

[課程—2]

審査の結果の要旨

氏名 浅井 理恵子

本研究は、心臓形成におけるエンドセリン A 型受容体(*Ednra*)陽性細胞群の挙動とエンドセリンシグナルの役割について解析したものである。

1. これまで、エンドセリン 1(*Edn1*)/*Ednra* シグナルは神経堤細胞に作用し顎顔面・心大血管系の形成に重要な役割を果たすことが知られていた。そこで、このシグナルの標的細胞を同定するため、*Ednra* 遺伝子座にマーカー遺伝子である *lacZ* または *EGFP* をノックインしたマウスを作製した。胎生 8.5 日 (E8.5) における *Ednra* の発現を *LacZ* 染色および *in situ hybridization* によって検討した結果、神経堤細胞以外に心流入路付近において強いシグナルが確認された。この *lacZ* 陽性細胞群は神経堤細胞マーカーを発現しておらず、また、これまでにこのような発現パターンを示す遺伝子の報告はなかったことから、心流入路における *Ednra* 陽性細胞群の性質や挙動、エンドセリンシグナルの役割について調べることを研究の目的として研究を行った。

2. まず、心流入路領域の *Ednra* 陽性細胞について、各発生段階における *Ednra-lacZ/EGFP* の発現を検討し、心臓形成に寄与する各細胞系譜のマーカー遺伝子の発現パターンと比較した。結果、E8.0 の心臓原基腹側において *Ednra* および *Ednra-lacZ* の発現が認められ、一次心臓予定領域マーカーである *Nkx2.5*・*Mlc2a* の発現領域の一部が一致した。E8.25 では、*Ednra-EGFP* の発現は原始心筒流入路付近の腹側にて *Nkx2.5* と一致が認められたが、二次心臓予定領域マーカーである *Isl1* とは一致しなかった。以上の結果から、*Ednra-lacZ* 陽性細胞群は一次心臓予定領域に由来することが示唆された。

3. *Ednra* 陽性細胞群の心臓形成への寄与について検討するため、E8.25 以降の心臓領域における *Ednra-lacZ* 陽性細胞群の分布を解析した。*lacZ* 陽性細胞群は、E8.25 では原始心筒流入路付近に存在していたが、E8.5 では心流入路から左心室にかけて強い帯状の発現と左心室、および心房領域特異的に拡大していた。また、左心室マーカーである *Tbx5* と *Ednra-EGFP* の発現領域について、*in situ hybridization* および FACS により E8.25・E9.5 で検討した結果、*Ednra* 陽性細胞群の中には *Tbx5* 陽性な細胞群が含まれることが確認された。一方で、蛍光色素 PKH による追跡・心流入路領域の移植実験から、*Ednra* 陽性細胞群は E8.25~E9.5 において静脈洞領域から心房左側壁に沿って左心室方向に移動しその形成に寄与する細胞群であることが明らかになった。

4. また、*Ednra* 欠損胚の一部では心室の低形成、心筋における増殖活性および転写因子 *Tbx5* の発現低下が見られ、初期の心臓形成の過程で *Edn1/Ednra* signaling は ERK のリン酸化と左心室マーカー *Tbx5* の発現を促進していることが示唆された。*Tbx5* は Holt-Oram 症候群の原因遺伝子であり、haploinsufficiency により症状が現れる。ゆえに、*Tbx5* の発

現レベルの調節は心臓形成において非常に重要であると考えられる。今後、*Tbx5*の発現調節への **Edn1/Ednra signaling** の関与を明らかにすることで、疾患の発症機序についてさらに理解が深まることが期待される。

以上、本研究では次の2点が明かとなった。

- ・一次心臓予定領域に生じる **Ednra** 陽性細胞群は心流入路より腹側を通過して移動し、左心室形成に寄与する。
- ・心臓発生初期において、**Edn1/Ednra signaling** は **ERK** リン酸化と **Tbx** 遺伝子の発現を調節する可能性が示唆された。

これまでに一次・二次ともに予定心臓領域内に存在する特定細胞集団のマーカー遺伝子や細胞集団の挙動について同定を行った研究はなく、心臓発生初期におけるエンドセリンシグナルの機能について解析した例もないため、本研究の新規性は高く評価される。さらに、疾患の発症機序とエンドセリンシグナルの関連性が示唆される結果も得られており、今後の研究の展開が医学の発展に貢献することも期待される。よって、本研究は学位の授与に値するものと考えられる。