慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	動物モデルを用いた先天性心臓流出路異常の予防と新たな治療への基礎的研究
Sub Title	Basic research of prevention and intervention for congenital cardiac outflow tract defects using animal models
Author	山岸, 敬幸(Yamagishi, Hiroyuki) 土橋, 隆俊(Tsuchihashi, Takatoshi) 牧野, 伸司(Makino, Shinji) 内田, 敬子(Uchida, Keiko) 湯浅, 慎介(Yuasa, Shinsuke) 家田, 真樹(Ieda, Masaki)
Publisher	
Publication year	2016
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2015.)
JaLC DOI	
Abstract	マウスモデルを用いて, 心臓流出路発生における分泌因子Sema3Cの発現が転写因子Foxc1/2に活性化され, 二次心臓領域では転写因子Tbx1に直接的に, 心臓神経堤細胞ではTbx1の下流分泌因子Fgf8を介して間接的に抑制されることを明らかにした。このダイナミックな発現制御により, 心臓神経堤細胞の正常な遊走が誘導され, 流出路中隔が形成される。また, IP3R2型の発現部位をLacZで標識するマウスにより中枢から末梢にかけての肺動脈発生の可視化に成功し, このマウスモデルを利用して心臓流出路異常に伴う肺血管発生異常の機序を明らかにし, 肺動脈平滑筋に特異的な未知の発現制御配列と制御因子の候補を特定した。 Using the murine model, we identified that the expression of a neurovascular guiding molecule, Sema3C, is regulated positively by Foxc1 and Foxc2, and negatively by Tbx1 directly in the second heart field and through Fgf8 which is a downstream effector of Tbx1 in the neural crest, respectively, during development of the cardiac outflow tract. Such dynamic temporo-spatial regulation of Sema3c plays a role in the fine tuning of migration of neural crest cells into the outflow tract to give rise to the septum. We also succeeded in visualization of the development of pulmonary arteries from central to peripheral regions of the lungs using a transgenic mouse model in which the lacZ marker gene was inserted into the genome of IP3R type2. Using this mouse model, we also showed the mechanism of pulmonary vascular abnormality associated with cardiac outflow tract defects and candidates of unknown cis/trans elements that specifically regulate the development of pulmonary arterial smooth muscle.
Notes	研究種目：基盤研究(B)(一般) 研究期間：2013～2015 課題番号：25293238 研究分野：小児科学
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_25293238seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

平成 ２８ 年　 ６ 月　 ５ 日現在

機関番号：３２６１２
研究種目：基盤研究(B)（一般）
研究期間：2013～2015
課題番号：２５２９３２３８

研究課題名（和文）動物モデルを用いた先天性心臓流出路異常の予防と新たな治療への基礎的研究

研究課題名（英文）Basic research of prevention and intervention for congenital cardiac outflow tract defects using animal models

研究代表者
山岸　敬幸（Yamagishi, Hiroyuki）

慶應義塾大学・医学部・准教授

研究者番号：４０２５５５００

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　14,200,000円

研究成果の概要（和文）：マウスモデルを用いて、心臓流出路発生における分泌因子Sema3Cの発現が転写因子Foxc1/2に活性化され、二次心臓領域では転写因子Tbx1に直接的に、心臓神経堤細胞ではTbx1の下流分泌因子Fgf8を介して間接的に抑制されることを明らかにした。このダイナミックな発現制御により、心臓神経堤細胞の正常な遊走が誘導され、流出路中隔が形成される。また、IP3R2型の発現部位をLacZで標識するマウスにより中枢から末梢にかけての肺動脈発生の可視化に成功し、このマウスモデルを利用して心臓流出路異常に伴う肺血管発生異常の機序を明らかにし、肺動脈平滑筋に特異的な未知の発現制御配列と制御因子の候補を特定した。

研究成果の概要（英文）：Using the murine model, we identified that the expression of a neurovascular guiding molecule, Sema3C, is regulated positively by Foxc1 and Foxc2, and negatively by Tbx1 directly in the second heart field and through Fgf8 which is a downstream effector of Tbx1 in the neural crest, respectively, during development of the cardiac outflow tract. Such dynamic temporo-spatial regulation of Sema3c plays a role in the fine tuning of migration of neural crest cells into the outflow tract to give rise to the septum. We also succeeded in visualization of the development of pulmonary arteries from central to peripheral regions of the lungs using a transgenic mouse model in which the lacZ marker gene was inserted into the genome of IP3R type2. Using this mouse model, we also showed the mechanism of pulmonary vascular abnormality associated with cardiac outflow tract defects and candidates of unknown cis/trans elements that specifically regulate the development of pulmonary arterial smooth muscle.

研究分野：小児科学

キーワード：発生・分化　発現制御　遺伝子　循環器・高血圧　再生医学

１．研究開始当初の背景

先天性心疾患は、出生 1000 人につき 5～10 人におこる最も頻度の高い先天異常の一つで、心臓発生の異常に起因する。心臓流出路異常は、先天性心疾患の約 30%に認められ、新生児・乳児期に外科手術を必要とする症例が多い。心臓流出路異常に対する手術成績は改善されてきたが、人工物を使用する場合も多く、術後遠隔期に再手術が必要となる。成長後の心臓流出路再手術は、近年増加の一途をたどる成人先天性心疾患の領域において中心的な問題となっている。また、心臓流出路異常には高率に肺血管の発生・発達異常が合併する。肺動脈の低形成、肺動脈閉塞性病変の早期進行による肺高血圧など、肺血管の異常により致命的な症例、修復手術が不可能な症例、もしくは流出路自体の形態が外科的に修復されても予後不良な症例が少なくない。加えて現在、肺血管の発生・発達異常に対する有効な治療法はない。心臓流出路異常症例の QOL、予後を改善するためには、流出路および肺動脈の発生に関与する詳細な病態および分子機構の解明を再生医療に応用した、新たな治療法、再手術予防策の確立が望まれる。

最近 10 年間の心臓発生研究の大きな成果として、心臓流出路の発生には、側板中胚葉細胞、心臓神経堤細胞以外に、二次心臓領域細胞と呼ばれる心臓前駆細胞が関与することが判明した（Waldo et al. Development 2001; Kelly et al. Dev Cell 2001）。研究代表者らは、転写因子 Tbx1 が二次心臓領域に発現し、Fox 転写因子の制御を受け、線維芽細胞増殖因子 Fgf8/10 を介して、心臓流出路の発生に機能することなどを解明してきた（Yamagishi et al. Genes Dev 2003; Yamagishi & Srivastava Trends Mol Med 2003; Hu, Yamagishi et al. Development 2004; Maeda, Yamagishi et al. Dev Dyn 2006）。TBX1 は、心臓流出路異常を高率に合併する 22q11.2 微細欠失症候群の主要な疾患原因遺伝子である。研究代表者らが樹立した Tbx1 発現低下マウスでは、総動脈幹症、大動脈弓離断症などの 22q11.2 症候群と同様の心臓流出路異常が認められる。さらに最近、研究代表者らは心臓流出路異常をきたすヒトにおける新規疾患原因遺伝子として転写因子 GATA6 を同定し、二次心臓領域細胞と心臓神経堤細胞の発生を制御する細胞間シグナル伝達として、semaphorin-plexin シグナル系が重要であることを示した（Kodo K et al. PNAS 2009）。そして、このシグナル系に属する分泌因子である semaphorin3C（Sema3C）と、心臓神経堤細胞表面に発現する受容体 plexinA2（Plxna2）の発現が、転写因子 Gata6 に直接制御される分子機序を明らかにした。今回、研究代表者は、上述した心臓流出路発生異常に関与する Gata6、Tbx1 および未知の転写因子による Sema3C シグナルの制御機構を、心臓流出路異常に対する新たな再生医療のための基礎的研究に応用することに着想した。本研究は、研究代表者が最近約 10 年間継続し、国際的に発信してきた流出路発生の研究成果に基づいて実施する独創的な研究である。

２．研究の目的

全体的な目的として、心臓流出路異常の発症に鍵となる分子機構と形態形成の統合的解明、合併する肺動脈発生異常を解析するためのツールの確立とそれを利用した系統的解析により、心臓流出路異常の治療・再手術予防に新たな基礎的知見を加える。研究の背景でも説明した通り、小児の先天性心臓流出路異常の治療において、外科的技術の進歩により、救命率は格段に向上しているが、人工物を使用せざるを得ない場合も多く、成長後に再手術が必要となることもある。そこで、再生医療を応用した「成長する流出路の構築」が期待される。また、心臓流出路異常に合併する予後不良因子である「肺動脈発生異常」については、これまでにほとんど研究がなく、有効な治療法も少ない。

具体的な目的として、研究代表者らの独創的な基礎研究成果をもとに導きだした「心臓流出路の発生において、Tbx1 は二次心臓領域から遠位流出路で Sema3C の発現を抑制する一方、近位流出路および肺動脈円錐部では Tbx1 の抑制は働かず、Gata6 と他の転写因子の協調作用により Sema3C が発現し、遊走してきた心臓神経堤細胞を正確に目的地へ誘導し、流出路中隔への分化を促進する」という仮説をモデルマウスを用いて検証し、分子機序を解明する。また、研究代表者らが最近の研究で独自に解析した、発生過程における肺動脈平滑筋を特異的に標識する 2 型 IP3R-lacZ マウスを用いて、これまで解析が困難だった心臓流出路異常モデルマウスの肺動脈の発生・発達異常を解析する。これらの解析を通じて、心臓流出路異常において QOL および予後不良の因子となる肺動脈異常の病態形成を明らかにする。同時に、これまで解析困難なため進展していなかった肺動脈の発生様式と関与する分子機構についても解明することを目的とする。

３．研究の方法

(1) Sema3C の心臓流出路における発現制御機構の解明：研究代表者らの先行論文（Kodo et al. PNAS 2009, Yamagishi et al. Genes Dev 2003）と同様の方法を用いて、VISTA データベースより Sema3C のゲノム遺伝子制御領域に存在する、種を越えて保存された転写因子結合配列を検索し、その領域をサブクローニングする。転写活性について luciferase assay により、DNA 結合能について ChIP assay により、in vivo の発現制御について lacZ レポーターを用いたトランスジェニックマウスにより解析する。最有力候補として、Sema3C ゲノム上流（5 ’側）約-500bp 付近に、

種を越えて保存された Forkhead（Fox）転写因子群の結合配列が検出され、この結合配列を含む-492bp から-691bp の領域および上記 Fox 結合配列が Sema3C の心臓流出路における発現に必須であることが示唆される。以上より、心臓流出路における Sema3C の発現を制御する転写因子候補として Foxc1、Foxc2 が有力であり、これら Fox 転写因子に Sema3C の発現がどのように制御されているのかを培養細胞系の発現実験と、Foxc1 ないし Foxc2 ノックアウトマウスを用いた in vivo 解析により明らかにする。

一方、Sema3C の 3'UTR 領域には、研究代表者らの先行研究により種を越えて保存された T-box 転写因子結合配列が検出された。過去の報告では、Tbx1 の発現低下が Sema3C の発現に影響を与えることが示唆されたが（Theniau-Ruissy M, et al. Circ Res. 2008）、Tbx1 による心臓流出路における Sema3C の発現制御機構についての詳細な検討はない。この T-box 結合配列と研究代表者らが先に報告した GATA 結合配列を含む Sema3C ゲノムを用いた luciferase assay では、興味深いことに、Tbx1 が Gata6 による Sema3C の転写活性化を抑制し、また、ChIP assay では、Tbx1 が上記 T-box 結合配列に結合することが示唆された。上記 Sema3C 発現制御領域に lacZ レポーターを挿入したトランスジェニックマウスを作製し、in vivo 解析を加えて、上記 Tbx1 の Sema3c 抑制機構について検討する。

上記検討において、Tbx1 は二次心臓領域に発現するが、心臓神経堤には発現しない転写因子である（Garg, Yamagishi et al. Dev Biol 1999）ため、Tbx1 発現低下マウスの心臓神経堤細胞で Sema3C が過剰発現する分子メカニズムとして、Tbx1 の下流標的因子として二次心臓領域で発現し、分泌されて近傍に遊走してきた心臓神経堤細胞に作用するシグナル伝達因子が存在すると考えられる。研究代表者らは、過去に Tbx1 の下流で分泌因子 Fgf8 が機能することを報告しているが（Hu, Yamagishi, et al. Development 2004）、その分子経路の機能の詳細は未だ明らかではない。そこで、Tbx1 の下流で Fgf8 が発現し、二次心臓領域から心臓神経堤細胞へのシグナル伝達により Sema3C の心臓神経堤細胞での発現を抑制し、その分化を抑制しながら、移動、増殖を促進する、と仮説して検証する。胎生 10.5 日マウス胚より摘出して培養した心臓神経堤細胞を用いた実験系で Fgf8 を添加した場合、および抗 Fgf8 抗体（Fgf8ab）により Fgf8 を抑制した場合の Sema3C の発現を免疫組織化学法と定量的 PCR 法で解析する。

(2) Tbx1 発現低下マウスの心臓流出路異常に合併する肺動脈発生異常の解析：二次心臓領域細胞の発生異常により心臓流出路異常（総動脈幹症）を発症する Tbx1 発現低下マウスを疾患モデル動物として、心臓流出路異常に合併する肺動脈発生異常を明らかにする。Tbx1 発現低下マウスは研究代表者らによって樹立され（Hu, Yamagishi et al. Development 2004）、研究室で良好に継代中である。しかし、これまでに肺動脈の発生についてはまったく検討されていない。その大きな要因として、肺動脈の細胞を特異的に標識するマーカーがないことが挙げられる。先天性心臓流出路異常に合併する肺動脈の発生・発達異常は、遺伝的要因と流出路異常に伴う血流の異常により複合的に発症すると考えられるが、その機序はまったく不明であり、特異的な治療法もない。研究代表者らは、細胞内カルシウム調節に重要な役割を果たすイノシトール 3 リン酸受容体（IP3R）の心臓血管発生における機能について解析した。その結果、2 型 IP3R が肺発生において、気管支平滑筋細胞には発現がなく、肺動脈平滑筋細胞に特異的に発現するマーカーになる可能性が示唆された。そこで、2 型 IP3R-LacZ マウスを用いて肺動脈平滑筋を特異的に標識し、肺動脈の発生・構築について、各発生段階における全胚および組織切片の顕微鏡的観察により明らかにする。

さらに、この lacZ マウスと Tbx1 発現低下マウスを交配し、心臓流出路異常モデルマウスにおける肺動脈発生異常の表現型を解析する。Tbx1 発現低下が肺動脈発生に与える影響だけでなく、総動脈幹症による血行動態の変化に惹起される肺動脈の発生・発達の異常について、各発生段階における全胚および組織切片の顕微鏡的観察により解析する。

(3) 2 型 IP3R 肺動脈平滑筋特異的制御機構の同定：2 型 IP3R のゲノム制御領域を解析することにより、肺動脈平滑筋特異的調節領域を特定し、肺動脈平滑筋における 2 型 IP3R の発現制御機構を明らかにする。候補となる領域について、VISTA 解析により、2 型 IP3R のゲノム上流に種を越えた保存性の高い領域を特定した。そこでこれらの領域をそれぞれ 0.5kb、1.0kb、1.5kb 程度の大きさの断片に細分化し lacZ 遺伝子の上流に連結して、トランスジェニックマウスを作製して解析する。特異的発現制御領域が同定されたら、塩基配列から転写因子の結合配列を検索し、肺動脈平滑筋の発生に関与する新たな制御因子とその分子機構を明らかにする。

４．研究成果

上記研究目的・方法に基づき、VISTA データベースを利用して Sema3C のゲノム遺伝子制御領域に存在する、種を越えて保存された転写因子結合配列を検索した。この情報を元に、上述のように最有力候補として、Sema3C ゲノム上流（5'側）約-500bp 付近の、種を越えて保存された Forkhead（Fox）転写因子群の結合配列をクローニングした。この結合配列を含む-492bp から-691bp の領域のゲノム DNA を用いた解析で、luciferase assay および ChIP assay により、Foxc1 および Foxc2 が上記 Fox 結合配列に結合して転写を活性化することが確認された。さらに、Foxc1、Foxc2

のノックアウトマウスの心臓流出路において、Sema3C の発現低下が確認された。したがって、Sema3C の発現が Foxc1 および Foxc2 により直接活性化することが判明した（図 1）。

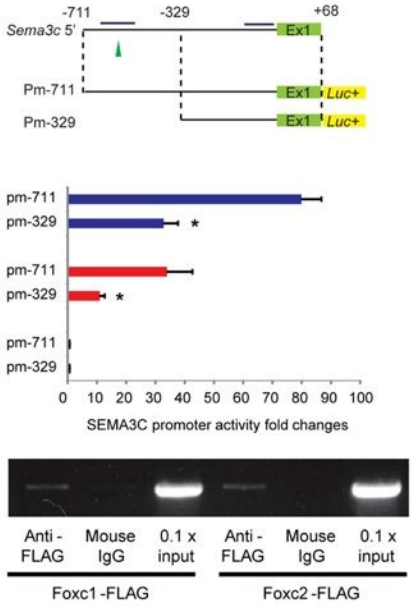

図1：Foxc1/c2が直接Sema3Cを活性化する

上記方法で述べた T-box 結合配列を含む Sema3C の 3’UTR 領域と、5’側発現制御領域を同時にレポーターに挿入したトランスジェニック（Sema3C-LacZ）マウスを作製した（図 2A-C）。Tbx1 の発現が正常のマウス（図 2D，Tbx1neo/+）に比して、Tbx1 の発現が低下したマウス（図 2D，Tbx1neo/neo）において、Sema3C-lacZ の発現が異所性に亢進することがわかった。すなわち、Tbx1 が Sema3C の発現を抑制的に制御することが明らかにされた。Tbx1 発現低下マウス（Tbx1neo/neo）において、Sema3C の発現を表す lacZ 遺伝子発現は、組織学的には二次心臓領域由来および心臓神経堤由来の両細胞群において異所性に亢進しているように観察された（図 2D）。

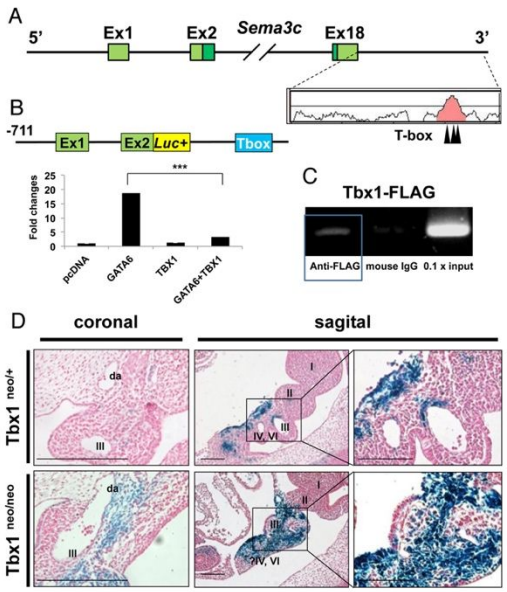

図2. Tbx1はSema3Cの発現を抑制性に制御する

培養細胞およびニワトリ胚実験により、Tbx1 neo/neo における Sema3C-LacZ の異常発現は、Tbx1 の下流の分泌性増殖因子 Fgf8 の発現低下を介していることを明らかにした。培養心臓神経堤細胞において、Fgf8 の添加により Sema3C の発現は抑制され、抗 Fgf8 抗体による Fgf8 の抑制により培養心臓神経堤細胞における Sema3C の発現は亢進した。また、ニワトリ胚を用いて、心臓大血管の発生に心臓神経堤細胞が関与する時期に、抗 Fgf8 抗体を含むビーズを咽頭弓領域に置いて観察したところ、心臓神経堤細胞の遊走障害によって発症すると考えられている心臓流出路・大血管異常が発症した。以上、心臓流出路発生において、まず Sema3C が Foxc1、Foxc2 に活性化されること、その後、Tbx1 が直接的に二次心臓領域の Sema3C の発現を、また間接的に Fgf8 を介して心臓神経堤の Sema3C の発現を抑制することにより、心臓神経堤細胞の遊走が正しい方向に導かれ、流出路中隔が形成される機序を明らかにした（論文投稿中・査読中）。この過程の障害により、総動脈幹症などの心臓流出路異常が発症する。

また、心臓流出路異常を呈する動物モデルにおいて、しばしば心臓流出路異常の致命的な合併症となる肺動脈の異常について検討した。IP3R2 型の発現部位を標識する LacZ マーカー遺伝子が導入された（IP3R2-LacZ）マウスでは、IP3R2-LacZ マーカーが肺動脈平滑筋に特異的に発現する。このマウスの胎生 10.5 日～18.5 日の IP3R2-LacZ マーカーの発現パターンを経時的に観察すると、発生初期には中枢肺動脈が標識され、発生が進むにつれて徐々に枝分かれする末梢肺動脈まで標識され、肺動脈の発生過程を可視化できることがわかった。

次に IP3R2-LacZ マウスを Tbx1 neo/neo マウスと交配して、このマウスにみられる心臓流出路異常における肺動脈発生の可視化を試みた結果、中枢から末梢に向かう枝分かれした肺動脈の発生・構築は、野生型と比較しても正常に見えたが、肺自体がやや小さく、透過性が低下し、肺動脈末梢の伸展が乏しかった。組織学的には肺胞壁形成細胞が多く、肺胞腔が小さいことが明らかになった。そして、根本的な原因として、リンパ系の異常が示唆された。以上より、心臓流出路異常に伴う肺血管発生異常の一部の機序が明らかになった（図 3：論文作成中）。

さらに IP3R2 型 ゲノムについて、バイオインフォマティックスにより保存性の高い領域を検出し、in vitro および in vivo 実験により、肺動脈平滑筋に特異的な未知の発現制御配列と制御因子の候補を特定した。

本研究の特色は、先天性心疾患の中でもいまだ完全治癒が困難で、成人先天性心疾患領域でも問題となる心臓流出路異常に焦点を絞り、2 つの転写因子 Tbx1 と Gata6 が関与する分子機構に着目した点である。TBX1 と GATA6 は、ヒトおよびマウスで異常が証明さ

れており、心臓流出路異常の表現型が一致しているため、得られる知見を、ヒト疾患の発症分子機序および新たな再生医療に直接応用することができる可能性がある。また、本研究の意義は、心臓流出路発生の分子機序と形態形成の統合的理解に、新たなインパクトを与えることである。心臓流出路異常の術後遠隔期の合併症・再手術を予防し、長期予後を改善するための治療法として、自己組織から誘導した細胞により心臓流出路を再構築するなど、再生医療を応用した新たな戦略が期待される。

また、心臓流出路異常の重要な予後因子である肺血管の異常について、モデル動物を用いて初めて系統的に解析される意義を持つ（図 3）。肺動脈の発生様式と分子機序を研究するための有用なツールが得られ、今後この領域の発展に大きく寄与すると考えられる。

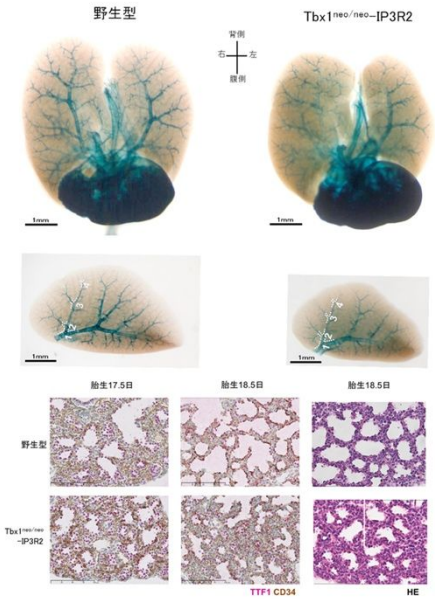

図3　IP3R2-lacZマウスによる肺血管発生の可視化・解析

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 10 件）

1.Fujita M, Sakabe M, Ioka T, Watanabe Y, Kinugasa-Katayama Y, Tsuchihashi T, Utset MF, Yamagishi H, Nakagawa O, Pharyngeal arch artery defects and lethal malformations of the aortic arch and its branches in mice deficient for the Hrt1/Hey1 transcription factor, Mech. Dev. 2016;139:65-73（査読有）
doi: 10.1016/j.mod.2015.11.002.

2.Yasuhara J, Yamagishi H. Pulmonary arterial hypertension associated with tetralogy of Fallot. Int Heart J 2015;56:S17-21（査読有）
doi: 10.1536/ihj.14-351.

3.Shiraishi I, Nishimura K, Sakaguchi H, Abe T, Kitano M, Kurosaki K, Kato H, Sagawa K, Yamagishi H, Nakanishi T, Ikeda Y, Morisaki T, Hoashi T, Kagisaki K, Ichikawa H. Acute Rupture of Chordae Tendineae of the Mitral Valve in Infants: A Nationwide Survey in Japan Exploring a New Syndrome. Circulation 2014;130:1053-61（査読有）
doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.008592.

4.Fukushima H, Mitsuhashi T, Oto T, Sano Y, Fukushima-Kusano K, Goto K, Okazaki M, Date H, Kojima Y, Yamagishi H, Takahashi T. Successful lung transplantation in a case with diffuse pulmonary arteriovenous malformations and hereditary hemorrhagic telangiectasia. Am J Transplant. 2013;13:3278-3281（査読有）
doi: 10.1111/ajt.12499.

5.Muraoka N, Yamakawa H, Miyamoto K, Sadahiro T, Umei T, Isomi M, Nakashima H, Akiyama M, Wada R, Inagawa K, Nishiyama T, Kaneda R, Fukuda T, Takeda S, Tohyama S, Hashimoto H, Kawamura Y, Goshima N, Aeba R, Yamagishi H, Fukuda K, Ieda M. MiR-133 promotes cardiac reprogramming by directly repressing Snai1 and silencing fibroblast signatures. EMBO J. 2014;33:1565-1581.（査読有）
doi: 10.15252/embj.201387605.

6.Arita Y, Nakaoka Y, Matsunaga T, Kidoya H, Yamamizu K, Arima Y, Kataoka-Hashimoto T, Ikeoka K, Yasui T, Masaki T, Yamamoto K, Higuchi K, Park JS, Shirai M, Nishiyama K, Yamagishi H, Otsu K, Kurihara H, Minami T, Yamauchi-Takihara K, Koh GY, Mochizuki N, Takakura N, Sakata Y, Yamashita JK, KomuroI.Myocardium-derived angiopoietin-1 is essential for coronary vein formation in the developing heart. Nat Commun. 2014;5:4552（査読有）
doi: 10.1038/ncomms5552.

7.Wada R, Muraoka N, Inagawa K, Yamakawa H, Miyamoto K, Sadahiro T, Umei T, Kaneda R, Suzuki T, Kamiya K, Tohyama S, Yuasa S, Kokaji K, Aeba R, Yozu R, Yamagishi H, Kitamura T, Fukuda K, Ieda M. Induction of human cardiomyocyte-like cells from fibroblasts by defined factors. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013;110(31):12667-72.
doi: 10.1073/pnas.1304053110.（査読有）

8.Gatayama R, Ueno K, Nakamura H, Yanagi S, Ueda H, Yamagishi H, Yasui S. Nemaline myopathy with dilated cardiomyopathy in childhood.Pediatrics.2013;131(6):e1986-1990.（査読有）
doi: 10.1542/peds.2012-1139.

9.Takagaki Y, Yamagishi H, Matsuoka R. Factors involved in signal transduction during vertebrate myogenesis. Int Rev Cell Mol Biol. 2012;296:187-272.（査読有）
doi: 10.1016/B978-0-12-394307-1.00004-7.

10.Kojima K, Maeda J, Mikami S, Yamagishi H, Ide H, Hattori S, Takahashi T, Awazu M. Eosinophilic cystitis presented as a manifestation of hypereosinophilic

syndrome: a case report and review of the literature. Nephron Extra 2013;3:30-35. doi: 10.1159/000346713.（査読有）

〔学会発表〕（計３件）
1.山岸敬幸　第 33 回　中国四国地区小児循環器懇話会（招待特別講演）「先天性心疾患の診療をもっと面白くする臨床心臓発生学のすゝめ」2015 年９月５日　岡山国際交流センター（岡山県岡山市）
2.山岸敬幸　第 10 回　成人先天性心疾患セミナー（招待講演）「診療の State of Art：先天性心疾患と遺伝」2014 年６月１日　聖路加国際病院（東京都中央区）
3.山岸敬幸　第 49 回　日本周産期新生児医学会学術集会（招待教育講演）「先天性心疾患を理解するための心臓発生学」2013 年７月 16 日　ヒルトンホテル東京ベイ（千葉県浦安市）

〔図書〕（計７件）
1.Shibata A, Uchida K, Maeda J, Yamagishi H. Pulmonary Arterial Hypertension in Patients with Heterotaxy/Polysplenia Syndrome. In: Nakanishi T, Markwald RR, Baldwin HS, Keller BB, Srivastava D, Yamagishi H. (eds) Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart Disease -From Gene Function and Cellular Interaction to Morphology- Springer,2016, p.81-82
DOI 10.1007/978-4-431-54628-3_9
2.Yamagishi H, Kodo K, Maeda J, Uchida K, Tsuchihashi T, Shibata A, Ishizaki R, Yamagishi C, Srivastava D. A History and Interaction of Outflow Progenitor Cells Implicated in “Takao Syndrome”. In: Nakanishi T, Markwald RR, Baldwin HS, Keller BB, Srivastava D, Yamagishi H. (eds) Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart Disease -From Gene Function and Cellular Interaction to Morphology- Springer,2016, p.201-209
DOI 10.1007/978-4-431-54628-3_26
3.Tsuchihashi T, Ishizaki R, Maeda J, Shibata A, Uchida K, Srivastava D, Yamagishi H. Modification of Cardiac Phenotype in Tbx1 Hypomorphic Mice. In: Nakanishi T, Markwald RR, Baldwin HS, Keller BB, Srivastava D, Yamagishi H. (eds) Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart Disease -From Gene Function and Cellular Interaction to Morphology- Springer, 2016, p.215-217
DOI 10.1007/978-4-431-54628-3_28
4.Uchida K, Nakazawa M, Yamagishi C, Mikoshiba K, Yamagishi H. Inositol Trisphosphate Receptors in the Vascular Development. In: Nakanishi T, Markwald RR, Baldwin HS, Keller BB, Srivastava D, Yamagishi H. (eds) Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart Disease -From Gene Function and Cellular Interaction to Morphology- Springer, 2016, p.237-239
DOI 10.1007/978-4-431-54628-3_32
5.Yamagishi H. Human Genetics of Truncus Arteriosus. In: Rickert-Sperling S, Kelly RG, Driscoll DJ (eds) Congenital Heart Diseases: The Broken Heart -Clinical Features, Human Genetics and Molecular Pathways- Springer, 2016, p.559-568
6.Yamagishi H, Yamagishi C. Embryology. In: Saremi F (ed) Cardiac CT and MR for Adult Congenital Heart Disease. Springer, 2014, p.7-21
7.Yamagishi H. Lessons from Heart Development to Regeneration. In: Fukuda K, Yuasa S (eds) Cardiac Regeneration using ES and iPS Cells. Science Publishers, 2013, p.59-83

〔産業財産権〕
○出願状況（計０件）

○取得状況（計０件）

〔その他〕
ホームページ
http://pedia.med.keio.ac.jp

６．研究組織
(1)研究代表者
山岸　敬幸（YAMAGISHI, HIROYUKI）
慶應義塾大学・医学部・准教授
研究者番号：40255500

(2)研究分担者
土橋　隆俊（TSUCHIHASHI, TAKATOSHI）
慶應義塾大学・医学部・共同研究員
研究者番号：10286528

牧野　伸司（MAKINO, SHINJI）
慶應義塾大学・医学部・准教授
研究者番号：20306707

内田　敬子（UCHIDA, KEIKO）
慶應義塾大学・保健管理センター・講師
研究者番号：50286522

湯浅　慎介（YUASA, SHINSUKE）
慶應義塾大学・医学部・准教授
研究者番号：90398628

(3)連携研究者
家田　真樹（IEDA, MASAKI）
慶應義塾大学・医学部・講師
研究者番号：70296557