

令和元年6月5日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05359

研究課題名(和文) T-box遺伝子ファミリー機能解析による先天性心血管疾患発症機構の解明

研究課題名(英文) A role of T-box genes in development of cardiovascular diseases

研究代表者

山岸 敬幸 (Yamagishi, Hiroyuki)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・教授

研究者番号：40255500

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：22q11.2欠失症候群モデル(Tbx1発現低下)マウスの総動脈幹症の病型が、妊娠母体マウスへの葉酸投与により軽症化した。その機序として、流出路中隔を形成する間葉系細胞の発生障害が、葉酸により救済されることを解明した。そして、心臓の発生および神経堤細胞の遊走・分化を制御する複数の因子の発現が、葉酸により変化することを明らかにした。また、Tbx4が肺間葉系細胞の未分化維持に機能することを明らかにし、その分子機序として、Tbx4が分泌性増殖因子Fgf10の発現を直接制御することを解明した。さらにCRISPR/Cas9システムを用いてTbx20欠損マウスを作製し、Tbx1との遺伝的相補性を検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果として、多因子遺伝の先天性心血管疾患の成因解明に対して新たなアプローチが確立する。今後、複雑な先天性心血管疾患に対する新たな治療戦略として、幹細胞による再生医療の応用が期待されており、このような成果による個々の先天性心血管疾患の成因解明の蓄積は、オーダーメイド医療のための基礎的知見として重要である。ヒト染色体・遺伝子異常症の染色体や遺伝子そのものを治療・修復する医療は困難だが、本研究によるTbx1発現低下マウスの心血管疾患の表現型の軽症化する環境・epigenetic因子またはその分子経路の特定は、将来22q11.2欠失症候群の心疾患を軽症化する治療法の実現につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Utilizing the murine model of 22q11.2 deletion syndrome (Tbx1 hypomorphic mouse), we clarified that the phenotype of congenital heart disease, or truncus arteriosus, became milder by administration of folate to the pregnant female mice. Folate rescued abnormal development of neural crest derived mesenchymal cells that give rise to the outflow tract septum. The expression of numerous regulatory factors for cardiac development and neural crest migration and differentiation were altered by folate administration. We also identified that Tbx4 played a role in maintenance of undifferentiated mesenchymal cells in the lungs by directly regulating Fgf10, a soluble growth factor essential for the lung development. Finally, we established Tbx20 knock out mouse lines using CRISPR/Cas9 system to test the genetic interaction between Tbx20 and Tbx1 during development of the heart.

研究分野：小児循環器学

キーワード：発生・分化 遺伝子 循環器 発現制御 シグナル伝達

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

先天性心血管疾患は、出生 1000 人につき 5~10 人におこる頻度の高い先天異常であり、心血管系の発生異常に起因する。先天性心血管疾患の成因および発症分子機構の解明と、再生医学等を応用した新たな治療法・予防法の確立が望まれるが、その成因のほとんどは多因子遺伝とされ、原因を特定することができないのが現状である。

先天性心血管疾患の成因解明のブレイクスルーとして、1990 年代後半から心臓発生に關与する様々な分子機構が解明され、その一部の遺伝子の変異により、先天性心血管疾患が発症することが明らかになった (Reviewed in Buckingham et al. Nat Rev Genet 2005; Topf et al. PLoS One 2014)。私たちは、Tbx1 を中心とした分子経路 (Yamagishi et al. Genes Dev 2003; Yamagishi et al. Trends Mol Med 2003; Hu et al. Development 2004; Maeda et al. Dev Dyn 2006)、Hand2 を中心とした分子経路 (Yamagishi et al. Science 1999; Yamagishi et al. J Clin Invest 2000; Yamagishi et al. Dev Biol 2001; Shin et al. Cell 2002; Tsuchihashi et al. Dev Biol 2011) を解明し、国際的に発信してきた。さらに、先天性心血管疾患をきたす新規疾患原因遺伝子として転写因子 GATA6 を同定し、その制御を受けて心臓流出路の発生に機能する semaphorin-plexin シグナル分子伝達系の重要性を解明した (Kodo K et al. PNAS 2009; Kodo et al. Circ J 2012)。上記アプローチにより、それまで多因子遺伝とされてきた先天性心血管疾患の一部の主要な原因が明らかになったが、理論的には複数の遺伝子と環境・epigenetic 因子の複合異常によって発症すると考えられる多くの多因子遺伝の心血管疾患については、いまだ成因解明が困難で、新たな着想が必要である。一つのアプローチとして、200 個の心臓関連遺伝子を次世代シーケンサーによって同時分析できる独自開発のパネルを用いて、一家系を発見した。本家系から、TBX20 変異と他の遺伝子変異の複合 (多因子) により複雑先天性心疾患が発症する機序が推測され興味深い。

一方、肺血管再生医学を目標とした肺血管発生および肺疾患発症機序に関する研究は、他の臓器に比して進んでいない。私たちは肺血管発生に重要な機能を果たす分子のスクリーニングとして、胎生 14 日 (E14) と生後 2 日 (P2) のマウスの肺を酵素処理によって分散し、CD31 陽性血管内皮細胞を FACS で分離回収して、マイクロアレイ解析で遺伝子発現を比較した。その結果、E14 で P2 よりも発現の高い遺伝子として Tbx4 が最も顕著 (5.5 倍上昇) であった。Tbx4 の肺血管発生における役割は、これまで不明である。

以上、現状とこれまでの私たちの研究成果から、T-box 転写因子ファミリーの新たな機能解析を糸口として、現状の課題である多因子遺伝による先天性心血管疾患・肺血管発生と疾患発症機序にアプローチすることに着想した。

2. 研究の目的

研究の具体的な目的を以下のように設定した: (1) 私たちが樹立・研究してきた Tbx1 発現低下マウスで環境・epigenetic 因子を修飾した時の心血管疾患表現型解析により、多因子遺伝の心血管疾患の多彩な表現型が発症する機構を明らかにする。(2) Tbx1 と Tbx4 の肺血管発生における機能解析を通じて、肺動脈の形成に關与する分子機構および肺動脈疾患の発症機序を明らかにする。(3) Tbx20 遺伝子変異マウスの心血管表現型を詳細に解析し、Tbx1 発現低下マウスの心血管表現型と比較検討し、さらに Tbx20/Tbx1 ダブル遺伝子変異マウスの心血管表現型を解析することにより、複数の遺伝子異常の複合により多因子遺伝の心血管疾患が発症する機構を明らかにする。

本研究の結果として上記 (1)~(3) が明らかになることにより、多因子遺伝の先天性心血管疾患の成因解明に対して新たなアプローチが確立する可能性がある。このような成果による個々の先天性心血管疾患の成因解明の蓄積は、心臓幹細胞による再生医療の応用、先天性心血管疾患のオーダーメイド医療のための基礎的知見として重要である。ヒト染色体・遺伝子異常症の染色体や遺伝子そのものを治療・修復する医療は困難だが、本研究で Tbx1 発現低下マウスの心血管疾患の表現型を軽症化するような環境・epigenetic 因子またはその分子経路を特定することができれば、将来的にヒト 22q11.2 欠失症候群の心疾患を軽症化する治療ないし予防の実現につながる可能性がある。また、Tbx4/Tbx1 の新たな機能解析を糸口として、複雑心血管疾患の予後をししばしば左右する肺血管の異常が、初めて系統的に研究される意義を持つ。

3. 研究の方法

(1) Tbx1 と epigenetic 因子による心疾患表現型の検討

Tbx1 発現低下マウス (Tbx1neo/neo) を樹立し、22q11.2 欠失症候群で高率に見られる総動脈幹症が認められることを報告した (Hu et al. Development 2004)。総動脈幹症の発症機序は、流出路の隔壁が形成されないためと推測されているが、その病型 (Van Praagh A1~A4 型) がどのように形成されるかは不明である。また、ヒト 22q11.2 欠失症候群では同一の TBX1 欠失でも心疾患表現型は様々で、epigenetic 因子が働いて最終表現型が決定されることが推測されるが、その因子については不明である。私たちは、過去の文献 (Zaidi S et al. Nature 2013; Liu S et al. Circulation 2016) および自験未発表データより葉酸を候補の一つと考え、葉酸を投与して飼育した Tbx1 発現低下妊娠母マウス胎仔において、心疾患表現型 (ないし総動脈幹症の病型) の変化を観察し、その機序について解析する。葉酸は神経管発生異常の頻度を減らすことが知られており、神経管背側に発生し流出路中隔を形成する幹細胞である神経堤細胞の挙動

の変化により、総動脈幹症の表現型が変化する可能性が推測される。流出路の中隔を形成する間葉系細胞の数を解析し、特異的マーカー (AP2, neuropilin 等) を用いることにより、この間葉系細胞の由来が神経堤細胞であるかどうかを確認する。

さらに、Tbx1 の発現および心臓表現型を修飾する未知の epigenetic 因子を確実に特定するために、通常および葉酸投与 Tbx1 発現低下マウス胎仔から咽頭弓と心臓流出路領域を抽出し、遺伝子発現プロファイルと比較検討する。通常の飼育法の Tbx1 発現低下マウス胎仔で上昇ないし低下し、葉酸投与マウス胎仔で正常化する遺伝子 pathway を特定する。この遺伝子 pathway に関わる因子の上流 CpG island の DNA メチル化の変化を網羅的に解析し、epigenetic 因子を明らかにする。

(2) Tbx4 と Tbx1 による肺血管発生および異常の検討

Tbx4 の肺血管の前駆細胞 (間葉系細胞) における役割を明らかにするために、酵素法で肺分散細胞を得て接着法で間葉系細胞を抽出し、間葉系マーカー Vimentin・SMA を用いて 95% 以上の効率で分離できる実験系を確立する。Tbx4 の発現ピークに合わせて採取・培養した肺間葉系細胞において、再現性よく Tbx4 をノックダウン (KD) する実験系を確立して、解析を実施する。また、細胞外基質 (Matrigel[®]) 上に Tbx4 を KD した肺間葉系細胞を播種し、形成された管腔を倒立顕微鏡・CCD カメラで観察し、血管新生・管腔形成能を解析する。さらに、Boyden chamber の上層に Tbx4 を KD した肺間葉系細胞を播種し、下層へ遊走する細胞数を計測する。最終的には、cDNA の過剰発現によるレスキュー実験で確認する。同時にルシフェラーゼアッセイ、ChIP アッセイにより、Tbx4 が制御する下流分子機構についても明らかにする。

また、ヒト 22q11.2 欠失症候群の診療では、Fallot 四徴症、総動脈幹症などに肺動脈低形成や肺高血圧症を合併する頻度が非症候群の症例よりも高い。私たちが解析した肺血管発生を可視化することができるトランスジェニックマウス (IP3R2-lacZ マウス) を用いて、Tbx1 発現低下マウスの総動脈幹症に合併する肺血管異常について解析する。

(3) Tbx20 と Tbx1 による心疾患表現型の検討

過去の報告 (Topf et al. PLoS One 2014 等) および私たちの先行研究から、TBX20 ヘテロ変異は他の因子との複合 (多因子) により先天性心血管疾患の発症に関与すると考えられる。Tbx20 と T-box ファミリーの中で特に構造・起源が近いと考えられる Tbx1 との心臓発生および先天性心疾患発症における遺伝的相互作用について検討するために、まず、Tbx20 遺伝子改変マウスを樹立する。このマウスの心血管表現型を詳細に解析する。さらにこのマウスを Tbx1 遺伝子改変マウスと交配し、Tbx20/Tbx1 ダブル変異マウス胎仔の心血管表現型を解析する。実体顕微鏡による全体像の観察、心臓血管組織切片の作製、分子マーカーを用いた検討を行い、詳細な心血管表現型と分子機序を解明する。

4. 研究成果

(1) Tbx1 と epigenetic 因子による心疾患表現型の検討

上記研究の目的および方法に基づき、先天性心臓流出路異常モデル動物である Tbx1 発現低下マウスにおいて、環境・epigenetic 因子の作用により心血管疾患の表現型が変化する様子を観察するために、Tbx1 発現低下マウスの心血管表現型を改めて詳細に病型を診断し、総動脈幹症の中でも Van Praagh A1~A4 型のうち A2 型であることを明らかにした。さらに、普通餌と葉酸を投与して妊娠母マウスを飼育した場合の Tbx1 発現低下マウスの総動脈幹症の表現型を比較検討した結果、普通餌では A2 型が 100% に対し、葉酸投与では約 60% で A1 型に表現型が変化することを明らかにした。A2 型は肺動脈主幹部が形成されないのに対し、A1 型は肺動脈主幹部が形成される病型であり、葉酸により、心臓流出路異常の表現型・重症度として、総動脈幹症の病型が軽症化したと考えられた。流出路の中隔を形成する間葉系細胞の数を比較したところ、普通餌 Tbx1 発現低下マウス胎仔では野生型マウス胎仔に比して細胞数が減少するが、葉酸投与マウス胎仔では細胞数が改善しており、間葉系細胞の発生障害が葉酸により救済されたため、心臓流出路異常の表現型が軽症化したことが示唆された。

葉酸の作用機序および未知の epigenetic 因子の特定を試みるため、通常および葉酸投与 Tbx1 発現低下マウス胎仔の遺伝子発現プロファイルと比較検討し、遺伝子 pathway に関わる上流 CpG island の DNA メチル化の変化を網羅的に解析した結果、Fibronectin をはじめとする胎生期の心臓発生に重要な役割を果たす複数の因子に有意な発現変化が認められた。さらに葉酸による Tbx1 発現低下マウス胎仔の遺伝子発現プロファイルおよび DNA メチル化の変化を詳細に検討したところ、神経堤細胞の遊走・分化に関与するヘッジホッグシグナルの調節因子である Efcab7 の発現変化が明らかになった。以上の結果より、葉酸は Tbx1 発現低下マウス胎仔にみられる神経堤細胞の遊走・分化およびアポトーシスを救済することにより、その心臓流出路異常の表現型を軽症化することが示唆された。Tbx1 が機能する二次心臓領域細胞に対する上記因子の作用をさらに検討し、予防医療に生かすための知見を得るために、二次心臓領域由来の心臓前駆細胞を特異的に単離できる iPS 細胞株をゲノム編集技術により樹立した。

(2) Tbx4 と Tbx1 による肺血管発生および異常の検討

Tbx4 の発現は、肺間葉系細胞に強く、E14 から E15 をピークとして以後低下する興味深いパターンを示し、血管内皮マーカー (CD31, Tie2) の発現パターンと一致していた。Tbx4 の発現ピーク時は、心臓流出路から伸長する中枢肺血管と末梢肺血管が連結する段階で、この時期を境に末梢肺血管の発生は vasculogenesis (脈管形成) から angiogenesis (血管新生) へ移行す

る。Tbx4 の発現ピークがその制御スイッチ機能を果たす可能性がある。

また、上記方法により肺間葉系細胞を効率よく分離し、再現性よく Tbx4 を KD する RNAi の条件を確立した。Tbx4 を KD した肺間葉系細胞では、血管内皮分化マーカーの発現が有意に低下し、未分化幹細胞マーカーの発現が上昇していた。細胞外基質上に Tbx4 を KD した肺間葉系細胞で血管新生・管腔形成能を解析した結果では、血管新生能が亢進していた。以上より、Tbx4 は肺間葉系細胞の未分化維持に機能する可能性が示唆された。

Tbx4 が制御する分子経路を明らかにするためのルシフェラーゼアッセイ、ChiP アッセイを用いた検討では、Tbx4 が下流の分泌性増殖因子である Fgf10 の発現を直接調節することを証明した。TBX4 は、肺動脈性肺高血圧の責任遺伝子としても報告されており、この新たな分子機序は、肺動脈の発生と病態形成の両方に関与することが示唆された。

一方、Tbx1 発現低下マウスにおける肺血管異常の解析では、肺動脈末梢の伸展と肺胞への接続が障害されていた。ヒト 22q11.2 欠失症候群では、これまで肺単独の異常の報告はなく、総動脈幹症に関連する肺血管発生の異常と考えられる。

(3) Tbx20 と Tbx1 による心疾患表現型の検討

Tbx20 と Tbx1 による心疾患表現型の検討として、Tbx20 ノックアウトマウスを作製した。Tbx20 の機能を喪失させるために変異を導入する部位を決定し、guide RNA をデザインして、CRISPR/Cas9 システムを用いて変異を導入した。4 系統の独立したマウスを得ることができ、いずれにも目的としたゲノム塩基配列に変異が導入されていることが確認された。Tbx20 ホモノックアウトマウスの解析により、心臓初期発生の異常により胎生致死となることが確認された。Tbx20 と Tbx1 の遺伝子異常の組合せ（多因子変異）による心血管疾患の発症機序を解析するため、Tbx20 変異マウスと Tbx1 発現低下マウスを交配し、Tbx20/Tbx1 複合遺伝子変異（Tbx20^{+/-}Tbx1^{+/-}、Tbx20^{+/-}Tbx1^{-/-}および Tbx20^{-/-}Tbx1^{-/-}）マウスを樹立した。Tbx20^{+/-}Tbx1^{+/-}マウスの一連の解析をおこなったが、予測に反して目立った表現型の変化は認められていない。軽微な表現型の変化があるかどうか、詳細な解析をおこなっている。また、Tbx20^{+/-}Tbx1^{+/-}マウスでは Tbx1^{-/-}マウスよりも重篤な心血管表現型が見られるかどうか、Tbx20^{-/-}Tbx1^{-/-}マウスでは、特に二次心臓領域の発生において、Tbx20^{-/-}マウスよりも重篤な発生異常が見られるかどうか、検証している。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 12 件)

1. Shibata A, Mori H, Kodo K, Nakanishi T, Yamagishi H. Polysplenia Syndrome as a Risk Factor for Early Progression of Pulmonary Hypertension. *Circ J*. 2019; 83(4): 831-836. doi: 10.1253/circj.CJ-18-0933. 査読有
2. Shibata A, Uchida K, Kodo K, Miyauchi T, Mikoshiba K, Takahashi T, Yamagishi H. Type 2 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor inhibits the progression of pulmonary arterial hypertension via calcium signaling and apoptosis. *Heart Vessels*. 2019; 34(4): 724-734. doi: 10.1007/s00380-018-1304-4. 査読有
3. Ohuchi H, Inai K, Nakamura M, Park IS, Watanabe M, Hiroshi O, Kim KS, Sakazaki H, Waki K, Yamagishi H, Yamamura K, Kuraishi K, Miura M, Nakai M, Nishimura K, Niwa K; JSACHD Fontan Investigators. Mode of death and predictors of mortality in adult Fontan survivors: A Japanese multicenter observational study. *Int J Cardiol*. 2019; 276: 74-80. doi: 10.1016/j.ijcard.2018.09.002. 査読有
4. Yoshinaga D, Baba S, Hirata T, Fukushima H, Hamaji M, Aoyama A, Chen-Yoshikawa TF, Yamagishi H, Date H, Heike T. Living-donor lung transplantation after surgical repair of transposition of the great arteries. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. 2018. doi: 10.1007/s11748-018-1006-y. [Epub ahead of print] 査読有
5. Yasuhara J, Omori S, Maeda J, Nakagawa N, Kamada M, Kosaki K, Aeba R, Yamagishi H. Successful Total Pericardiectomy for Constrictive Pericarditis in the First Series of Japanese Patients With Mulibrey Nanism. *Can J Cardiol*. 2018; 34(5): 690.e5-690.e8. doi: 10.1016/j.cjca.2018.02.008. 査読有
6. Miyamoto K, Akiyama M, Tamura F, Isomi M, Yamakawa H, Sadahiro T, Muraoka N, Kojima H, Haginiwa S, Kurotsu S, Tani H, Wang L, Qian L, Inoue M, Ide Y, Kurokawa J, Yamamoto T, Seki T, Aeba R, Yamagishi H, Fukuda K, Ieda M. Direct In Vivo Reprogramming with Sendai Virus Vectors Improves Cardiac Function after Myocardial Infarction. *Cell Stem Cell*. 2018; 22(1): 91-103.e5. doi: 10.1016/j.stem.2017.11.010. 査読有
7. Kodo K, Shibata S, Miyagawa-Tomita S, Ong SG, Takahashi H, Kume T, Okano H, Matsuoka R, Yamagishi H. Regulation of Sema3c and the Interaction between Cardiac Neural Crest and Second Heart Field during Outflow Tract Development. *Sci Rep*. 2017; 7(1): 6771. doi: 10.1038/s41598-017-06964-9. 査読有
8. Uchida K, Nakazawa M, Yamagishi C, Mikoshiba K, Yamagishi H. Type 1 and 3 inositol trisphosphate receptors are required for extra-embryonic vascular development. *Dev Biol*. 2016; 418(1): 89-97. doi: 10.1016/j.ydbio.2016.08.007. 査読有
9. Sano M, Kamitsuji S, Kamatani N, Tabara Y, Kawaguchi T, Matsuda F, Yamagishi H, Fukuda

- K; Japan Pharmacogenomics Data Science Consortium (JPDSC). Genome-Wide Association Study of Absolute QRS Voltage Identifies Common Variants of TBX3 as Genetic Determinants of Left Ventricular Mass in a Healthy Japanese Population. *PLoS One*. 2016; 11(5): e0155550. doi: 10.1371/journal.pone.0155550. 査読有
10. Nakau K, Sugimoto M, Oka H, Kajihama A, Maeda J, Yamagishi H, Kamiyama N, Tasaki Y, Kajino H, Azuma H. Pharmacokinetics of drugs for pediatric pulmonary hypertension. *Pediatr Int*. 2016; 58(11): 1112-1117. doi: 10.1111/ped.12997. 査読有
 11. Maeda J, Kosaki K, Shiono J, Kouno K, Aeba R, Yamagishi H. Variable severity of cardiovascular phenotypes in patients with an early-onset form of Marfan syndrome harboring FBN1 mutations in exons 24-32. *Heart Vessels*. 2016; 31(10): 1717-23. doi: 10.1007/s00380-016-0793-2. 査読有
 12. Fujita M, Sakabe M, Ioka T, Watanabe Y, Kinugasa-Katayama Y, Tsuchihashi T, Utset MF, Yamagishi H, Nakagawa O. 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*. 2016; 139: 65-73. doi: 10.1016/j.mod.2015.11.002. 査読有

〔学会発表〕(計 19 件)

1. 山岸敬幸、Genetic counseling on pediatric cardiomyopathy、第 83 回日本循環器学会、2019
2. Yamagishi H、Transcriptional cascades regulating the development of the heart、The 83rd Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society、2019
3. 山岸敬幸、染色体異常を伴った ACHD の診療で 注意すべき点、第 21 回日本成人先天性心疾患学会、2019
4. 山岸敬幸、胎児心エコースクリーニングのための臨床心臓発生学、第 24 回胎児心臓病学会、2018
5. 山岸敬幸、わかる！臨床心臓発生学、第 20 回成人先天性心疾患学会（招待講演）、2018
6. 山岸敬幸、小児循環器 physician-scientist による心臓発生研究、第 11 回北大阪先天性心疾患フォーラム、2017
7. 山岸敬幸、ここまで知っておきたい発生学 左右軸の決定と内臓錯位症候群、第 53 回日本小児循環器学会、2017
8. 山岸敬幸、小児循環器診療に役立つ遺伝子疫学、第 53 回三重小児循環器談話会、2017
9. 山岸敬幸、発生学から考える 先天性心疾患の心エコー、JSS 関東甲信越第 35 回地方会（招待講演）、2017
10. 山岸敬幸、先天性心疾患：次世代への遺伝とカウンセリング、第 23 回胎児心臓病学会学術集会、2017
11. 山岸敬幸、臨床と一緒に学ぶ心臓発生学、第 5 回川崎小児循環器 カンファレンス、2017
12. 山岸敬幸、胎児臨床心臓発生学、第 18 回日本イアンDonald超音波講座、2016
13. 山岸敬幸、先天性心疾患の疫学と遺伝診療、第 6 回広島キッズハート&ラングフォーラム、2016
14. 山岸敬幸、遺伝性心疾患の診断と管理、第 14 回成人先天性心疾患セミナー、2016
15. 山岸敬幸、半月弁の発生と重症大動脈弁狭窄症/左心低形成症候群、第 32 回胎児心臓病症例報告会、2016
16. Yamagishi H、Genetics of congenital heart disease in Japan、AEPC 2017、2017
17. Yamagishi H、Gene editing: Can we cure genetically-driven heart failure?、2016 Pediatric Heart Failure Summit、2016
18. Yamagishi H、Developmental Mechanism of Cardiac Outflow Tract Defects: From Clinic to Basic Science、Hands That Make a Heart: A Cardiovascular Development and Regeneration Symposium、2016
19. Yamagishi H、Embryology of The Heart -Development of the outflow tract (conotruncus)-、The 2nd Joint STIC Conference、2016

〔図書〕(計 7 件)

1. Yamagishi H. Human Genetics / Truncus Arteriosus. In: Clinical Features, Human Genetics and Molecular Pathways of Congenital Heart Diseases: The Broken Heart (eds.) Sperling SR, Kelly RG, Driscoll DJ. Springer 2016 p.559-567
2. Shibata A, Uchida K, Maeda J, Yamagishi H. Pulmonary arterial hypertension in patients with heterotaxy / polysplenia syndrome. In: Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart Disease -From Gene Function and Cellular Interaction to Morphology- (eds.) Nakanishi T, Markwald RR, Baldwin HS, Keller BB, Srivastava D, Yamagishi H. Springer, 2016 p.81-82 (doi: 10.1007/978-4-431-54628-3_9.)
3. Yamagishi H, Kodo K, Maeda J, Uchida K, Tsuchihashi T, Shibata A, Ishizaki R, Yamagishi C, Srivastava D. A history and interaction of outflow progenitor cells implicated in “Takao syndrome”. In: Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart

- Disease -From Gene Function and Cellular Interaction to Morphology- (eds.) Nakanishi T, Markwald RR, Baldwin HS, Keller BB, Srivastava D, Yamagishi H. Springer, 2016 p.201-209 (doi: 10.1007/978-4-431-54628-3_26.)
4. Uddin MKM, Kimura W, Amin MB, Nakamura K, Islam MJ, Yamagishi H, Miura N. The Loss of Foxc2 Expression in the Outflow Tract Links the Interrupted Arch in the Conditional Foxc2 Knockout Mouse. In: Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart Disease -From Gene Function and Cellular Interaction to Morphology- (eds.) Nakanishi T, Markwald RR, Baldwin HS, Keller BB, Srivastava D, Yamagishi H. Springer, 2016 p.210-214 (doi: 10.1007/978-4-431-54628-3_27)
 5. Tsuchihashi T, Maeda J, Ishizaki R, Shibata A, Uchida K, Srivastava D, Yamagishi H. Modification of Cardiac Phenotype in Tbx1 Hypomorphic Mice. In: Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart Disease -From Gene Function and Cellular Interaction to Morphology- (eds.) Nakanishi T, Markwald RR, Baldwin HS, Keller BB, Srivastava D, Yamagishi H. Springer, 2016 p.215-217 (doi: 10.1007/978-4-431-54628-3_28.)
 6. Uchida K, Nakazawa M, Yamagishi C, Mikoshiba K, Yamagishi H. Inositol Trisphosphate Receptors in the Vascular Development. In: Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart Disease -From Gene Function and Cellular Interaction to Morphology- (eds.) Nakanishi T, Markwald RR, Baldwin HS, Keller BB, Srivastava D, Yamagishi H. Springer, 2016 p.237-239 (doi: 10.1007/978-4-431-54628-3_32.)
 7. Yamagishi H. Current Genetics in Congenital Heart Diseases -Perspective- In: Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart Disease -From Gene Function and Cellular Interaction to Morphology- (eds.) Nakanishi T, Markwald RR, Baldwin HS, Keller BB, Srivastava D, Yamagishi H. Springer, 2016 p.353-354

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：内田 敬子
ローマ字氏名：UCHIDA, Keiko
所属研究機関名：慶應義塾大学
部局名：保健管理センター
職名：講師
研究者番号（8桁）：50286522

研究分担者氏名：土橋 隆俊
ローマ字氏名：TSUCHIHASHI, Takatoshi
所属研究機関名：慶應義塾大学
部局名：医学部
職名：共同研究員
研究者番号（8桁）：10286528

研究分担者氏名：湯浅 慎介
ローマ字氏名：YUASA, Shinsuke
所属研究機関名：慶應義塾大学
部局名：医学部
職名：講師
研究者番号（8桁）：90398628

研究分担者氏名：家田 真樹
ローマ字氏名：IEDA, Masaki
所属研究機関名：慶應義塾大学
部局名：医学部
職名：講師
研究者番号（8桁）：70296557
(2017年度まで研究分担者)

(2)研究協力者 なし