

機関番号 : 14301
研究種目 : 若手研究 B
研究期間 : 2009 ~ 2010
課題番号 : 21791613
研究課題名 (和文) bHLH 型転写因子による気管発生の制御に関する研究

研究課題名 (英文) bHLH gene regulates tracheal development

研究代表者

楯谷 一郎 (TATEYA ICHIRO)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号 : 20526363

研究成果の概要 (和文) : 気管の再生には気管発生の理解が不可欠であるが、気管が発生においてどのように形成されるのかについてはほとんど分かっていない。一方、bHLH (ヘリックス・ループ・ヘリックス) 型転写因子が胎生期において体節の規則正しい形成を担っていることが報告されている。本研究では bHLH 型転写因子にかかわるノックアウトマウスを解析した結果、bHLH 型転写因子が発生の気管形成において重要な役割を担っている可能性が示唆された。

研究成果の概要 (英文) : To regenerate trachea, it is essential to understand the tracheal development. However, little is known about the tracheal development. Basic-helix-loop-helix (bHLH) transcription factor is reported to participate in somite genesis in embryogenesis. The study indicated that bHLH gene regulates tracheal development.

交付決定額

(金額単位 : 円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 21 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
平成 22 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野 : 医歯薬学

科研費の分科・細目 : 外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード : 気管、bHLH、発生

1. 研究開始当初の背景

気管の主たる機能は吸気・呼気の通路を安定して確保することであるが、そのためには呼吸時の圧変化に耐え、さらに頸部・胸郭の動きに耐える構造であることが求められる。気管は規則正しく並んだ気管輪により保持されるというユニークで合目的な形状を持つことで伸張や短縮、陰圧や陽圧に対応しその管腔様構造を保っている。

何らかの原因で気管輪の構造が損なわれると吸気時において気道内に陰圧がかかった際に気管内腔が変形し、重篤な呼吸障害を生じる。小児での先天性・後天性気管狭窄や甲状腺癌における気管合併切除例などに対し、骨・軟骨移植や人工気管を含む様々な治療が行われているが、気管欠損が広範囲であったり気管支に及ぶ場合には治療に難渋する。気管欠損、狭窄の根本的な解決にはやはり気管を組織学的に再生するのが理想である。

気管の再生を目指すには気管の発生機構の理解が不可欠である。気管の発生においてマウスでは胎生 10 日に将来肺となる肺芽のすぐ口側で前腸の左右の外側壁に溝が形成され、その溝が深くなって正中で癒合し、食道から別れて気管の原基が形成され伸張していくことが知られている。

食道と気管の分離には **Noggin** (Que ら, 2006) の関与が報告されているが、気管の形成についてはソニックヘッジホッグ (Miller ら, 2004) や申請者らが報告した

ビタミンAの関与 (Tateya, 2007) の報告が散見される程度であり、どのように気管輪が規則正しく並んだ構造が作られるのかについては分かっていなかった。

一方、bHLH 型転写因子である **Hes1**, **Hes7** やノッチシグナル伝達系のモジュレーターである **Lunatic fringe** が体節の形成に大きく関与していることが近年明らかとなっている。体節は椎骨や骨格筋のもとになる構造物で胎生期において神経管の両側に一過性に形成されるが、その際一定時間 (マウスでは 2 時間) ごとに 1 節ずつ規則的に形成されることが知られている。

近年、体節形成部では **Hes 7** の発現が周期的 (2 時間毎) に増減 (オシレーション) しており、**Hes 7** ノックアウトマウスでは分節の形成不全により脊椎、肋骨の形成が著しく阻害され生直後に大多数が呼吸不全により死亡することが報告され、**Hes7** のオシレーションが体節の形成に重要な役割を果たしていることが明らかとなった (Bessho, 2001)。同様に bHLH 型転写因子の一つである **Hes 1** もオシレーションすることが報告されている (Hirata ら, 2002)。

申請者は **Hes7** などの bHLH 型転写因子のオシレーションが気管輪の規則正しい形成にも関与しているのではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は bHLH 型転写因子の発生期の気管形成における役割をノックアウトマウスを用いた解析により明らかにすること。

3. 研究の方法

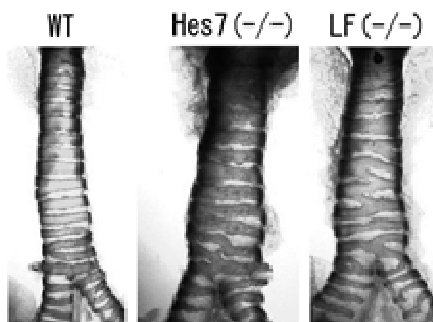
Hes7, Lunatic fringe ノックアウトマウスの胎生 15-18 日胎仔より呼吸器を採取し、気道の異常を評価した。気管軟骨の形態学的異常を評価するため採取した気管にアルシャンブルー染色を行い、気管輪の数、太さ、癒合の数を定量的に評価した。

また胎生 9-15 日胎仔についても切片を作成して気管軟骨の形態を評価した。

4. 研究成果

Hes 7 ノックアウトマウス、Lunatic fringe ノックアウトマウスの成体マウスの気管軟骨の形態をアルシャンブルー染色により調べた。その結果、Hes 7 ノックアウトマウス、Lunatic fringe ノックアウトマウスでは野生型に比べ気管輪の数が少なくまた不整形であり、気管の径も拡張していることが明らかとなった

(下図:左から正常、Hes7 (-/-)、Lunatic fringe (-/-)マウスの気管)。



以上の結果により、Hes7、lunatic fringe が規則正しい気管輪の形成において重要な役割を担っていることが示唆された。

国内外において bHLH 型転写因子やノッチシグナル伝達関連因子と哺乳類の気管形成との関連を指摘した報告はなく、本研究が最初となる。

bHLH 型転写因子が、体節の形成に関与するだけでなく体節以外においても規則的な構造物の形成に関与することを初めて示す点で発生学的に大きな意義を持つ。また気管輪の形成の理解に大きく寄与するものであり、気管再生治療法の開発に大きく貢献すると思われた。

参考文献

Que J, Choi M, Ziel JW, et al. Morphogenesis of the trachea and esophagus: current players and new roles for noggin and Bmps. Differentiation. 2006; 74(7):422-437.

Miller LA, Wert SE, Clark JC, et al. Roles of Sonic hedgehog in patterning of tracheal-brochial cartilage and the peripheral lung. Dev Dyn. 2004;231(1):57-71.

Tateya I, Tateya T, Surles RL, et al. Prenatal vitamin A deficiency causes laryngeal malformation in rats. Ann Otol Rhinol Laryngol. 2007; 116(19):785-792.

Bessho Y, Sakata R, Komatsu S, et al. Dynamic expression and essential

functions of Hes 7 in somite segmentation.
Genes Dev. 2001; 15(20): 262-267.

Hirata H, Yoshiura S, Ohtsuka T, et al.
Oscillatory expression of the bHLH factor
Hes 1 regulated by a negative feedback
loop. Science. 2002; 298(5594):840-843.

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)

[学会発表] (計 1 件)

1. 楯谷一郎. 気管発生における bHLH 型転写
因子の役割の解明、京都耳鼻咽喉科研究
会、平成 21 年 4 月 3 日、京都市

6. 研究組織

(1) 研究代表者 楯谷一郎

京都大学・医学研究科 助教

研究者番号：20526363