科)

1. ヒト胎児における半月弁欠損と円錐動脈幹奇形
佐賀医科大学医学部看護学科基礎看護学

宮原 晋一

5例のヒト胎児(13～21週)で見られた半月弁欠損の6症例を報告した。トリソミー13(T13)と、T13が疑われる胎児がそれぞれ2例ずつあった。ヤーンヌス体の1例では2個の心臓が含まれていた。全例ではcervical cystic hygromaあるいはnuchal belbがあった。T13の1例は大動脈弁のみを欠損し、5個の心臓で大動脈弁および肺動脈弁を欠損していた。両大血管右室起始4例、大動脈騎乗1例、大動脈弓部奇形3例、動脈管欠損1例、僧帽弁閉鎖2例が観察された。いずれも胸腺に高度の低形成があり、T13の1例は、副甲状腺に高度の低形成であった。発生学的に半月弁欠損は円錐動脈幹奇形に合併する可能性がある。また、神経堤細胞の異常に関連した半月弁欠損も考えられた。しかし、それらの異常が常に半月弁欠損を合併するわけではなく、血流異常など他の要因も考慮する必要があるものと考えられた。

2. 心大血管形成におけるTbx1の発現

テキサス大学サウスウエスタンメディカルセンター小児科¹⁾Deepak Srivastava¹⁾慶應義塾大学医学部小児科²⁾前田 潤^{1,2)}, 山岸 千尋^{1,2)}, 小島 好文²⁾山岸 敬幸^{1,2)}

22q11.2欠失症候群に合併する円錐動脈幹奇形に、Tbx1が関与することが示唆されている。私たちは、Tbx1遺伝子のプロモーター領域にLacZレポーターを連結したトランスジェンをマウスに導入し、マウス胚の円錐動脈幹におけるTbx1の発現を、LacZマーカーを用いて調べた。Tbx1の発現は、神経堤細胞が円錐動脈幹に遊走する以前(胎生8.5日)から円錐動脈幹中隔が形成されはじめる時期まで、円錐動脈幹部の心筋層と心内膜を構成する細胞に認められたが、神経堤細胞には認められなかった。最近の研究で、咽頭弓周囲の臓側中胚葉由来の細胞が円錐動脈幹形成に関与する可能性が示唆されており、Tbx1はこの細胞に発現すると考えられた。今後、円錐動脈幹奇形の発症機構をより明らかにするために、Tbx1が発現する臓側中胚葉細胞の役割、およびこの細胞と神経堤細胞の相互作用について研究する必要がある。

3. 大動脈弓離断とFoxc2遺伝子の関係 フォークヘッド遺伝子Foxc2ノックアウトマウスを用いた解析

浜松医科大学医学部生化学第二講座

三浦 直行, 玉越 智樹

秋田大学医学部生化学第一講座

加藤 直子, 杉山 俊博

心大血管系は胎児期に複雑な過程を経て形成される。われわれの単離したフォークヘッド遺伝子Foxc2(MFH-1)の発生過程における役割を検討するために、ノックアウトマウスを作製したところ、ヌルマウスではヒト先天性奇形と同じような大動脈弓離断の症状を呈した。このことから、Foxc2遺伝子は大動脈弓血管の形成に重要な役割を果たしていることが明らかになった。さらに、ヌルマウスにおける異常を詳しく検討してみると、左第4鰓弓動脈はいったん正常に形成されるが、その後のリモデリング過程で消失することが判明した。最近、Tbx1遺伝子のノックアウトマウスがDiGeorge症候群の症状を示すことが明らかになってきた。鰓弓動脈形成に関わる遺伝子について議論をしたい。

4. 抗内皮細胞抗体と抗平滑筋抗体を用いたウズラ冠状動脈主幹部形成過程の観察

埼玉県立大学短期大学部

安藤 克己, 山本 法

大阪市立大学大学院医学研究科医学部解剖学講座

中島 裕司

埼玉医科大学解剖学第二講座

山岸 敏之, 中村 裕昭

冠状動脈主幹部の形成過程を明らかにするために、ウズラ胚の組織標本を抗内皮細胞抗体(QH1)と抗平滑筋抗体(1A4)を用いた二重免疫染色で観察した。ふ卵6～7日にperitruncal endothelial ring(PR)から左右の冠状動脈洞および無冠状動脈洞に伸びる各洞複数本のendothelial strand(ES)が観察された。ふ卵9日までに左右の冠状動脈主幹部は完成した。レーザー顕微鏡では、vasculogenesisによるESの形成過程が観察された。冠状動脈主幹部は、PRから冠状動脈洞へ伸びた複数のESの融合と、無冠状動脈洞に伸びたESの消失により完成する。

5. ビスダイアミン投与ラット胎仔における心筋増殖について DNA合成とアポトーシスについての検討

滋賀医科大学小児科

岡本 暢彦, 花戸 貴志, 西島 節子
藤野 英俊, 中川 雅生

Bis-diamineを妊娠ラットに投与すると総動脈幹やファロー四徴症などの円錐動脈幹奇形や冠動脈の形態異常が認められるが、これらのほか、著しい心筋の菲薄を来す。心筋の成長障害を明らかにするために、bis-diamine投与ラット胚で心筋細胞のDNA合成についてbromodeoxyuridine (BrdU)を用いて、アポトーシスについてTUNEL法およびDNA ladder法を用いて検討した。

生後10週齢のWistarラットを用いた。膈スミアで妊娠を確認した日の正午を妊娠0.5日と定義した。妊娠9.5日に1%アラビアゴム溶液に溶解したbis-diamine 200mgを経口投与し妊娠10.5日から妊娠18.5日にそれぞれBrdUを腹腔内注射しその1時間後に胎仔を摘出した。これらの胎仔の連続切片に抗BrdU抗体を反応させてDNA合成について検討しlabeling indexを算出した。同時にこれらの連続切片を用いてTUNEL法によってアポトーシスを観察した。また胎仔からDNAを抽出し電気泳動でDNA ladderの有無を検討した。bis-diamineを投与しないコントロールでも同様の処理を行った。

Bis-diamine投与群では妊娠15.5日以降から心筋の菲薄が見られ、正常群に比しBrdUの取り込みが減少していた。また妊娠16.5日以降の胎仔の大半は胎児水腫を呈し胎内死亡していた。一方TUNEL陽性細胞は妊娠13.5日以後にコントロールのtruncal cushionを中心に一部outflowやtrabeculaeの心筋にも認められるが、bis-diamine投与群ではその数が減少していた。妊娠17.5日以降では両群でTUNEL陽性細胞は大幅に減少した。これらの傾向はDNA ladderの発現においても同様であった。

Bis-diamineは心臓におけるDNA合成を阻害し心筋の菲薄を来すと同時に、アポトーシスも減少させ形態異常の一因となっていることが示唆された。

6. Rho kinaseによる心筋初期分化と心臓形態形成の制御機構

三重大学医学部第一病棟

今中 - 吉田 恭子

京都府立医科大学小児疾患研究施設内科部門

白石 公

目的: RhoAはRho kinaseを介して、発生期の形態形成に関与すると考えられている。心臓形態形成におけるRho kinaseの役割の解明を試みた。

方法: 鶏初期胚におけるRho kinaseの発現様式、全胚培養系によるRho kinaseの特異的阻害剤、Y27632の心筋細胞分化関連遺伝子の発現および心臓形態形成に対する影響を検討した。

結果: Y27632処理により、左右原始心臓原器の正中中部での癒合が抑制されcardiac bifidaといわれる奇形を生じた。この異常な心臓で、心筋分化関連遺伝子の発現レベルは抑制されず、一部の遺伝子発現は逆に早期に昂進していた。心筋細胞はsarcomere構造を形成し収縮能を持っていたが、細胞内構造は未発達であった。

結論: Rho kinase inhibitorは心臓を構成する細胞の分化は阻害しないが、より複雑な高次組織構築の形成を制御する。

7. 筋原線維形成における細胞接着因子とシグナル伝達

京都府立医科大学小児疾患研究施設内科部門

白石 公, 浜岡 建城

同 第二病棟

安井 寛, 高松 哲郎

三重大学医学部第一病棟

今中 - 吉田 恭子

心ループ形成のメカニズムを明らかにする目的で、鶏胚の筋原線維形成の三次元観察をレーザー走査顕微鏡を用いて行った。その結果、心ループ形成期には内層の心筋細胞で心臓管の円周方向に一致した筋原線維の配列が見られる、これら配列はN-cadherinを介した細胞-細胞間接着、integrinを介した細胞-基質間接着、接着因子のtyrosineリン酸化により制御される。細胞-基質間接着を阻害すると深層底部の筋原線維はアトランダムに配列し、原始心筒はballooningを起こした。actin重合のシグナル伝達をするrhoは、内層外層の心筋細胞ともに筋原線維のZ-bandに一致して認められた。以上より心ループの形成は、心筋細胞の筋原線維形成とその配列および接着因子からのシグナル伝達により制御されると考えられた。