

機関番号：12601

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20570200

研究課題名 (和文) 脊椎動物における心臓中隔形成メカニズムの進化的解明

研究課題名 (英文) Mechanism of four-chambered heart formation in the vertebrates

研究代表者

小柴 和子 (KOSHIBA KAZUKO)

東京大学・分子細胞生物学研究所・講師

研究者番号：30467005

研究成果の概要 (和文)：

脊椎動物の心臓は、魚類（一心房一心室）から鳥類・哺乳類（二心房二心室）へと、生活環境の変化に伴いより高次な形態を持つようになった。本研究は脊椎動物の心臓形態進化に着目し、脊椎動物が心房心室中隔を獲得していったメカニズムを明らかにすることにより、ヒトの先天性心疾患である心房心室中隔欠損症の発症原因の解明に迫ろうというものである。そのため心室中隔獲得過程にある爬虫類を用いて、心臓発生を調べたところ、心室中隔形成に *Tbx5* 遺伝子の左心室への局在が重要であることが明らかになった。この結果は一つの遺伝子の発現様式が進化過程で変化することにより、心臓形態を変化させていったという、心臓進化に関わる新たな知見をもたらした。

研究成果の概要 (英文)：

In vertebrates the heart morphology is varied from fish to mammals relating their life style. This fact is well known, but the molecular mechanism that provides such differences between four-chambered animals and non-four-chambered animals is unclear. Non-crocodylian reptiles hold a unique place in the evolution of the heart, as their ventricular chambers are apparent intermediates between three-chambered heart and four-chambered heart. We studied *Tbx5* expression pattern in the reptiles and found that a steep and correctly positioned *Tbx5* gradient is important for ventricular septum formation. This findings generally support the concept that altered expression of developmental regulators is an important aspect of morphological evolution.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：発生生物学

科研費の分科・細目：生物科学・発生生物学

キーワード：発生・分化、進化、形態形成、心臓、爬虫類、発現制御、遺伝子、ゲノム

## 1. 研究開始当初の背景

ヒト先天性心疾患は新生児の約100人に一人の割合で発症し、そのなかでも心房心室中隔欠損症は非常に高頻度で見受けられる疾患である。研究代表者はこのヒト先天性心疾患を理解するために、心臓心室中隔形成に関わる分子制御メカニズムの研究を行ってきた。その中で、脊椎動物の心臓形態進化に興味を抱いた。脊椎動物の心臓は魚類（一心房一心室）から鳥類・哺乳類（二心房二心室）にわたって、その生活環境が水棲から陸棲に変化するのに伴いより高次な形態をとるようになる。魚類から両生類に進化する過程で心房に壁（中隔）が作られ、次いで爬虫類で心室に中隔が作られ、最終的に四つの区画からなる心臓（二心房二心室）が形成される。つまり、脊椎動物は進化の過程で心臓中隔を獲得し、心臓形態を変化させていったのである。そこで、脊椎動物が進化の過程でどのように心房心室中隔を獲得したか、その分子メカニズムを明らかにすることにより、先天性心疾患の発症原因の解明や病態の理解につなげることを考えた。

## 2. 研究の目的

本研究は、脊椎動物の心臓形態を発生過程を追って比較し、心房心室中隔が進化のどの段階で獲得されたのか明らかにするとともに、心臓特異遺伝子の比較解析から心房心室中隔形成分子メカニズムを解明することを目的とする。

## 3. 研究の方法

爬虫類は一般に、不完全な心室中隔を有するとされており、爬虫類の心臓発生を調べることから、心室中隔獲得メカニズムに迫れるのではないかと考えた。爬虫類にはワニ目、カメ目、有鱗（へび・トカゲ）目とあり、それぞれの心臓形態を詳細に調べた。また、マウスを用いた解析から心臓発生に重要とされる因子が報告されているので、それら因子の発現がどのようになっているか、爬虫類の心臓発生過程での発現様式を調べた。さらに、爬虫類胚で得られた仮説をトランスジェニックマウスを作製し、心臓形態を観察することにより、検証した。

## 4. 研究成果

爬虫類の3目（ワニ目、カメ目、有鱗目）について心臓形態を比較したところ、ワニでは心室が中隔によって二分されていることが明らかとなった。ただし、鳥類や哺乳類のように心室全体が二分されてはおらず、心臓背側でのみ心室が中隔によって完全に二分されていた。心臓腹側の流出路直下には中隔はなく、背側に行くに従って中隔が発達していた。有鱗目のグリーンアノールでは、心臓

発生過程を追っても中隔様構造は全く認められなかった。カメ（アカミミガメ）は心臓発生初期では中隔様構造は認められないが、発生後期になると心室壁の一部が肥厚し、肉柱マーカも発現しないことから不完全な中隔を形成すると考えられた。アノールとカメの心臓形態の違いをもたらす要因として、Tbx5 遺伝子に着目し、発現様式を比較したところ、アノールでは Tbx5 が心室全体に発現しているのに対し、カメでは発生後期にはニワトリやマウスのように、左室に局在して発現するようになることが明らかとなった（図参照）。この左室に局在した Tbx5 遺伝子の発現が心室中隔形成と関わりがあるのかどうか、トランスジェニックマウスを用いて検証した。その結果、Tbx5 遺伝子の極性を持った発現と、発現境界の形成される位置が中隔形成に重要であることを見いだした。この結果は一つの遺伝子の発現様式が進化過程で変化することにより、心臓形態を変化させていったという、心臓進化に関わる新たな知見をもたらした。脊椎動物の心臓形態進化は小中学校の教科書にも記載されるほどよく知られた現象であるが、本研究は世界で初めて、分子レベルで心臓形態進化のメカニズムについて報告した。さらに、本研究で得られた結果はヒトの先天性心疾患の新たな発症原因の解明につながる可能性も期待される。

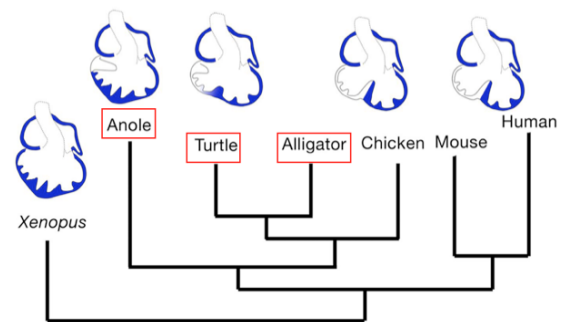


図 脊椎動物の系統樹と Tbx5 遺伝子の発現様式および心臓形態

## 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 2 件）

- ① 小柴和子, Benoit G. Bruneau, 竹内純、爬虫類心臓発生と心室形態進化の分子メカニズム、査読無、実験医学、28、2010、572-576
- ② Koshiha-Takeuchi K., Mori A.D., Kaynak B.L., Cebra-Thomas J., Sukonnik T., Georges R.O., Latham S., Beck L., Henkelman R.M., Black B.L., Olson E.N., Wade J., Takeuchi J.K., Nemer M., Gilbert

S.F., Bruneau B.G. Reptilian heart development and the molecular basis of cardiac chamber evolution. Nature 査読あり 461, 2009, 95-99.

〔学会発表〕(計 11 件)

- ① 小柴-竹内和子、脊椎動物心臓形態多様化メカニズムの理解、第 88 回日本生理学会大会・第 116 回日本解剖学会総会、2011 年 3 月 28-30 日、パシフィコ横浜 (神奈川県)
- ② 小柴和子、二心房二心室の心臓はどのようにしてできたか? -脊椎動物の進化から学ぶ-、第 26 回バイオテクノロジー懇談会、2011 年 1 月 20 日、東京大学弥生講堂 (東京)
- ③ 小柴-竹内和子、心臓心室中隔獲得に関わる分子機構の解明、日本動物学会第 81 回大会、2010 年 9 月 23-25 日、東京大学駒場キャンパス (東京)
- ④ Koshihba-Takeuchi K., Vertebrate heart evolution -Molecular mechanism of cardiac septum formation-, 第 12 回日本進化学会、2010 年 8 月 2-5 日、東京工業大学大岡山キャンパス (東京)
- ⑤ 小柴-竹内和子、脊椎動物の心臓中隔はどのようにしてできたか-心臓形態進化から明らかになる心室中隔形成メカニズム-、第 9 回心臓血管発生研究会、2010 年 7 月 10 日、シェラトン・グランデ・トーキョーベイ・ホテル (東京)
- ⑥ 小柴-竹内和子、脊椎動物における心臓区画化メカニズムの進化発生的解析、第 20 回日本解剖学会関東支部懇話会、2010 年 5 月 22 日、東京慈恵会医科大学 (東京)
- ⑦ 小柴-竹内和子、Reptile heart development and vertebrate heart evolution, 第 32 回日本分子生物学会年会、2009 年 12 月 9 日、パシフィコ横浜 (神奈川県)
- ⑧ 小柴-竹内和子、脊椎動物の心臓はどのようにしてできたか、日本動物学会第 80 回大会、2009 年 9 月 17-20 日、静岡県コンベンションアーツセンターグランシップ (静岡)
- ⑨ Koshihba-Takeuchi K., Molecular mechanism of chamber formation in the vertebrate hearts, 16<sup>th</sup> International Society of Developmental Biologists Congress 2009, 2009 年 9 月 6-10 日、Edinburgh (UK)
- ⑩ 小柴-竹内和子、脊椎動物の心臓区画化分子メカニズムと形態進化、日本動物学会第 79 回大会、2008 年 9 月 5-7 日、福岡大学七隈キャンパス (福岡)
- ⑪ Koshihba-Takeuchi K., Heart development and chamber evolution in reptiles, 41<sup>st</sup> Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists, 2008 年 5 月 28-30 日、徳島県郷土文化会館 (徳島)

〔図書〕(計 1 件)

- ① 竹内純、宮川一富田幸子、笹岡陽介、小柴和子、中外医学社、Annual Review 循環器、2011、1-16

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/junktakeuchi-lab/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小柴 和子 (KOSHIBA KAZUKO)

東京大学・分子細胞生物学研究所・講師

研究者番号：30467005