

第6回心臓血管発生研究会

日 時：2007年7月6日
 会 場：京王プラザホテル「扇」
 会 長：中澤 誠(総合南東北病院小児・生涯心臓疾患研究所)
 運営委員長：宮川-富田 幸子(東京女子医科大学循環器小児科)

1. なぜ大動脈弓は左側にアーチを形成するのか？—左右非対称な臓器形態への遺伝学的左右軸情報の情報転換機構の1例

大阪大学大学院生命機能研究科個体機能学講座発生遺伝学グループ

八代 健太, 白鳥 秀卓, 濱田 博司

左右軸異常(臓器錯位症)は、複雑心奇形と大動脈弓の左右性異常を高率に合併し、明らかにその形態形成は遺伝学的左右軸情報の制御下にある。これまでの研究から、左右軸獲得の機構は、左側側板中胚葉に特異的に発現する左側決定因子Nodalと、Nodalにより直接的に誘導される転写因子Pitx2を軸に、理解が深まってきた。しかしながら、いかにNodal→Pitx2経路が左右非対称な臓器の形態を作り上げるのか、その具体的機構は全く明らかになっていない。

われわれは、左右非対称に発現するPitx2の役割を解析するため、Pitx2の左右非対称な発現を担う必要かつ十分な転写制御領域(ASE)を破壊した変異マウスを作成し、この変異マウスで左右性がランダムとなる大動脈弓形態に着目し解析を行った。心大血管において、遺伝学的左右軸情報は流出路の形態形成のみを直接担い、大動脈形態は流出路の動的な形態変化に伴う血行動態変化によって二次的に形成されることを見いだしたので、ここに報告する。

2. エンドセリンA受容体-LacZノックインマウスによって示された新たな心筋細胞系譜の可能性

東京大学医学系研究科分子細胞生物学専攻代謝生理化学教室

浅井理恵子, 佐藤 崇裕, 天野 朋和

河村悠美子, 栗原由紀子, 栗原 裕基

エンドセリン-1(ET-1)は胚発生期に頭部/心臓神経堤細胞のエンドセリンA受容体(EdnrA)を介し、顎顔面・心血管系の発生に重要な役割を果たしている。われわれは最近、Cre-変異lox系を用いてEdnrA遺伝子座にLacZをノック

インした。LacZの発現は心臓神経堤細胞が寄与する心流出路・鯉弓動脈のほかに、心発生初期に、静脈洞から心流入路の左側壁にかけて特徴的な分布が認められた。この発現は神経堤細胞マーカー(Sna1・Crabp1)や二次心臓領域マーカー(Fgf10・Is11)とは一致せず、一次心臓領域マーカー(Nkx2.5)と重なった。よって、EdnrA発現細胞群は一次心臓領域を構成するsubpopulationである可能性が示唆された。一方、蛍光色素PKHによる動態追跡の結果、LacZ陽性細胞群は静脈洞領域から心房左側壁に沿って左心室方向に移動することが明らかになった。さらに胎生期の刺激伝導系マーカーHCN4とLacZの発現は心発生初期で非常によく似たパターンを示し、LacZ陽性細胞群が刺激伝導系の発生に関与している可能性が示唆された。

3. 妊娠マウスへのレチノイン酸投与による幅広いスペクトラムの複雑先天性心奇形モデルの作成とその流出路における遺伝子解析の検討

京都府立医科大学大学院医学研究科小児循環器・腎臓病学

白石 公, 濱岡 建城

東京女子医科大学・国際統合医科学インスティテュート (IREIIMS)

森島 正恵

国立成育医療センター研究所薬剤治療研究部

三部 篤

背景：先天性心疾患の原因として、遺伝子異常のほか薬剤やウイルス感染など母体の環境因子も重要である。今回われわれは、妊娠マウスへのレチノイン酸(RA)投与の時期を変化させ、臨床でみられる幅広いスペクトラムの心奇形を発症させることができた。

方法：妊娠マウスE8.5~E9.5にRA 70mg/kgを腹腔内投与した。DNA microarray(E10.5)により流出路の遺伝子発現の変化を検討した。

結果：E8.5投与では、TGAやDORVなど動脈幹中隔のらせん異常による心奇形が、E9.5の投与では、PTA, TOF, AP window, IAA, RAAなど、二次心臓領域、心臓神経堤細胞の機能異常による心奇形が発症した。

結語：妊娠マウスへのRA投与で幅広いスペクトラムの複雑心奇形が作製できた。今後はDNA microarrayの結果をもとに流出路で変動する遺伝子群を明らかにし、おのお

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

の先天性心疾患の責任遺伝子を検索する予定である。

4. *Hdf*マウスの心臓領域で発現が低下している遺伝子群に関する解析

東京大学医科学研究所先端診療部

高部 智哲, 渡辺 徳光, 中岡 隆志

東京女子医科大学循環器小児科

宮川-富田 幸子

目的: 心血管流出路形成不全と心拡大を特徴とした心奇形によって致死に至る*hdf*マウスにおいて胎生9~9.5日の心臓領域で発現の低下している遺伝子群の同定を試みた。

方法: サブトラクション法, リアルタイムPCR, ホールマウントインサイチュハイブリダイゼーションのほかにアポトーシスアッセイの目的でリゾトラッカー法とTUNEL法を行った。

結果: *hdf*胎仔の心臓領域で発現の低下している遺伝子として神経堤マーカー, *Crabp1*と細胞周期あるいはアポトーシス関連遺伝子ほかを同定した。野生型で認められた*Crabp1*の菱脳から鰓弓へかけた帯状の発現が*hdf*胎仔においては認められなかった。また*hdf*胎仔において広範なアポトーシスが生じていることが示唆された。

結語: *hdf*マウス胎仔の頭部で心臓流出路形成に関与する神経堤細胞の遊走が頭部における広範なアポトーシスによって障害されている可能性が示唆された。

5. 新規サーファクタントSCGB3A2は胎仔肺の発生を促進する

Laboratory of Metabolism, National Cancer Institute,
National Institutes of Health, USA

横浜市立大学医学部循環制御医学

黒谷 玲

横浜市立大学医学部循環制御医学

富田 毅, 木村芝生子

TITF1欠損マウスは, 気管支形成の停止により出産と同時に死に至ることから, TITF1の下流遺伝子SCGB3A2が肺発生に関与すると仮定した。肺器官培養でSCGB3A2刺激により胎生(E)11.5日の野生型肺の気管支分岐促進とE16.5のTITF1欠損肺の袋状からひだ状構造への形態変化が認められた。また, SCGB3A2特異受容体は肺間充織細胞表面に存在することを示した。TITF1欠損肺でのSCGB3A2刺激による遺伝子発現をマイクロアレイにて検索し, *in situ* hybridizationにて間充織細胞に検出した遺伝子Rad23bに注目した。Rad23bのノックダウンと過剰発現により肺間充織細胞の増殖促進への関与を明らかにした。さらに, 妊娠13.5~17.5日に親マウスにSCGB3A2(計200mg/mouse)を静脈投与したとき, E17.5の胎仔は出生直前(E19.5~20.5)の胎仔と同様の呼吸様式を示し, 肺成熟マーカーの発現を認めた。本研究により, SCGB3A2は肺発生における増殖因子であることを明らかにし, 未熟児の呼吸窮迫症候群の治療に有効である可能性を示唆した。

教育講演

「心臓形成時の染色体構造調節複合体の分子機能」

東京大学分子細胞生物学研究所核内情報研究分野,
科学技術振興機構ERATO

加藤 茂明

心形成には, 数多くの転写制御因子群が, 発生時期や部位特異的に機能することで, 複雑な器官構造が完成される。これら転写制御因子が特異的な標的遺伝子の発現を制御する分子メカニズムは, 最近染色体の構造調節やヒストンタンパクの修飾を伴うことが明らかになりつつある。筆者らは, 核内ビタミンD受容体機能を支持するATP依存的染色体構造調節因子複合体を生化学的に同定した(Kitagawa, et al: Cell 2003)。この複合体には, Williams症候群の病原因遺伝子の一つであるWSTFを主要構成因子として含むことを見いだし, この先天性多臓器形成不全症の一端が, この染色体構造調節不全に起因する可能性を示した。また, WSTFノックアウトマウスを作製したところ, 心形成不全を認めた。