

「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」

H26 年度
実績報告書

平成 25 年度採択研究代表者

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

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
 - ・HDOC1 ノックアウトマウスとトランスジェニックマウスの解析
 - ・HDOC1 ノックアウトゼブラフィッシュとトランスジェニックゼブラフィッシュの解析
 - ・血中ならびに組織での HDOC1 ラジイムノアッセイ系の確立のための実験

(2)「横井」グループ

- ① 主たる共同研究者:横井 秀基 (京都大学大学院医学研究科、助教)
- ② 研究項目
 - ・HDOC1 の ELISA の確立と解析
 - ・HDOC1 が筋芽細胞、筋肉細胞に及ぼす影響の検討
 - ・マウスにおける HDOC1 の骨・筋肉—腎臓連関の解析

(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
 - ・Zebrafish を用いて、HDOC1 による骨化(骨分化・基質化)に与える影響の検討。
 - ・血管内皮における Hippo pathway の機能解析。

(4)「向山」グループ

① 主たる共同研究者:向山 政志 (熊本大学大学院生命科学研究部、教授)

② 研究項目

- ・マウスにおける HDOCI の心-骨-腎臓連関の解析
- ・HDOCI が腎臓ポドサイトに及ぼす影響の解析

§ 2. 研究実施の概要

Heart-derived osteogenesis and cardiogenesis inducer (HDOCI)が、ゼブラフィッシュ心筋細胞から分泌されるペプチドであることから(図1)、ホルモンとして生体恒常性の調節に関わることを検証した。ゼブラフィッシュでの HDOCI のホルモンとしての機能を検討した。マウスでも同様に骨・心臓に作用するかを明らかにするためにトランスジェニックマウスとのノックアウトマウスを作製した。

1. HDOCI を心臓で強制発現する Tg(my17:HDOCI) と Transcription activator-like effector nuclease (TALEN) をによる HDOCI ノックアウト(KO)ゼブラフィッシュ HDOCI^{ncv101} を作製した。

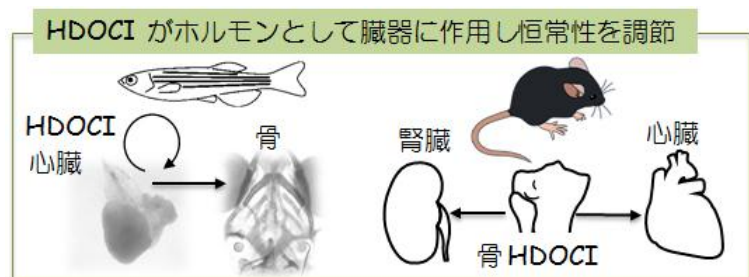
2. HDOCI の全身性 Tg(CMV-HDOCI-IRES-GFP)^{1ncvc} と全身で破壊した KO マウス HDOCI^{tm1a(KOMP)ncvc} を作製した。心臓・骨の形態異常を検討した。

3. HDOCI の腎臓保護効果については片側腎臓の尿管結紮モデル(UUO)での腎盂と皮質への影響ならびに線維化と糸球体の数の変化で検討した。

- ゼブラフィッシュの頭部の骨(parasphenoid)の長さは、Tg では延長したのに対して KO で短縮していた。また、分裂心筋細胞数は Tg では増加していた。
- HDOCI KO マウスは LacZ をノックインして HDOCI 遺伝子の発現部位を確認できるように工夫した。LacZ の発現を胎生 10-15 日目で観察したところ骨に顕著に発現を認めたが心臓での発現は見られなかった。したがって、発生期にはゼブラフィッシュと異なり骨での生成・分泌が重要であることがわかった。HDOCI KO マウスは胎生致死とはならず、生後の発育にも著変を認めなかった。体長の変化は、なく骨密度の野生型との相違もなかったことから、発生における HDOCI の骨への作用は少ないと考えられた。諸臓器(心臓・肝臓・腎臓)の重量を測定したところ、心臓のみ重量が低下していた。マウスの心室壁厚が増大していた(特に右室で顕著)。また組織学的に分裂マーカーを調べたところ野生型に比して分裂心筋細胞数が増加していることがわかった。以上より、マウスでも心筋細胞増殖効果があると予想された。

- HDOCI Tg マウスの UUO では野生型でみられる皮質の線維化の抑制傾向がみられた。

—まとめ—以上の結果から HDOCI の種差による発現部位の相違はあるが、心臓への作用は共通していることがわかった。



代表的な論文

Wakayama Y, Fukuhara S, Ando K, Matsuda M, Mochizuki N. Cdc42 mediates BMP-induced sprouting angiogenesis through Fmnl3-driven assembly of endothelial filopodia in zebrafish. *Dev. Cell* 32:109-22, 2015

Fukui H, Terai K, Nakajima H, Chiba A, Fukuhara S, Mochizuki N. S1P-Yap1 signaling regulates endoderm formation required for cardiac precursor cell migration in zebrafish. *Dev. Cell* 31: 128-136, 2014