

「生体恒常性維持・変容・破綻機構のネットワーク的理解に基づく
最適医療実現のための技術創出」
平成 25 年度採択研究代表者

H25 年度
実績報告

望月 直樹

(独)国立循環器病研究センター研究所細胞生物学部
部長

心臓・骨・腎臓ネットワーク機構とこれを支える血管恒常性メカニズムの解明

§ 1. 研究実施体制

(1)「望月」グループ

- ① 研究代表者:望月 直樹 ((独)国立循環器病研究センター研究所細胞生物学部、部長)
- ② 研究項目: Heart-Derived osteogenesis and cardiogenesis inducing factor (HDOCI) による心臓再生・骨調節と血管維持機構の研究
 - ・HDOCI の発現解析
 - ・ゼブラフィッシュを用いた心臓-骨内分泌の解析
 - ・マウスにおける HDOCI による心臓-骨ネットワークの解明

(2)「向山」グループ

- ① 主たる共同研究者:向山 政志 (京都大学大学院医学研究科、准教授)
- ② 研究項目:マウス HDOCI による骨・腎臓調節機構の解明と病態での機能の解明
 - ・マウス HDOCI 遺伝子発現解析
 - ・マウスにおける HDOCI 依存性の心臓-骨-腎臓連関の検討

(3)「寺井」グループ

- ① 主たる共同研究者:寺井 健太 (東京大学分子細胞生物学研究所、特任助教)
- ② 研究項目:ゼブラフィッシュでの HDOCI の骨形成と心臓再生
 - ・HDOCI の骨への内分泌作用の検討
 - ・骨芽細胞における HDOCI による Yap1 の調節の検討

§ 2. 研究実施の概要

心臓が内分泌器官として Na 利尿ペプチド(ANP)以外の分泌因子を多臓器に作用させるという報告は無い。本研究で解明する新たな心臓から分泌される骨・心臓調節因子(Heart-derived osteogenesis and cardiogenesis inducing factor: HDOCI)が骨・心筋細胞自身、あるいは腎臓に作用することを明らかにすることで、心臓が内分泌恒常性維持の主要臓器として臓器間ネットワークを支える臓器であることを証明する。さらに、血管がこの内分泌機構を維持する器官としてはたらくメカニズムを明らかにすることで、循環器の臓器円環における機能を突き止めることを研究目的として 2013 年 10 月から研究を開始した。

—研究成果の概要—

種間を越えて心臓特異的に発現する HDOCI

HDOCI が種間を越えて保存されている心臓由来の分泌因子であることを確かめることが最優先事項と考えてまず、ゼブラフィッシュとマウスでの HDOCI の発現を調べた。ゼブラフィッシュでは遺伝子発現を *in situ hybridization* で検討したところ初期発生時に心臓特異的に同分子が発現することが判った。また、マウスの初期発生時期における HDOCI 発現確認のために、特異的抗体を作製した。この抗体を用いて免疫染色法で発現部位を詳細に調べたところ、胎生 8-9 日目まで心臓特異的に発現を確認した。また胎生 15 日目でも心室筋、心房筋ともに強い発現が確認できた。以上より、発生期には種を越えて HDOCI が心臓で発現することが確認できた。

ゼブラフィッシュ HDOCI による心筋細胞増殖促進作用

我々は HDOCI をゼブラフィッシュの分裂心筋細胞特異的に発現する分子として同定したために、HDOCI が心筋細胞増殖効果があると想定した。このために、HDOCI をゼブラフィッシュの心筋細胞特異的に発現するトランスジェニックフィッシュを作製して、心筋細胞に対する増殖効果を検討した。HDOCI トランスジェニックは、3 日目胚、7 日目胚で有意な心筋細胞数の増加を認めた。

ゼブラフィッシュ HDOCI の骨形成に及ぼす効果

HDOCI が心臓特異的に発現していることから、内分泌を介して骨形成に及ぼす影響を検討した。HDOCI をノックダウンすることにより、骨形成に障害がおきるかを調べた。HDOCI 発現抑制胚では、5 日目胚で椎体形成での軟骨形成が抑制されており、それに引き続く骨形成も抑制されていることが明らかになった。

以上の結果以外にも、HDOCI の生体恒常性維持機構の解明のために、HDOCI のノックアウトマウスと HDOCI のトランスジェニックマウスを作製することが不可欠と考えて、これらのマウスの作製に着手した。ノックアウトマウスは、LacZ のノックインマウスにして、発現部位を確認可能にした。またトランスジェニックマウスは、臓器組織特異的に HDOCI を発現できるように Cre loxP システムを用いた。前者は、キメラマウスの作製まで完了し、後者は既に Cre マウスとの交配を開始した。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

論文詳細情報(国際)

1. Kuwabara, Takashige; Mori, Kiyoshi; Kasahara, Masato; Yokoi, Hideki; Imamaki, Hirotaka; Ishii, Akira; Koga, Kenichi; Sugawara, Akira; Yasuno, Shinji; Ueshima, Kenji; Morikawa, Takashi; Konishi, Yoshio; Imanishi, Masahito; Nishiyama, Akira; Nakao, Kazuwa; Mukoyama, Masashi. Predictive significance of kidney myeloid-related protein 8 expression in patients with obesity- or type 2 diabetes-associated kidney diseases. PLoS ONE 2014, 9(2), e88942. (DOI: 10.1371/journal.pone.0088942)