心血管形態形成機構と先天性心疾患の機序における転写調節の意義

中川 修

国立循環器病研究センター 研究所 分子生理部

【研究の背景】

心血管系の発生・形態形成は胎児発育に必須の初期ステップであり、心血管奇形は出生児約 100 人に1人発症する最も 多い先天奇形である。転写因子による遺伝子発現制御は心血管発生において中心的な役割を有し、その遺伝子変異や機 能異常がヒト先天性心疾患の原因となる。 私たちは Notch および BMP-ALK1 情報伝達系において働く Hey 転写因子ファミ リーを同定し、その心血管発生・形態形成における意義を明らかにしてきた ¹⁻⁴。 特に、Hey1 欠損マウスが大動脈弓原基であ る第4咽頭弓動脈の特異的欠失を生じ、大動脈弓離断などの大血管奇形を示すことが注目された1。

的】

胎生期の大動脈弓・胸部大血管形成に必須の意義を有する Hev1 転写因子について、新しい分子生物学的手法によっ て血管発現制御機構と細胞特異的機能の意義を明らかにすることを目的とした。

法】 【方

胎生期の Hey1 遺伝子発現を制御する上流シグナル伝達機構を明らかにするため、大腸菌内相同組換えを用いて約 200kb の Hey1 遺伝子領域 DNA を含む BAC (大腸菌人工染色体)LacZ レポーターを作成し、トランスジェニック(TG)マウス 胎仔において様々な領域のエンハンサー活性の比較解析、エンハンサー領域の絞り込みを行った。また、Hey1 転写因子の 細胞特異的な機能を検討するため、CRISPR/Cas9 法とES 細胞相同組換えを用いて Hey1 floxed マウスを作成した。floxed マウスと細胞特異的 Cre マウス(内皮: Tie2、平滑筋: SM22、神経場由来細胞: Wnt1、など)との交配を行い、特異的 Hev1 欠損の表現型比較を行った。

【結 果】

BACレポーターTGマウスを用いた解析により、胎生期の血管系・体節・心房・咽頭弓などにおけるHev1遺伝子発現は複 数の異なるエンハンサーを介して制御されていることが明らかになった。血管発現に重要なエンハンサーには複数の転写因 子の結合配列が認められ、一部の転写因子によって内皮エンハンサー活性が制御されることが明らかになった。一方、細胞 特異的 Hev1 欠損マウスの表現型は用いる Cre マウスによって明らかに異なっており、Hev1 が血管発生において細胞特異 的な機能を有していることが明らかになった。

【考 察】

Hey1/Hey2/HeyL からなる Hey 転写因子ファミリー (Hrt、Hesr、Herp とも呼ばれる)のうち、Hey2 の欠損マウスは三尖弁 閉鎖・心室中隔欠損症モデルとして重要であり、Hey1・Hey2をともに欠損するマウスは全身の血管形成異常によって胎生致 死となる $^{2-4}$)。今回研究対象とした Hey1 とともに、Heyファミリー分子の心血管発生・形態形成における重要性が注目される。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

Notch および BMP-ALK1 系遺伝子の変異は Alagille・CADASIL 症候群、遺伝性出血性末梢血管拡張症の原因となり、 肺動脈性肺高血圧症の素因として病態に深く関与する。Hey1 を中心としたシグナル伝達・機能メカニズム研究はヒト心血管病の機序解明につながる重要な取り組みである。

【参考・引用文献】

- 1. Fujita M, et al. Pharyngeal arch artery defects and lethal malformations of the aortic arch and its branches in mice deficient for the Hrt1/Hey1 transcription factor. Mech Dev 139:65-73: 2016.
- 2. Morioka T, et al. An important role of endothelial Hairy-related transcription factors in mouse vascular development. genesis 52:897-906: 2014.
- 3. Xin M, et al. Essential roles of the bHLH transcription factor Hrt2 in repression of atrial gene expression and maintenance of postnatal cardiac function. Proc Nat Acad Sci USA 104:7975–80: 2007.
- 4. Nakagawa O, et al. Members of the HRT family of bHLH proteins act as transcriptional repressors downstream of Notch signaling. Proc Nat Acad Sci USA 97:13655-60: 2000.