

Title	心臓発生の新たな転写制御因子の解析
Sub Title	Dissecting novel transcriptional networks of heart development
Author	橋本, 寿之 (Hashimoto, Hisayuki)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2022
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2021.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>近年、心臓発身に重要な複数の転写因子を強制発現させることにより線維芽細胞を心筋様細胞に分化転換できることが報告された。我々は逆転の発想で、今度は分化転換の研究成果を参考にし、心筋分化の新たな転写制御機構を解明する研究を計画した。</p> <p>我々の先行研究において心筋分化転換を強く誘導した転写因子ZNF281に着目し、ZNF281が心臓の発生においても重要な役割を担っていると推察した。</p> <p>今年度は最初にCRISPR/Cas9システムを用いてZNF281欠損マウスES細胞を樹立した。このES細胞は心筋分化能を失っており、ZNF281は心筋分化に必要な因子であることが判明した。次に同様の手法でZNF281欠損マウスを作製したところ、ホモ欠損マウスは一匹も出生が確認できず、胎生致死であることが示唆された。そのため、我々はZNF281 floxed マウスラインを樹立し、心臓中胚葉、心筋前駆細胞、心筋細胞特異的にCreリコンビナーゼを発現するマウスと交配し、各心臓発生段階特異的にZNF281を欠損 (KO) したマウスを作成した。その結果、心筋前駆細胞特異的ZNF281KOマウスは個体の大きさが野生型と比較して小さく、心臓に何らかの異常がある事が示唆された。また、心臓中胚葉特異的ZNF281KOマウスは出生が確認できず、胎生致死であることが示唆された。今後はこのマウスの表現型を解析し、ZNF281が心臓形成必須の因子である事を明らかにすることを目標とする。</p> <p>During direct cardiac reprogramming, cardiogenic transcription factors (TFs) cooperatively reshape the epigenomic landscape by activating cardiac enhancers, which describe a common epigenetic signature between in vitro cardiac reprogramming and in vivo heart development. We thus hypothesized that direct reprogramming could be a useful tool to study novel transcriptional regulators in heart development. To test this hypothesis, we focused on ZNF281/Zfp281 (Zinc finger protein 281), a pluripotency regulator which showed up as an unexpected strong cardiac reprogramming inducer from our previous unbiased screen.</p> <p>We first generated Zfp281KO mouse ES cell lines by CRISPR/Cas9 system. These ES cells failed to differentiate to cardiomyocytes, suggesting an indispensable function for cardiac differentiation. Consistently, Zfp281 KO mice which we generated by CRISPR/Cas9 system were also embryonic lethal. Therefore, to study the impact of Zfp281 after cardiac lineage commitment, we established a ZNF281 floxed mouse line. We then generated multiple conditional Zfp281KO (cKO) mouse lines by crossing with different stage-specific Cre driver lines. Surprisingly, we found that mesodermal Zfp281cKO mice were embryonic lethal. In contrast, cardiac progenitor Zfp281cKO mice survived to adulthood, but showed reduced body size.</p> <p>In conclusion, by using multiple genetic mouse models, we discovered that cardiac reprogramming inducer Zfp281 plays a pivotal role in heart development. Although GWAS studies have identified various disease-causing mutations, the etiology for the majority of congenital heart disease remains largely unknown and there are still such missing pieces to be uncovered in the interdependent cardiogenic transcriptional network. Our study demonstrates and highlights the impact and possibility of direct reprogramming as a novel approach to study cardiovascular biology.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=202100003-20210257

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.

研究代表者	所属	医学部中央診療施設等	職名	助教(有期・医学部)	補助額	500 (特B)千円
	氏名	橋本 寿之	氏名 (英語)	Hisayuki Hashimoto		
研究課題 (日本語)						
心臓発生の新たな転写制御因子の解析						
研究課題 (英訳)						
Dissecting novel transcriptional networks of heart development						
1. 研究成果実績の概要						
<p>近年、心臓発身に重要な複数の転写因子を強制発現させることにより線維芽細胞を心筋様細胞に分化転換できることが報告された。我々は逆転の発想で、今度は分化転換の研究成果を参考にして心筋分化の新たな転写制御機構を解明する研究を計画した。我々の先行研究において心筋分化転換を強く誘導した転写因子 ZNF281 に着目し、ZNF281 が心臓の発生においても重要な役割を担っていると推察した。</p> <p>今年度は最初に CRISPR/Cas 9システムを用いて ZNF281 欠損マウス ES 細胞を樹立した。この ES 細胞は心筋分化能を失っており、ZNF281 は心筋分化に必要な因子であることが判明した。次に同様の手法で ZNF281 欠損マウスを作製したところ、ホモ欠損マウスは一匹も出生が確認できず、胎生致死であることが示唆された。そのため、我々は ZNF281 floxed マウスラインを樹立し、心臓中胚葉、心筋前駆細胞、心筋細胞特異的に Cre リコンビナーゼを発現するマウスと交配し、各心臓発生段階特異的に ZNF281 を欠損(KO)したマウスを作成した。その結果、心筋前駆細胞特異的 ZNF281KO マウスは個体の大きさが野生型と比較して小さく、心臓に何らかの異常がある事が示唆された。また、心臓中胚葉特異的 ZNF281KO マウスは出生が確認できず、胎生致死であることが示唆された。今後はこのマウスの表現型を解析し、ZNF281 が心臓形成必須の因子であることを明らかにすることを目標とする。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>During direct cardiac reprogramming, cardiogenic transcription factors (TFs) cooperatively reshape the epigenomic landscape by activating cardiac enhancers, which describe a common epigenetic signature between in vitro cardiac reprogramming and in vivo heart development. We thus hypothesized that direct reprogramming could be a useful tool to study novel transcriptional regulators in heart development. To test this hypothesis, we focused on ZNF281/Zfp281(Zinc finger protein 281), a pluripotency regulator which showed up as an unexpected strong cardiac reprogramming inducer from our previous unbiased screen.</p> <p>We first generated Zfp281KO mouse ES cell lines by CRISPR/Cas9 system. These ES cells failed to differentiate to cardiomyocytes, suggesting an indispensable function for cardiac differentiation. Consistently, Zfp281 KO mice which we generated by CRISPR/Cas9 system were also embryonic lethal. Therefore, to study the impact of Zfp281 after cardiac lineage commitment, we established a ZNF281 floxed mouse line. We then generated multiple conditional Zfp281KO (cKO) mouse lines by crossing with different stage-specific Cre driver lines. Surprisingly, we found that mesodermal Zfp281cKO mice were embryonic lethal. In contrast, cardiac progenitor Zfp281cKO mice survived to adulthood, but showed reduced body size.</p> <p>In conclusion, by using multiple genetic mouse models, we discovered that cardiac reprogramming inducer Zfp281 plays a pivotal role in heart development. Although GWAS studies have identified various disease-causing mutations, the etiology for the majority of congenital heart disease remains largely unknown and there are still such missing pieces to be uncovered in the interdependent cardiogenic transcriptional network. Our study demonstrates and highlights the impact and possibility of direct reprogramming as a novel approach to study cardiovascular biology.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			