

Title	Tbx1 Is Regulated by Forkhead Proteins in the Secondary Heart Field
Sub Title	第2次心臓形成領域におけるTbx1の発現制御機構
Author	前田, 潤
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.3 (2007. 9) ,p.13-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070901-0013

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.

Tbx1 Is Regulated by Forkhead Proteins in the Secondary Heart Field

(第2次心臓形成領域におけるTbx1の発現制御機構)

前 田 潤

内容の要旨

心臓流出路の発生には、心原基を形成する側板中胚葉（第1次心臓形成領域）由来の細胞と、神経管背側に起源する神経堤細胞が関与することが知られている。また近年、流出路心筋を形成する細胞として、心臓に隣接する嚢側中胚葉細胞（第2次心臓形成領域）が新たに発見された。T-ボックス型転写因子をコードする*Tbx1*は、第2次心臓形成領域に発現し、ヒト22q11.2欠失症候群に高率に合併する心臓流出路異常の主要な責任遺伝子と考えられている。本研究は、第2次心臓形成領域における*Tbx1*の発現調節機構と、心臓流出路形成における役割を解明することを目的とした。

本研究では、マウス*Tbx1*上流転写調節領域のDNA配列をクローニングし、ヒト*TBX1*上流DNA配列との比較により、種を超えて保存された2つのフォークヘッド型転写因子（Fox）結合配列（Fox#1およびFox#2）を特定した。*lacZ*レポーター遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを用いた検討で、2つのFox結合配列とそれぞれに隣接する領域を含む約400塩基対のDNA配列が、*Tbx1*の第2次心臓形成領域における発現に必須であることが示された。またゲルシフト解析により、Fox群の中で第2次心臓形成領域に発現するFoxa2、Foxc1、Foxc2およびFoxh1のうち、Foxh1を除く前3者が2つのFox結合配列に結合することが示された。培養細胞を用いたルシフェラーゼレポーター解析では、Foxa2、Foxc1およびFoxc2が、Fox#1およびFox#2を介して*Tbx1*の転写を量依存的に活性化することが確認された。

次に、Fox#1を含む約1キロ塩基対のDNA配列の制御下にCre組み換え酵素を発現するトランスジェニックマウスを作製した。このマウスを*ROSA26*レポーターマウスと交配し、*Tbx1*を発現した第2次心臓形成領域由来細胞をβ-ガラクトシダーゼ染色により青色標識し、標識された細胞の移動・分化を観察した。第2次心臓形成領域に起源する*Tbx1*発現細胞群は、胎生初期に心臓流出路を形成し、胎生中期に右心室原基全体まで分布を拡大するが、出生時には右室流出路、肺動脈弁、主肺動脈に限局することから、これらの部位の形成に関与することが明らかになった。

以上の結果から、第2次心臓形成領域における*Tbx1*の発現は、2つのFox結合配列を介して複数のFoxに量依存的に制御され、右室流出路から主肺動脈および肺動脈弁の形成に重要な役割を果たすことが示唆された。*TBX1*のハプロ不全を有する22q11.2欠失症候群では、*TBX1*の発現が関与する右室流出路から主肺動脈の形成不全の程度により、フォロー四徴症や総動脈幹症などの心臓流出路異常が、一連のスペクトラムとして発症するメカニズムが推測された。

論文審査の要旨

転写因子*Tbx1*は、心臓流出路奇形を高率に合併する22q11.2欠失症候群の原因であり、胎生期の心臓流出路原基である第2次心臓形成領域に発現する。ヒト*TBX1*変異や*Tbx1*ノックアウトマウスでは、同症候群と同様の心奇形が認められる。本研究では、トランスジェニックマウスを用いて、*Tbx1*上流制御領域に存在する2つのフォークヘッド型転写因子Foxの結合部位が、*Tbx1*の心臓流出路発現を規定していること、*Tbx1*発現細胞が、同じく流出路形成に関与する神経堤細胞と相補的な発現を呈し、右心室、主肺動脈の形成に関与することを明らかにした。

審査ではまず、*Tbx1*発現細胞と神経堤細胞が、それぞれ流出路形成に関与する時期を踏まえて、心臓流出路奇形においてどちらの関与が大きいかと考えられるか、と質問がなされた。まず*Tbx1*発現細胞が心臓流出路心筋層を形成し、のちに、神経堤細胞が流出路中隔形成に関与するが、両者には相互作用があり、どちらの障害も同様の表現型を示す可能性がある、と回答された。また、Brugada症候群など自律神経異常が疑われる病態における*Tbx1*の関与について質問され、今後の検討課題として重要と考える、と回答された。次に、心臓流出路肥厚における*Tbx1*の関与について質問され、*Tbx1*過剰発現マウスでは、肥厚は認められないものの、流出路の延長が観察されたことから、その関与が示唆される、と回答された。ついで、心臓流出路での*Tbx1*発現調節における、2つのFox結合部位の役割の差異について質問された。一連のトランスジェニックマウス発現領域解析の結果から、上流のFox結合部位が主たる役割を担っているが、その活性は弱く、下流のFox結合部位の付加的作用が必須と考えられる、と回答された。右心室に広範囲に分布する*Tbx1*発現細胞が、胎生後期には流出路、肺動脈に限局する理由について質問され、細胞死により消滅し、平滑筋によって置換される可能性がある、と回答された。また、*Tbx1*変異のヒトにおける表現型についても質問され、変異が同定された症例は極少数であり、心臓流出路奇形には、*Tbx1*のみならず、Foxをはじめとする上流制御因子の異常が複合的に関与しているのではないかと回答された。最後に、心臓流出路奇形の出生前治療の可能性について質問がなされ、直ちに*Tbx1*やFoxの遺伝子治療への応用はできないが、相互作用を有する環境因子が同定されれば、出生前にそれらを調節することで発症予防につながる可能性がある、と回答された。

以上、本研究にはさらに検討されるべき課題はあるものの、心臓流出路形成に関与する転写因子ネットワークの一部を明らかにしたこと、第2次心臓形成領域由来の細胞が、右室流出路、主肺動脈を形成することを明らかにした点で、有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 小児科学 高橋 孝雄
再生医学 福田 恵一 内科学 小川 聡
外科学 四津 良平
学術確認担当者: 池田 康夫
審査委員長: 福田 恵一

試問日: 平成19年3月27日