

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：32653

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K15732

研究課題名（和文）発生初期に咽頭弓動脈から動脈管が形成される機序に関する基礎的研究

研究課題名（英文）A basic research on the mechanism of ductus arteriosus formation from pharyngeal arch artery in early development

研究代表者

原田 元（Harada, Gen）

東京女子医科大学・医学部・助教

研究者番号：10623259

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：発生初期の6対の咽頭弓動脈のうち、左第IV咽頭弓動脈から大動脈弓とその分枝、左第VI咽頭弓動脈から動脈管と肺動脈分枝部が形成される。本研究では、大血管の形成に関わる遺伝子群の探索を目的とした。マウス胎生10.5日の左と右の咽頭弓動脈を含む組織由来のRNAを試料とし、次世代シーケンサーを用いたトランスクリプトーム解析により発現遺伝子群を網羅した。次に左咽頭弓動脈試料に優位に発現する遺伝子を抽出し、リアルタイムPCRで発現レベルを検証した。これらの検討から選択された遺伝子のコードする蛋白質の咽頭弓動脈や心臓における発現を検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動脈管は胎生期の低酸素状態で開き、生後酸素濃度の上昇に伴い、収縮し最終的に索となり閉鎖する。動脈管が胎生期開存していることは生命維持に必須であり、生後閉じないと心不全に陥る。動脈管にいかにして生存に合目的なこのような性質が備わるかは不明である。動脈管は、発生初期に生じる左第 咽頭弓動脈から形成される。動脈管に備わる酸素感受性の起源はこの左咽頭弓動脈にあるのかもしれない。左右の咽頭弓動脈における遺伝子発現の違いを検討した研究はまれである。本研究は、いまだ端緒を開いたばかりの段階であるが、成果は、新生児肺高血圧症などの治療のための、血管収縮弛緩の制御法の開発につながる。

研究成果の概要（英文）：In early embryo development, the six pairs of pharyngeal arch arteries appeared in sequence. Left fourth pharyngeal arch gives rise to the medial portion of the arch of the aorta. Left sixth pharyngeal arch gives rise to the left pulmonary artery and ductus arteriosus. The aim of this study was to search for genes involved in the formation of the great vessels. Total RNA samples isolated from the pooled tissues including the left and right pharyngeal arch arteries of E10.5 mice were used to examine the expressed genes by transcriptome analysis using a next-generation sequencer. Next, several genes predominantly expressed in the left pharyngeal arch artery samples were verified their expression levels using real-time PCR. The expression of proteins encoded by the genes selected from these studies were examined in the pharyngeal arch arteries and heart.

研究分野：循環器小児学

キーワード：発達 遺伝子 発現 咽頭弓動脈 動脈管 酸素感受性

1. 研究開始当初の背景

大血管系は、左右対称に咽頭弓を貫く走行で、次々に発生する6対の咽頭弓動脈を原基として発生する。6対の咽頭弓動脈のうち、第I、II咽頭弓動脈は胎生10.5日に消失し、右側VI咽頭弓動脈と右側背側大動脈は胎生11.5日に消失して左大動脈弓が形成される。第III、IV咽頭弓動脈から、大血管リモデリングにより、大動脈弓とその分枝が、左第VI咽頭弓動脈から動脈管と肺動脈分枝部が形成される。咽頭弓動脈の形成、消失は血液の流れの影響とあいまって遺伝子群の制御を受けていると予想されるが、詳しい遺伝子制御の機序についての研究はなされていない。大動脈弓の形成に関わる遺伝子群とその制御機構の解明は、胎児循環生理の根本問題であるにもかかわらず、大血管の発生初期に遡って、咽頭弓動脈の遺伝子の発現や、タンパク質を詳細に検討した研究は国内外で少ない。

動脈管は胎性期の低酸素状態で開き、生後酸素に反応して収縮する。一方、肺動脈は胎生期低酸素状態で収縮しており、生後血中酸素分圧が上昇すると拡張する。動脈管が胎生期に開存していることは生命維持に必須であり、生後は閉じないと心不全に陥る。動脈管にいかにして生存に合目的なこのような性質が備わるかは不明である。

酸素は動脈管平滑筋細胞の酸化還元状態や活性酸素濃度を変えて、細胞膜表面のカリウム(K)イオンチャンネルを閉じ、脱分極を起こし、カルシウム(Ca)チャンネルを開き、細胞内Ca濃度を増加させる。動脈管に特有の酸素感受機構を司る遺伝子群の発現について、発生初期の咽頭弓動脈から調べた研究はない。

心臓の形成に関わる遺伝子の解明は急速に進んでいるが、大血管の形成に関わる遺伝子の研究はほとんどなされてこなかった。特に大血管にリモデリングが起こったり、動脈管が持っている特異な性質を獲得したりする現象の機序に関する研究はない。次世代シーケンス法を用いれば、微量RNAから全発現遺伝子情報(トランスクリプトーム, RNA-seq)も得られる。mRNA情報を網羅的に得ることにより、標的血管の発達に伴う経時的変動や酸素曝露による変動の性格付けが期待される。

2. 研究の目的

マウス胎仔の左右の咽頭弓動脈に発現するmRNAを次世代シーケンス法により比較解読し、特異的に発現する遺伝子を検出すること。さらに、咽頭弓動脈から血管リモデリングにより大動脈弓が形成される機序と動脈管が酸素感受性を獲得する機序を明らかにすること。

3. 研究の方法

(1) マウス組織試料の採取とRNA精製・cDNA調製

トランスクリプトーム解析用に、ICR妊娠マウスを頸椎骨折により安楽死させ、計2腹から胎生10.5日の体節35-36以上ができている胎仔から冷生理的食塩液中で顕微鏡下可及的速やかに、右側・左側の咽頭弓を含む胸部組織を採取・分別し、それぞれプール試料として凍結した。この組織試料をタカラバイオ(株)に送付し、RNAの抽出及び次世代シーケンサーによるRNA配列の解読を委託した。

リアルタイムPCRおよび免疫染色用の試料を得るために、ICR妊娠マウス計2腹から胎生10.5日の胎仔を計30匹(RNA採取用24匹、免疫染色用6匹)採取した。免疫染色用に、胎仔全身をリン酸緩衝4%パラホルムアルデヒド(PFA)溶液により固定した。RNA採取用には、冷生理的食塩液中で顕微鏡下可及的速やかに右側・左側の咽頭弓を含む胸部組織にそれぞれ分別し、プール試料としてRNAlater(Ambion)中に-20℃保存した。このプール試料からそれぞれ全RNAを抽出(FastGene RNA精製キット)し、RNA濃度を測定し(Qubit RNA BRアッセイキット)、Primescript RT master mix(タカラバイオ)を用いてcDNAとした。このcDNAをテンプレートとして、SYBRタイプの定量PCR酵素(Takara)を用いてトランスクリプトーム解析により選別された発現遺伝子mRNAの発現を定量し、解析結果の確認を実施した。

(2) 組織試料の免疫染色

PFA固定試料をPBS洗浄後、OCT compoundを用いて包埋し、凍結し、クライオスタット(ライカ)を用いて矢状縫合に平行な凍結切片(4μm)を作製し、スライドガラスに接着させ、-20℃で使用まで保存した。スライドを室温に戻し、切片を十分に風乾後、リン酸緩衝生理的食塩水(PBS)を用いてcompoundを洗浄し、内在性のペルオキシダーゼ活性を阻害するために3%過酸化水素/メタノール処理を15分間行い、PBS洗浄を行った。用いた一次抗体は、Tbx20(ABclonal, A15994, ウサギ製ポリクローナル抗体, 1:100), Ankrd1(ABclonal, A6192, ウサギ製ポリクローナル抗体), Myh7(ABclonal, A7564, ウサギ製ポリクローナル抗体, 1:100), Errγ(SantaCruz, sc-393969, マウスモノクローナル抗体, 1:100)及びα平滑筋アクチン(Abcam, ab5694, ウサギポリクローナル抗体, 1:100, 及びAbcam, ab18460, マウスモノクローナル抗体, 1:1000)であった。マウス製一次抗体の場合、この後、ヒストファインマウスステインキット(ニチレイバイオサイエンス)を用いた。すなわち、試料スライドを、ブロッキングA液処理、PBS

洗浄、一次抗体と反応、PBS 洗浄、ブロッキングB液処理、PBS 洗浄、simple stain mouse MAX-PO(M)処理、PBS 洗浄を実施した。ウサギ製一次抗体の場合、Vectastain Elite ABC rabbit IgG kit (Vector Laboratories) を用いた。すなわち、試料スライドを、ゴート血清を含むPBSを用いてブロッキング後、一次抗体と反応、PBS 洗浄、ビオチン結合抗ウサギ IgG 抗体、PBS 洗浄、ペクタステイン ABC 試薬処理、PBS 洗浄を実施した。いずれの抗体の場合も、この後、ペルオキシダーゼ染色 (DAB) (Nakalai tesque) を行った。その後、メチルグリーン溶液 (Fujifilm Wako) を用いて対比染色し、直ちに脱水・透徹、封入した。

4. 研究成果

(1) トランスクリプトーム解析

① 検体の品質評価

Agilent TapeStation による品質評価の結果、吸光定量値は、260/280 比 2.1 以上、RNA Integrity Number (RIN) 値は、いずれも 10.0 と品質基準を満たしていたので、DNA シーケンス解析に進めた。

② 遺伝子オントロジー解析

発現量の指標である FPKM 値 (Fragments Per Kilobase of exon per Million fragments mapped, ある転写物上に mapping された fragments 数をその転写物の長さの合計と全ゲノムに mapping された全 fragments 数で正規化したもの) を用いて、2 グループ間の発現量に違いのある遺伝子を抽出した。FPKM 値を対数変換して $\log_2\text{FPKM}$ とし、両群間の変化率が 2 倍以上及び 0.5 倍以下の遺伝子を抽出した。合計 25219 転写物の内、LPA 群で 2 倍以上発現が高いものは 1024、0.5 倍以下のものは 1204 抽出された (図 1)。

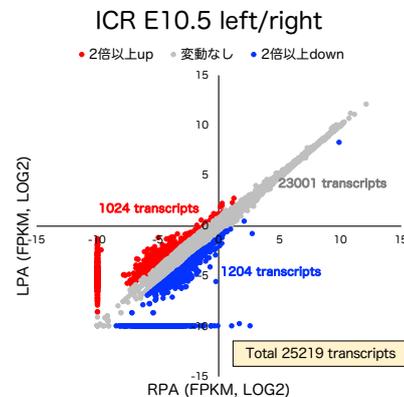


図1 左右咽頭弓を含む胸部試料における発現遺伝子
左咽頭弓 (left pharyngeal arch, LPA) で右咽頭弓 (left pharyngeal arch, RPA) に比べて発現レベルが2倍以上高い遺伝子群を赤色、0.5倍以下低い群を青色、変動がない (2倍未満から0.5倍を超える) 遺伝子群を灰色で表示した。

変動遺伝子抽出により絞り込まれた遺伝子群の機能や性質を俯瞰するために、遺伝子オントロジー (GO) 解析を、DAVID National Institute of Allergy and Infectious Diseases が提供する DAVID (The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery : <https://david.ncifcrf.gov/>) を用いて、biological process (BP, 生体内の各種の生物学的な反応の名称)、cellular component (CC, 細胞の構成要素の名称や局在)、molecular function (MF, 分子としての機能や物質名) の3区分について、両群間の変化率が LPA で2倍以上高い 998 転写物の Entrez Gene ID について実施した (図 2, 表 1)。

GO 解析では、GO term (GO 内で定義されたアノテーション情報) が付いている遺伝子のみを解析対象とするため、BP 解析では 450 転写物、CC 解析では、527 転写物、MF 解析では、275 転写物が対象となった。1 遺伝子について複数の GO term が付いていることもあるため、BP 解析では 1314 counts、CC 解析では、1438 counts、MF 解析では、465 counts の GO term が検出された。GO term の count 総数に対して、それぞれの GO term の counts の割合 (%) を求め、グラフ化した (図 2)。

なお、1%以下の GO term は others としてまとめた。又、2%以上の GO term 名

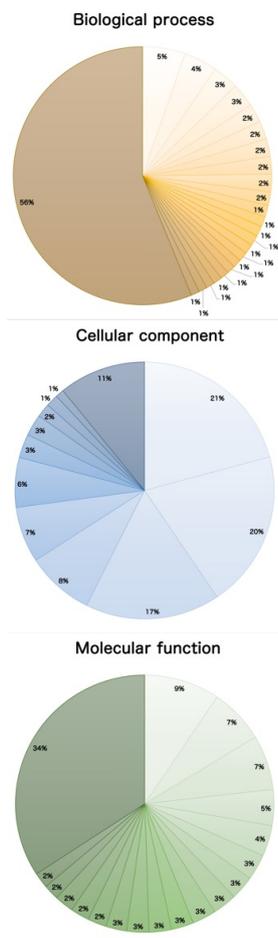


図2 LPAで2倍以上高発現する遺伝子群のオントロジー解析

| Biological process | % |
|---|----|
| signal transduction | 5 |
| multicellular organism development | 4 |
| ion transport | 3 |
| immune system process | 3 |
| immune response | 2 |
| spermatogenesis | 2 |
| inflammatory response | 2 |
| transmembrane transport | 2 |
| proteolysis | 2 |
| Cellular component | % |
| membrane | 21 |
| integral component of membrane | 20 |
| plasma membrane | 17 |
| extracellular region | 8 |
| extracellular space | 7 |
| integral component of plasma membrane | 6 |
| cell surface | 3 |
| external side of plasma membrane | 3 |
| Molecular function | % |
| calcium ion binding | 9 |
| receptor binding | 7 |
| sequence-specific double-stranded DNA binding | 7 |
| cytokine activity | 5 |
| transmembrane signaling receptor activity | 4 |
| serine-type peptidase activity | 3 |
| symporter activity | 3 |
| voltage-gated ion channel activity | 3 |
| ion channel activity | 3 |
| serine-type endopeptidase inhibitor activity | 3 |
| signaling receptor activity | 3 |
| serine-type endopeptidase activity | 3 |
| hormone activity | 3 |
| peptidase inhibitor activity | 2 |
| growth factor activity | 2 |
| ion channel binding | 2 |

表1 GO解析で検出された主なGO term

を表1に示した。これらの結果から、マウス胎生 10.5 日胎仔の右と左の咽頭弓領域に発現する遺伝子群では、細胞膜に存在するイオンチャンネルや受容体を介したシグナル伝達に違いが生じていることが示唆された。

③ 変化率の大きい遺伝子群

左右咽頭弓を含む群 (LPA 群対 RPA 群) 間の変化率が LPA で 2 倍以上 (表 2-1) 及び 0.5 倍以下 (表 2-2) の遺伝子群を抽出した。但し、精度の低い結果を除くために、各目的群で FPKM 値 0.1 以上の遺伝子に限定して、発現量の低い遺伝子を除外した。

(2) 定量PCRによる検証

LPA 群で 2 倍以上発現する遺伝子群について、外れ値や擬陽性を排除するため、定量 PCR 実験を行った。各マウス遺伝子の mRNA のコードする DNA 塩基配列 (主に coding region) から、Primer3Plus (EMBL) の qPCR モードを用いてプライマーを作成し (表 3)、24 匹の E10.5 の胎仔の左咽頭弓 (LPA) 又は右咽頭弓 (RPA) を含む領域のプール RNA 由来 cDNA を測定試料として定量 PCR を実施した。各遺伝子の定量値 (Cq) を GAPDH の値で補正した後、LPA 発現量を RPA 発現量で除した結果を図 3 に示した。LPA/RPA 比が 2 倍以上を示した発現遺伝子は、*Tbx20*, *Ankrd1*, *Myh7*, *Smyd1*, *Esrrg*, *Unc45b* であった。

(3) 免疫染色による発現領域の検出

定量 PCR の結果から、マウス E10.5 胎仔の免疫染色を行う候補遺伝子 (*Tbx20*, *Ankrd1*, *Myh7*, *Esrrg*) を選んだ。また、陽性コントロールとして α 平滑筋アクチン抗体を用いた。図 4A, B にマウス 10.5 日胎仔の左咽頭弓動脈を含む正中面に平行な (矢状縫合方向の) 切片における平滑筋アクチンの発現 (茶色) を示した。平滑筋アクチンは、胎仔の心臓を縁取り、心室内部の肉柱構造、流出路 (OFT) や第 III、第 IV 咽頭弓動脈に明瞭な発現がみられた。なお、図 4A, B は、ウサギ製平滑筋アクチン抗体の結果を示したが、マウス製同抗体でも、同一の結果を得た (図は示さず)。

Tbx20 は、転写促進因子と抑制因子の両性質を備え、*Tbx5* と拮抗して、右心室形成に寄与する。胎仔の心房・心室、OFT に *TBX20* の発現が検出された (図 4C)。Takeuchi J. et al, 2005 [1] も、E10.5 のマウス胎仔の心房・心室、OFT に、*TBX20* の発現を報告している。

Ankrd1 は、Cardiac ankyrin repeat protein とも言われ、先天性変異により拡張型・肥大型心筋症発症の原因となる。胎仔の心房・心室壁、肉柱構造、OFT 及び左咽頭弓全般に *ANKRD1* の発現が検出された (図 4D)。

Myh7 は、サルコメアを構成する β ミオシン重鎖蛋白質をコードする。この遺伝子変異は肥大型心筋症全体の原因の 20% を占め、拡張型心筋症や心筋緻密化障害、ミオパチーにも見られる [2, 3]。胎仔の心房・心室壁、肉柱構造、

表2-1 RPAに比べLPAでは2倍以上発現する遺伝子

| 遺伝子シンボル | 遺伝子名 | RPA (FPKM) | LPA (FPKM) | 倍率 (LPA/RPA) |
|----------------|--|------------|------------|--------------|
| <i>Amd1</i> | S-adenosylmethionine decarboxylase 1 | 1.2 | 4.7 | 3.9 |
| <i>Hspb2</i> | heat shock protein 2 | 0.2 | 0.6 | 3.7 |
| <i>Pi16</i> | peptidase inhibitor 16 | 0.2 | 0.6 | 3.5 |
| <i>Ankrd1</i> | ankyrin repeat domain 1 (cardiac muscle) | 1.2 | 4.1 | 3.4 |
| <i>Pln</i> | phospholamban | 0.2 | 0.6 | 3.3 |
| <i>Tbx20</i> | T-box 20 | 0.7 | 2.3 | 3.1 |
| <i>Igf1bp7</i> | insulin-like growth factor binding protein 7 | 0.2 | 0.6 | 3.1 |
| <i>Myh7</i> | myosin, heavy polypeptide 7, cardiac muscle, beta | 2.4 | 6.8 | 2.9 |
| <i>Myi2</i> | myosin, light polypeptide 2, regulatory, cardiac, slow | 0.6 | 1.8 | 2.8 |
| <i>Myocd</i> | myocardin | 0.3 | 0.8 | 2.6 |
| <i>Unc45b</i> | unc-45 homolog B (C. elegans) | 0.9 | 2.3 | 2.4 |
| <i>Esrrg</i> | estrogen-related receptor gamma | 0.3 | 0.6 | 2.4 |
| <i>Popdc2</i> | poppy domain containing 2 | 0.9 | 2.1 | 2.3 |
| <i>Zfp2</i> | zinc finger protein, multitype 2 | 0.3 | 0.8 | 2.2 |
| <i>Smyd1</i> | SET and MYND domain containing 1 | 1.3 | 2.7 | 2.1 |
| <i>Cryab</i> | crystallin, alpha B | 0.9 | 1.9 | 2.0 |

但し、LPAの遺伝子がFPKM値0.1以上のものに限定した。

表2-2 RPAに比べLPAでは0.5倍以下で発現する遺伝子

| 遺伝子シンボル | 遺伝子名 | RPA (FPKM) | LPA (FPKM) | 倍率 (LPA/RPA) |
|---------------------|---|------------|------------|--------------|
| <i>Snord17</i> | small nucleolar RNA, C/D box 17 | 5.9 | 0.0 | 0.0 |
| <i>Hba-a2 (2)</i> | hemoglobin alpha, adult chain 2 | 3.2 | 0.0 | 0.0 |
| <i>Hist1h4n (2)</i> | histone cluster 1, H4n | 2.1 | 0.0 | 0.0 |
| <i>Eif3j2</i> | eukaryotic translation initiation factor 3, subunit J2 | 6.7 | 0.6 | 0.1 |
| <i>Hist1h2bn</i> | histone cluster 1, H2bn | 1.2 | 0.3 | 0.3 |
| <i>Fou3f4</i> | POU domain, class 3, transcription factor 4 | 4.2 | 1.4 | 0.3 |
| <i>Rn45s</i> | 45S pre-ribosomal RNA | 948.1 | 319.8 | 0.3 |
| <i>Hist1h4j</i> | histone cluster 1, H4j | 1.2 | 0.4 | 0.4 |
| <i>Pantr1</i> | POU domain, class 3, transcription factor 3 adjacent noncoding transcript 1 | 2.0 | 0.8 | 0.4 |
| <i>Raet1b</i> | retinoic acid early transcript beta | 1.1 | 0.4 | 0.4 |
| <i>Smin24</i> | small integral membrane protein 24 | 1.6 | 0.7 | 0.4 |
| <i>Izumo4</i> | IZUMO family member 4 | 1.2 | 0.6 | 0.4 |
| <i>Hist1h4d</i> | histone cluster 1, H4d | 1.5 | 0.7 | 0.5 |
| <i>Actr3b</i> | ARP3 actin-related protein 3B | 1.2 | 0.6 | 0.5 |
| <i>Foxi2</i> | forkhead box I2 | 1.4 | 0.7 | 0.5 |

但し、RPAの遺伝子がFPKM値0.1以上のものに限定した。

表3 定量PCRプライマーの塩基配列

| | L primer | R primer |
|----------------|------------------------|------------------------|
| <i>Amd1</i> | tcagccagatcaaacactgg | tcacagagtacatccttgc |
| <i>Hspb2</i> | tgctctatcccatgatggcatc | tgactctcgtgtcacaatgc |
| <i>Pi16</i> | acatccatttgctggtgtgc | ttctcacagctgtagccaagag |
| <i>Ankrd1</i> | tggggagttcagaatggag | tttttgagctctgcctctcg |
| <i>Pln</i> | tcagcaagcacgtcagaatc | gcagatcagcagcagacatc |
| <i>Tbx20</i> | aaggagctctggacaaattcc | aaaatgacacggatggtg |
| <i>Igf1bp7</i> | ttcagcggacagaactcttg | cttcatgctttctggaccac |
| <i>Myh7</i> | aaggcaaggcaaggcaaaag | atgcagcgtacaagtggag |
| <i>Myi2</i> | tgttcctcacgatgtttggg | acatagtgcgcttcagtgacc |
| <i>Myocd</i> | aagaaccgcccacaaaagcc | aatagtctgctgttgctggag |
| <i>Unc45b</i> | tgagagccatgtttgagttg | tggtgctggagaactggc |
| <i>Esrrg</i> | tgagaacagccatacctgaac | ttcagccaccaacaatgcg |
| <i>Popdc2</i> | ctggccccgaaaaatctttac | tgctgaagcgtaacccaac |
| <i>Zfp2</i> | tggccagacttcataaac | aacggtggaagatgtatgc |
| <i>Smyd1</i> | atgggatgatctgcaagcc | tcgttttgccggaacatagc |
| <i>Cryab</i> | tgaatctggacgtgaagcac | atgaagccatgtctgctctg |
| <i>Actb</i> | ggctgtattcccctccatcg | ccagttgtaacaatgccatgt |
| <i>Gapdh</i> | ctcccactctccaccttcg | gcctctctgctcagtgcc |

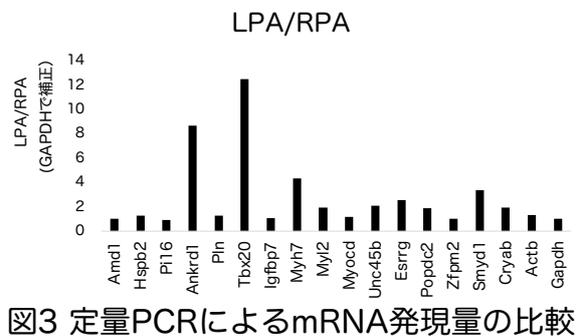


図3 定量PCRによるmRNA発現量の比較

OFT 及び左咽頭弓全般に MYH7 の発現が検出された (図 4E)

Esrr γ (エストロゲン関連受容体ガンマ) は、網膜に高発現するが、ユビキタスに発現するとされる。しかし、本実験条件では、発現は検出されなかった (図 4F)。同条件で実施したマウス平滑筋アクチン抗体は問題無く発現を検出できたので、実験手技の問題ではないと考えられる。Esrr γ mRNA の発現は FPKM 値 0.6 と比較的 low、もし局在していないならば検出が難しいのかもしれない。

免疫染色の結果から、平滑筋アクチンは、第 III, IV 咽頭弓動脈に発現を示し、大動脈弓への分化の兆しを示した。ANKRD1, MYH7 は、左咽頭弓動脈全般、OFT、心臓全般に、TBX20 は、OFT と心臓に発現が認められた。しかし、平滑筋アクチンの発現のような咽頭弓動脈における特徴的な局在は見つからなかった。トランスクリプトーム解析に用いた左咽頭弓動脈や心臓を含む試料に最も優位に発現する遺伝子群としては、これらの発現分布は、当然とも考えられる。動脈管形成に寄与する遺伝子群の検出のために

は、さらに詳細な発現レベルの違いを対象として検討することが必要と考えられた。

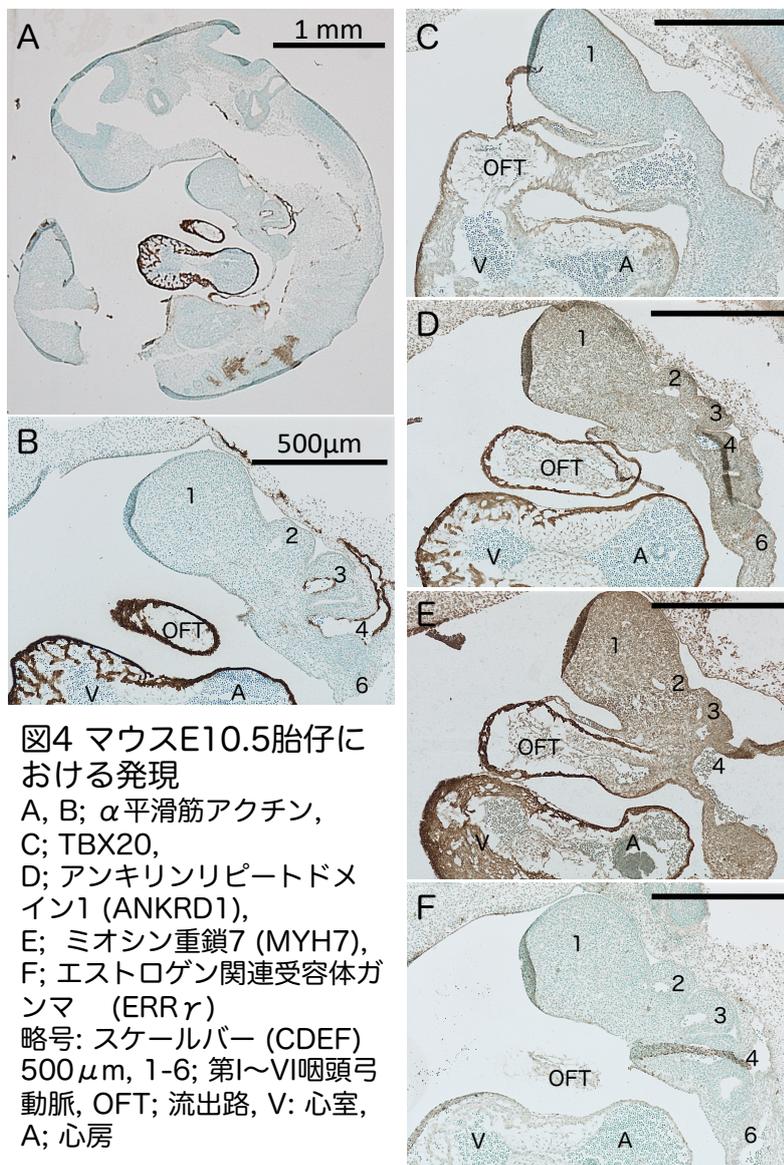


図4 マウスE10.5胎仔における発現

A, B; α 平滑筋アクチン,
C; TBX20,
D; アンキリンリピートドメイン1 (ANKRD1),
E; ミオシン重鎖7 (MYH7),
F; エストロゲン関連受容体ガンマ (ERR γ)
略号: スケールバー (CDEF)
500 μ m, 1-6; 第I~VI咽頭弓動脈, OFT; 流出路, V: 心室, A; 心房

<引用文献>

1. Takeuchi, J.K.; Mileikovskaia, M.; Koshiba-Takeuchi, K.; Heidt, A.B.; Mori, A.D.; Arruda, E.P.; Gertsenstein, M.; Georges, R.; Davidson, L.; Mo, R.; et al. Tbx20 dose-dependently regulates transcription factor networks required for mouse heart and motoneuron development. *Development* 2005, 132, 2463-2474, doi:10.1242/dev.01827.
2. McNally, E.; Dellefave, L. Sarcomere mutations in cardiogenesis and ventricular noncompaction. *Trends Cardiovasc Med* 2009, 19, 17-21, doi:10.1016/j.tcm.2009.03.003.
3. Tobita, T.; Nomura, S.; Fujita, T.; Morita, H.; Asano, Y.; Onoue, K.; Ito, M.; Imai, Y.; Suzuki, A.; Ko, T.; et al. Genetic basis of cardiomyopathy and the genotypes involved in prognosis and left ventricular reverse remodeling. *Sci Rep* 2018, 8, 1998, doi:10.1038/s41598-018-20114-9.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|