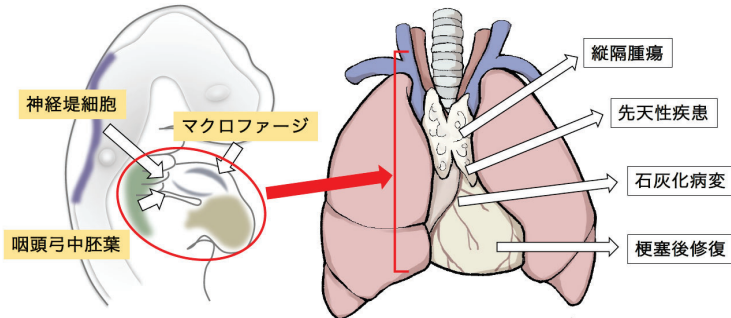


研究代表者	東京大学・大学院医学系研究科（医学部）・教授
	栗原 裕基（くりはら ひろき） 研究者番号:20221947
研究課題 情報	課題番号：22H04991 研究期間：2022年度～2026年度 キーワード：心臓発生、縦隔形成、細胞間相互作用、神経堤細胞、マクロファージ

なぜこの研究を行おうと思ったのか（研究の背景・目的）

●研究の全体像

縦隔は心臓大血管や胸腺、気管、食道などが含まれる左右の肺に挟まれた空間で、胚発生過程においては多様な細胞が流入し、離合集散しながらその表現型をダイナミックに変化させていく「細胞種の坩堝」とも言える領域である。本研究では、心臓発生とともに縦隔間葉形成に関与する神経堤細胞と咽頭中胚葉（二次心臓領域）、胎生期にこの領域に多く分布するマクロファージを中心に、心臓と縦隔組織器官を構成する細胞の共通起源と分化系譜を明らかにするとともに、発生過程における細胞間相互作用の推移を解析し、器官形成の共通基盤としての役割を明らかにする。さらに、これらの細胞系譜とその相互作用が先天性心疾患や組織石灰化の発症機転、心筋梗塞後の組織修復、縦隔腫瘍の細胞起源と発症機転にどの様に関わるのかを解明する。これにより、これまで臨床的に別個に扱われてきた心臓疾患と縦隔疾患を統合的に理解する新たな枠組みを構築するとともに、発生学に立脚した疾患成立と病態の解明を目指す「臨床発生学」を確立する。



細胞起源の多様性と共通性
 縦隔の器官外環境としての発生学的意義
 領域を超えた疾患の共通理解

図1 研究全体のイメージ図

●研究の背景

心臓を含む縦隔内の組織器官には、構成細胞の発生学的起源から見ると多くの共通点が認められる。しかし、臨床医学においては心臓疾患と縦隔疾患は一般的に全く異なるカテゴリーとして扱われており、診療科も大きく異なる。疾患研究はそれぞれ別の専門領域で行われており、22q11.2欠失症候群（DiGeorge症候群）のような心臓や大血管、胸腺に先天異常をきたす疾患にしても、縦隔を器官形成の場として統合的に捉えた研究はほとんど見られない。

研究代表者らはこれまで、内皮細胞由来の血管収縮因子として研究代表者も発見に携わったエンドセリンの研究から、その遺伝子欠損が22q11.2欠失症候群とよく似た発生異常をきたすこと、エンドセリンシグナルは神経堤細胞に作用して頭部顔面や心臓とともに大血管や胸腺など縦隔器官の発生に広く関与すること、頭部顔面骨格の起源細胞である神経堤細胞が心臓内に遊走して冠動脈平滑筋や大動脈弁にも寄与することなどを明らかにすることで、縦隔発生に関する研究基盤を築いてきた。

一方、最近のシングルセル解析などから、神経堤細胞の分化系譜やその過程に関わる遺伝子制御ネットワークを明らかにするとともに、咽頭中胚葉やマクロファージなど、縦隔組織器官に共通する他の細胞群と相互作用している可能性も見えてきた。

以上の知見は、先天性疾患から腫瘍に至る種々の疾患を領域横断的に理解する糸口になるとともに、空間的遺伝子発現解析をシングルセル解析と組み合わせることで、縦隔領域の器官外環境を共通基盤として各組織器官の発生と病態形成に新たな理解が得られるのではないかと考え、本研究の構想に至った。

●研究の目的

本研究は、以下の3つの「問い」

- ① 心臓発生と縦隔形成における多細胞系譜の分化と相互連携にはどのような共通性とどのような領域特異性があるのか？
 - ② これらの多細胞間連携はどのような因子によって媒介・制御されるのか？
 - ③ 発生過程の多細胞間連携によって心臓疾患と縦隔疾患の病態がどこまで理解できるか？
- に基づき、心臓発生と縦隔形成の共通基盤として神経堤細胞と咽頭中胚葉、マクロファージを中心に、各細胞系譜が心臓と縦隔領域でどのようなサブセットに分化し、サブセット間でどのような相互作用があり、それが経時的にどのように変化していくかを解析する。さらにその媒介シグナルやそれによって活性化される各細胞系譜における遺伝子ネットワークを解析することで多細胞連携の分子メカニズムを明らかにする。これらの知見をベースに、臨床検体の解析と疾患モデル動物の作成解析から、心臓疾患と縦隔疾患の病態理解と新規治療法の開発に道を拓く。

この研究によって何をどこまで明らかにしようとしているのか

●心臓発生と縦隔形成における細胞起源の多様性と共通性

マウス胎生期の心臓および縦隔形成領域の神経堤細胞と咽頭中胚葉、マクロファージを経時的に単離し、シングルセル遺伝子発現解析により各細胞系譜サブセットを同定する。空間的トランスクリプトーム解析と免疫染色によって系譜間サブセット間の空間的相互関係を推定し、鳥類胚を用いたキメラ移植実験などで検証する。

●心臓発生と縦隔形成における多細胞間連携

マルチオーム解析により細胞系譜サブセット間でのシグナル授受とその作用を含めた遺伝子制御ネットワークを推定し、鳥類キメラ移植胚やin vitro三次元再構築系を用いた実験によって検証する。

●発生過程の多細胞間連携による病態理解

① 先天性疾患

22q11.2欠失症候群と同様の表現型を呈するエンドセリン欠損マウス胚のシングルセル解析により、縦隔領域の異常の機序を明らかにする。特に、エンドセリンシグナル欠損が縦隔間葉による器官外環境の変化を介して器官形成にどのような影響を与えているかを解析する。疾患に直接関連する細胞系譜サブセットが推定された場合、系譜特異的遺伝子改変マウスを作製し、同様の発生異常が再現するかどうかを検討する。

② 石灰化病変

シングルセル解析データから神経堤細胞特異的あるいは骨格系細胞と共通の遺伝子制御ネットワークを抽出し、石灰化をきたす病態モデルでその変化を解析する。また、神経堤細胞・咽頭中胚葉・マクロファージをそれぞれ標識するマウスで病態モデルを作成し、変動する遺伝子を経時的に解析することで病態形成に関与する新規遺伝子の同定を試みる。さらに遺伝子改変マウス作成により、病態形成への関与を解析する。

③ 心筋梗塞後の組織修復

マウス心筋梗塞モデルを作製し、各種細胞系譜の表現型変化とその空間分布を調べる。これにより、心筋梗塞後の組織修復過程での多細胞連携の様相を解析するとともに、発生期の細胞系譜サブセットおよび相互作用と共通性があるか、違いをもたらす遺伝子制御系は何かを明らかにする。

④ 縦隔腫瘍

縦隔腫瘍手術によって摘出された組織検体を用いて単一細胞トランスクリプトーム解析、エクソンシーケンシングを行う。これを発生過程の細胞系譜マップに外挿することにより細胞起源や分化度などを推定するとともに、ドライバー変異の同定を試みる。遺伝子発現動態変化を支配する遺伝子やドライバー変異が同定された場合、細胞系譜特異的遺伝子変異導入によるモデルマウスの樹立を試みる。

【5年後のゴール】

- 胎生期縦隔間葉の「器官外環境」としての意義が、神経堤細胞と咽頭中胚葉、マクロファージを中心とする多細胞間連携機構を通して明らかになる。
- 心臓疾患と縦隔疾患の発症機転や病態の理解に共通の発生学的基盤がもたらされ、新規治療法の開発に道が拓かれる。