

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：84404

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15337

研究課題名(和文)左右非対称性から説明する心臓-血管連結機構の解明

研究課題名(英文)The molecular mechanism of left-right axis dependent heart-vessel connection

研究代表者

福本 萌 (Fukumoto, Moe)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・非常勤研究員

研究者番号：70843390

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：循環器系の構築は生命の維持に不可欠であるが、ポンプとして機能する心臓にいかんして血管が接続するのかわかっていない。我々はライブイメージング可能なゼブラフィッシュを用いることにより、心臓の流入路側にシート状の心内膜内皮細胞集団が存在し、同じくシート状の静脈EC集団と接着することで心臓と血管が連結することを見出した。また内皮シート同士はジッパーを閉じるようなジッパーリングにより接着することが明らかとなった。トランスクリプトーム解析から、内皮シート特異的にCadherin-6が発現していること、Cadherin-6欠損体では内皮シートのジッパーリングが阻害されることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本成果は、拍動する心臓にいかんして血管内皮細胞が接着するのかが分子レベルで理解した初めての研究であり、先天性心疾患の発症機序の理解に繋がりうる研究であると言える。また胚発生の過程では心臓のみならず、多くの組織や細胞がダイナミックに動きながら形態形成を行うことは知られているが、それらの分子機構は不明な点が多かった。本研究ではロックインシステムを樹立し内在性のタンパク質に直接タグをつけるといった新規研究手法を取り入れ、発生過程において組織や細胞だけではなく分子の挙動を捉えることに成功しており、当該分野の発展に一定の貢献をしていると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The establishment of the cardiovascular system is essential for life, but it is not known how blood vessels connect to the beating heart. Using zebrafish as a model organism which is suitable for live imaging, we found that a sheet-like endocardial endothelial cell population exists on the inflow tract(IFT) of the heart that adheres to venous EC sheets in a zipper-closing manner. Transcriptome analysis revealed that Cadherin-6 is expressed specifically in the endothelial sheet and that zipping of the endothelial sheet is inhibited in Cadherin-6 deficient embryos

研究分野：発生生物学

キーワード：器官形成 ライブイメージング ゼブラフィッシュ 循環器 カドヘリン

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

心臓の発生は左右の側板中胚葉から心内膜内皮細胞、心筋前駆細胞が順に正中線に遊走し心筋が心内膜を包みこんだ心筒を形成することに始まる。その後心筒が捻転しながら立体構造を変化させることで心房、心室、弁からなる複雑な心臓が形作られる。全ての臓器は血液の供給に依存して機能しており、心臓から駆出された血液が体内循環するためには心臓と血管の接続が必須である。発生過程で心臓と血管の接続に異常をきたすと先天性心疾患(ファロー四徴症、大動脈右室起始症、大血管転移)によりチアノーゼが生じる。しかし、心臓の形成過程はよく理解されている一方で大血管が如何にして心臓に接続するか不明である。

申請者らはこれまでに血管が心臓に接続する過程を形態的に理解する目的でゼブラフィッシュ胚のライブイメージングを行ってきた。ゼブラフィッシュの心臓は一心房一心室からなるが哺乳類と同じ閉鎖循環系をもち心室は第一鰓弓動脈と心房は総主静脈と接続している。これらの接続がどのように完了するのかを明らかにするため心筋細胞を GFP で、血管内皮細胞 (endothelial cell: EC) および心内膜 EC を mCherry で可視化するトランスジェニックフィッシュ *Tg(myl7:GFP);(fli1:mCherry)* を用いてライブイメージングを行った。その結果、心内膜 EC と大血管 EC が接着することで大血管と心臓の接続が完了する様子が観察された。特に流入路側ではダイナミックに拍動する心臓へ静脈が接続する様子が捉えられた。

2. 研究の目的

静脈内皮細胞がダイナミックに拍動する心臓の心内膜内皮細胞といかにして接着するのかを明らかにする。

3. 研究の方法

二つの異なる組織が連結する様式を理解するため、ライブイメージング可能なゼブラフィッシュを用い以下の手順で解析を行った。

1. 心内膜内皮細胞と血管内皮細胞を可視化するトランスジェニック系統を用いてライブイメージングを行った。
2. 心臓—静脈連結の責任分子を同定するため単一細胞トランスクリプトーム解析を行った。
3. 同定した責任分子の役割を明らかにするためノックイン系統を樹立およびノックアウト系統を樹立し解析を行った。

4. 研究成果

心臓の流入路側にシート状の心内膜内皮細胞集団が存在し、同じくシート状の静脈 EC 集団と接着することで心臓と血管が連結することを見出した。タイムラプスイメージングにより、内皮シート同士はジッパーを閉じるようなジッパーリングにより接着することが明らかとなった。この組織化された細胞の動きを分子レベルで理解するためトランスクリプトーム解析を行った。この解析から内皮シート特異的に Cadherin-6 が発現していることを見出し実際に Cadherin-6-EGFP ノックイン系統を樹立しその発現・局在を確認したところ内皮シートで特異的に発現していることが明らかとなった。さらに Cadherin-6 欠損系統を樹立し観察を行ったところ Cadherin-6 の欠損体では内皮シートのジッパーリングが阻害されることを確認した。これらの結果をもって Cadherin-6 が静脈—心臓の連結に寄与する分子であることが明らかとなった。上記の内容は既に複数の学会で発表済みであり、現在論文投稿準備中である。

[口頭発表]

Exploring the mechanism underlying the connection between heart and great vessels

福本萌、望月直樹 第5回日本循環器学会基礎研究フォーラム 2021年9月

ライブイメージングによる心臓—血管連結機構の解明

福本萌、望月直樹 心血管代謝週間 2021 第29回血管生物医学会学術集会 2021年12月

[ポスター発表]

CDH6 connects the heart and blood vessels by promoting inter-endothelial cell-cell adhesion of endocardial endothelial cells and great vessel endothelial cells. (最優秀ポスター賞)

福本萌、望月直樹 第28回小型魚類研究会 2022年9月

CDH6 connects the heart and great vessel by organizing collective cell-adhesion between endocardial ECs and vascular EC (日本血管生物医学会 Travel Grant Award)

福本萌、望月直樹 22nd International vascular biology meeting 2022年10月

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 福本萌 望月直樹
2. 発表標題 ライブイメージングによる心臓-血管連結機構の解明
3. 学会等名 心血管代謝週間 2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福本萌 望月直樹
2. 発表標題 Exploring the mechanism underlying the connection between heart and great vessels
3. 学会等名 第5回日本循環器学会基礎研究フォーラム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福本萌 望月直樹
2. 発表標題 CDH6 connects the heart and blood vessels by promoting inter-endothelial cell-cell adhesion of endocardial endothelial cells and great vessel endothelial cells.
3. 学会等名 第28回小型魚類研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Moe Fukumoto, Naoki Mochizuki
2. 発表標題 CDH6 connects the heart and great vessel by organizing collective cell-adhesion between endocardial ECs and vascular EC
3. 学会等名 22nd International vascular biology meeting
4. 発表年 2022年

〔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
---------	---------