

# 胎仔心臓におけるレチノイン酸の 転写制御因子に関する研究

(課題番号09671199)

平成9年度～平成11年度科学研究費補助金(基盤研究(C)(2)一般)  
研究成果報告書



平成12年3月

研究代表者 中澤 誠  
(東京女子医科大学医学部教授)



## 目次

1. はしがき .....	3
2. 研究課題・課題番号・研究組織・研究経費・研究発表 .....	5
3. 研究成果	
心臓を中心としたレチノイン酸 .....	11
Nakajima Y, Morishima M, Nakazawa M, Momma K, Nakamura H. Distribution of fibronectin, type I collagen, type IV collagen, and laminin in the cardiac jelly of the mouse embryonic heart with retinoic acid-induced complete transposition of the great arteries. <i>Anat Rec</i> 249: 478-485 (1997) .....	29
Kajio F, Nakazawa M. Vascular effects of endothelin-1 in stage 21 chick embryos. <i>Heart Vessels</i> 12: 300-305 (1997) .....	37
Yasui H, Nakazawa M, Morishima M, Ando M, Takao A, Aikawa E. Cardiac outflow tract septation process in the mouse model of transposition of the great arteries. <i>Teratology</i> 55: 353-9363 (1997) .....	43
鈴木淳子、富田幸子. 小児科疾患におけるPCR. <i>逡信医学</i> 49 (3) : 137-142 (1997) .....	54
鈴木淳子、富田幸子、中澤 誠、小松敬子. 川崎病冠動脈障害の遠隔期内膜肥厚の増殖因子の関連について. <i>Prog Med</i> 17 (7) : 1744-1748 (1997) .....	60
Morishima M, Yasui H, Nakazawa M, Ando M, Ishibashi M, Takao A. Situs variation and cardiovascular anomalies in the transgenic mouse insertional mutation, inv. <i>Teratology</i> 57: 302-309 (1998) .....	65
Yasui H, Morishima M, Nakazawa M, Aikawa E. Anomalous looping, atrioventricular cushion dysplasia, and unilateral ventricular hypoplasia in the mouse embryos with right isomerism induced by retinoic acid. <i>Anat Rec</i> 250: 210-219 (1998) .....	73
Momma K, Toyono M, Miyagawa-Tomita S. Accelerated maturation of fetal ductus arteriosus by Maternally administered Vitamin A in rats. <i>Ped Res</i> 43(5): 629-632 (1998) .....	83
鈴木淳子、富田幸子、中澤 誠、小松敬子. 川崎病遠隔期の冠動脈障害リモデリングの免疫組織化学的検討. 第2報. <i>Prog Med</i> 18 (7) : 58-63 (1998) .....	87
Waldo K, Miyagawa-Tomita S, Kumiski D, Kirby ML. Cardiac neural crest cells provide new insight into septation of the cardiac outflow tract: Aortic sac to ventricular septal closure. <i>Dev Biol</i> 196:129-144 (1998) .....	93
富田幸子. 心臓流出路における神経堤細胞の役割. <i>動物の循環器</i> 31 (1) : 1-17 (1998) .....	109
Yasui H, Morishima M, Nakazawa M, Ando M, Aikawa E. Developmental	

spectrum of cardiac outflow tract anomalies encompassing transposition of the great arteries and dextroposition of the aorta: pathogenic effect of extrinsic retinoic acid in the mouse embryo. <i>Anat Rec</i> 254: 253-260 (1999) .....	126
Saga Y, Miyagawa-Tomita S, Takagi A, Kitajima S, Miyazaki J, Inoue T. MesP1 is expressed in the heart precursor cells and required for the formation of a single heart tube. <i>Development</i> 126: 3437-3447 (1999) .....	134
Kitamura K, Miura H, Miyagawa-Tomita S, Yanazawa M, Katoh-Fukui Y, Suzuki R, Ohuchi H, Suehiro A, Motegi Y, Nakahara Y, Kondo S, Yokoyama M. Mouse Pitx2 deficiency leads to anomalies of the ventral body wall, heart, extra- and periorcular mesoderm and right pulmonary isomerism. <i>Development</i> 126: 5749-5758 (1999) .....	145
鈴木淳子、富田幸子、朴 仁三、小松敬子、由谷親夫、中澤 誠。 川崎病冠動脈障害の血管リモデリング：回復期から遠隔期までの免疫組織学的検討。 <i>Prog Med</i> 19 (7) : 58-63 (1999) .....	155
鈴木淳子、富田幸子、朴 仁三、中澤 誠。川崎病冠動脈障害 遠隔期の血管リモデリング。 <i>Heart View</i> 3(7) : 80-86 (1999) .....	161
中澤 誠、富田幸子。先天性心疾患-心臓大血管奇形の原因の分子生物学的検討を中心に-。呼吸と循環 48 (2) : 75-179 (2000) .....	168
中澤 誠、富田幸子。心臓の形成と発達。臨床発達心臓病学、改訂2版。高尾篤良、門間和夫、中澤 誠、中西敏雄編、pp.8-18。東京、中外医学社、東京 (1997) .....	173
富田幸子、中澤 誠。レチノイン酸受容体と発達心。臨床発達心臓病学、改訂2版。高尾篤良、門間和夫、中澤 誠、中西敏雄編、pp.20-22。東京、中外医学社 (1997) .....	184
富田幸子、相羽 純。刺激伝導系の発達。臨床発達心臓病学、改訂2版。高尾篤良、門間和夫、中澤 誠、中西敏雄編、pp.57-58。中外医学社、東京 (1997) .....	187
Nakazawa M, Kajio F. Hormonal systems regulating the developing cardiovascular system. In <i>Development of Cardiovascular System</i> . WW Burggren, BB Keller, eds. pp.88-98. Cambridge Univ Press, London (1997) .....	189
中澤 誠、富田幸子。心奇形。症候・病態の分子メカニズム。松澤佑次編、pp.94-95。東京、中山書店 (1998) .....	200
宮川-富田幸子。心臓の形態発生とその異常。最新 獣医診療ハンドブック。長谷川篤彦編。pp.29-33、東京、インターズー (1999) .....	202

## 1. はしがき

最近、多くの研究者が心臓発生に興味をもつようになり、ようやく心臓発生の研究に進歩の兆しが見えてきた。この数年間で心臓の形態形成に関与するシグナル分子は数えきれないほど多く発見され、これらは心臓のかたちができるよりも以前に発現して心臓の形態形成に影響を与えていることが明らかとなってきた。しかし、シグナル分子間の相互作用、カスケード、具体的な心臓での機能など、その因子が発見されると、同時にまた多くの疑問・混乱を生じることも事実である。そこで、ここに心臓のかたちが形成されるまでの概念図を示した（図1）。この図はあくまでも心臓の形態形成を考える上で必要と思われる概念図で、この図の中にすでにわかっているシグナル分子を書き込んでいくと、今何が問題なのか、今何がわからないのかなど不明な点が明らかになってくるので、研究がすすめば将来的にもっと良い合理的な考え方ができるかもしれない。体軸（前後、背腹、左右）が心臓のループ（右側に屈曲）に影響を与え、同時に心臓前駆細胞が出現すると心筋細胞と心内皮細胞が認識されるようになりこれらが心臓のチューブ（心筒）を形成する。心チューブはループするよりも前に各部域、つまり心房、心室、流出路が決定されている。流出路には外胚葉由来の心臓神経堤が入り込む一方で、心臓は次第に全体に成熟する。この間に心臓に特徴的な心筋のシグナル分子が発現する。心臓の形態形成を理解するにはまだ多くの研究を必要とするが、やがては心臓の形態形成に働くシグナル分子の全体像にせまることができると思われる。この視点にたてば将来的には、先天性心臓病を予防したりあるいは後天性心疾患の治療にも貢献できるだろう。

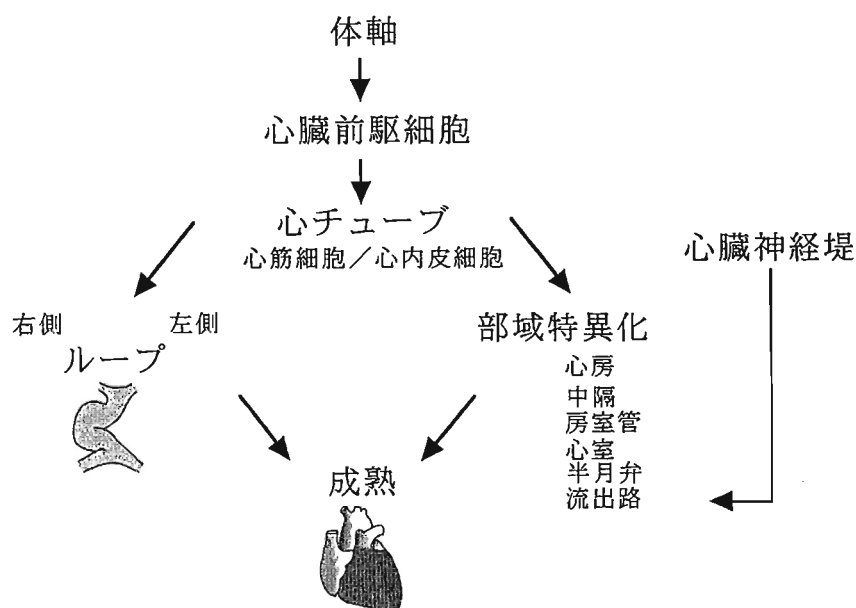


図1 心臓形態形成の概念図

## 2. 研究課題・研究番号・研究組織・研究経費・研究発表

研究課題 胎仔心臓におけるレチノイン酸の転写制御因子に関する研究

課題番号 09671199

研究組織 研究代表者：中澤 誠（東京女子医科大学・医学部・教授）  
研究分担者：富田幸子（東京女子医科大学・医学部・助手）  
研究分担者：森島正恵（東京女子医科大学・医学部・助手）

研究経費	平成 9 年度	1, 6 0 0 千円
	平成 1 0 年度	7 0 0 千円
	平成 1 1 年度	9 0 0 千円
	計	3, 2 0 0 千円

### 研究発表

#### (1) 学会誌

1. Nakajima Y, Morishima M, Nakazawa M, Momma K, Nakamura H. Distribution of fibronectin, type I collagen, type IV collagen, and laminin in the cardiac jelly of the mouse embryonic heart with retinoic acid-induced complete transposition of the great arteries. Anat Rec 249: 478-485 (1997)
2. Kajio F, Nakazawa M. Vascular effects of endothelin-1 in stage 21 chick embryos. Heart Vessels 12: 300-305 (1997)
3. Yasui H, Nakazawa M, Morishima M, Ando M, Takao A, Aikawa E. Cardiac outflow tract septation process in the mouse model of transposition of the great arteries. Teratology 55: 353-9363 (1997)
4. 鈴木淳子、富田幸子. 小児科疾患におけるPCR. 通信医学 49 (3) : 137-142 (1997)
5. 鈴木淳子、富田幸子、中澤 誠、小松敬子. 川崎病冠動脈障害の遠隔期内膜肥厚の増殖因子の関連について. Prog Med 17 (7) : 1744-1748 (1997)
6. Morishima M, Yasui H, Nakazawa M, Ando M, Ishibashi M, Takao A. Situs variation and cardiovascular anomalies in the transgenic mouse insertional mutation, inv. Teratology 57: 302-309 (1998)

7. Yasui H, Morishima M, Nakazawa M, Aikawa E. Anomalous looping, atrioventricular cushion dysplasia, and unilateral ventricular hypoplasia in the mouse embryos with right isomerism induced by retinoic acid. *Anat Rec* 250: 210-219 (1998)
8. Momma K, Toyono M, Miyagawa-Tomita S. Accelerated maturation of fetal ductus arteriosus by Maternally administered Vitamin A in rats. *Ped Res* 43(5): 629-632 (1998)
9. 鈴木淳子、富田幸子、中澤 誠、小松敬子. 川崎病遠隔期の冠動脈障害リモデリングの免疫組織化学的検討。第2報。 *Prog Med* 18 (7) : 58-63 (1998)
10. Waldo K, Miyagawa-Tomita S, Kumiski D, Kirby ML. Cardiac neural crest cells provide new insight into septation of the cardiac outflow tract: Aortic sac to ventricular septal closure. *Dev Biol* 196:129-144 (1998)
11. 富田幸子. 心臓流出路における神経堤細胞の役割. *動物の循環器* 31 (1) : 1-17 (1998)
12. Yasui H, Morishima M, Nakazawa M, Ando M, Aikawa E. Developmental spectrum of cardiac outflow tract anomalies encompassing transposition of the great arteries and dextroposition of the aorta: pathogenic effect of extrinsic retinoic acid in the mouse embryo. *Anat Rec* 254: 253-260 (1999)
13. Saga Y, Miyagawa-Tomita S, Takagi A, Kitajima S, Miyazaki J, Inoue T. *MesP1* is expressed in the heart precursor cells and required for the formation of a single heart tube. *Development* 126: 3437-3447 (1999)
14. Kitamura K, Miura H, Miyagawa-Tomita S, Yanazawa M, Katoh-Fukui Y, Suzuki R, Ohuchi H, Suehiro A, Motegi Y, Nakahara Y, Kondo S, Yokoyama M. Mouse *Pitx2* deficiency leads to anomalies of the ventral body wall, heart, extra- and pericardial mesoderm and right pulmonary isomerism. *Development* 126: 5749-5758 (1999)
15. 鈴木淳子、富田幸子、朴 仁三、小松敬子、由谷親夫、中澤 誠. 川崎病冠動脈障害の血管リモデリング：回復期から遠隔期までの免疫組織学的検討。 *Prog Med* 19 (7) : 58-63 (1999)
16. 鈴木淳子、富田幸子、朴 仁三、中澤 誠. 川崎病冠動脈障害遠隔期の血管リモデリング. *Heart View* 3(7) : 80-86 (1999)
17. 中澤 誠、富田幸子. 先天性心疾患-心臓大血管奇形の原因の分子生物学的検討

を中心に-。呼吸と循環 48 (2) : 75-179 (2000)

18. Suzuki A, Miyagawa-Tomita S, Nakazawa M, Sakomura Y, Horie T, Komatsu K. Immunohistochemistry in remodeling of the coronary artery at late phase with Kawasaki disease. Circulation (in print)

(2) 招待講演

1. 富田幸子. 心大血管系発生における遺伝子発現-レチノイン酸受容体とTGF- $\beta$  遺伝子発現調節-. シンポジウム2. 分子・蛋白から見た個体の発生異常. 第37回日本先天異常学会大会、S-IIC、京都 (1997年7月15日)
2. 中澤 誠. 心機能の基礎と臨床. 第16長野小児循環器談話会、長野県立こども病院、長野 (1998年9月19日)
3. 中澤 誠. 小児循環器学：現況と将来. 第2回福島県小児循環器研究会、福島医大小児科、福島 (1998年9月26日)
4. 中澤 誠. 周生期乳児早期先天性心疾患の診断と治療-最近の進歩-. 第43回日本未熟児新生児学会、東京 (1998年11月15日)
5. 中澤 誠. 小児循環器学の現況と将来. 第37回埼玉小児循環器談話会、埼玉 (1999年5月29日)
6. 中澤 誠. 先天性心疾患の成因-臨床と基礎-. 第187回日本小児科学会宮城地方会、宮城 (1999年6月12日)
7. Nakazawa M, Miyagawa-Tomita S. Cardiovascular phenotypes induced by retinoic acid differ depending upon embryonic days when the drug is given. 2nd Joint International Symposium of Congenital Anomalies. Korea (1999, Oct. 1)
8. 中澤 誠、富田幸子. 心大血管の正常発生. シンポジウム62. 心大血管系形成の分子機構研究のシンポジウム. 第72回日本生化学学会大会、横浜. (1999年10月9日)
9. Miyagawa-Tomita S. Developmental cardiology. Cardiogenesis, Neural crest, Cardiac anomalies in Pitx2 knockout mice. Dr. H. Joseph Yost, Huntsman Cancer Institute, Center for Children, Dept of Oncological Sciences, Univ of Utah, Salt Lake City, UT, USA (1999, Nov. 11)

(3) 口頭発表

1. 富田幸子、森島正恵、中澤 誠. レチノイン酸受容体発現と発生早期のマウス胎仔心の領域特異性. 第61回日本循環器学会 Jap Cir J, 61, suppl 1, 0523, 東京 (1997年4月)
2. 門間和夫、富田幸子. 動脈管の胎生期発達とレチノイン酸. 第61回日本循環器学会 Jap Cir J, 61, suppl 1, 0524, 東京 (1997年4月)
3. 富田幸子、森島正恵、中澤 誠. マウス胎仔心の各領域におけるレチノイン酸への応答. 第30回日本発生生物学会、p096、筑波 (1997年5月)
4. Miyagawa-Tomita S, Morishima M, Nakazawa M (1997, June) Alterations in TGF beta and RAR expression in developing mouse hearts exposed to retinoic acid. Weinstein Cardiovasc Dev Conf, IV-15, Philadelphia, USA
5. 富田幸子、森島正恵、中澤 誠. マウス胎仔心各領域におけるレチノイン酸への応答. 第33回日本小児循環器学会、p235、京都 (1997年7月)
6. 鈴木淳子、富田幸子、中澤 誠、小松敬子. 川崎病冠動脈障害の遠隔期内膜肥厚における増殖因子の関与. 第33回日本小児循環器学会、p70、京都 (1997年7月)
7. 鈴木淳子、富田幸子、中澤 誠. Expression of TGF beta genes is regionally specific in mouse embryonic hearts. 第14回国際心臓病研究会、旭川 (1997年7月)
8. Suzuki A, Miyagawa-Tomita S, Makoto N, and Komatsu K (1997, Nov) Immunohistochemical study of progressing intimal thickening of the coronary artery at late phase with Kawasaki disease. Circulation 96(8), supp, 2436. The 70th Scientific Sessions of AHA, Florida, USA.
9. Miyagawa-Tomita S Alterations in RAR and TGF-beta expression in developing mouse hearts exposed to retinoic acid. no109, Scientific Conference on the genome program: Applications to cardiovascular biology. San Diego, USA (1998, March)
10. 富田幸子、森島正恵、中澤 誠. ウズラ-ニワトリキメラの流出路における心臓神経堤細胞分布. 第61回日本循環器学会、p727, 東京 (1998年3月)
11. 鈴木淳子、宮川-富田幸子、中澤 誠. 川崎病遠隔期冠動脈のリモデリングの免疫組織学的検討. 第61回日本循環器学会、p0570, 東京 (1998年3月)



- 1 2 . Miyagawa-Tomita S, Komatsu K, Tomizawa Y, Nakazawa M, Waldo K, and Kirby ML. Distribution of cardiac neural crest cells, fibronectin, and tenascin in the outflow tract of chick embryos at incubation day 5. Weinstein Cardiovasc Dev Conf, E23, Nashville, TN (1998, May)
- 1 3 . 富田幸子、中澤 誠、門間和夫(1998, 7月) ウズラ-ニワトリ胚の心流出における心臓神経堤細胞。 第34回日本小児循環器学会、S-212、東京。
- 1 4 . 鈴木淳子、富田幸子、中澤 誠(1998, 7月) 川崎病遠隔期冠動脈障害のリモデリングの免疫組織学的検討。第34回日本小児循環器学会、O-073、東京。
- 1 5 . Miyagawa-Tomita S, Tomizawa Y, Waldo K, Kirby ML. Distribution of cardiac neural crest, fibronectin and tenascin in the outflow tract of chick-quail embryos at incubation day 5. Circulation 98(17), I-833-834, Supple, The 71st Scientific Sessions of AHA, Dallas, TX, USA (1998, Nov.)
- 1 6 . Nakazawa M, Yasui H, Morishima M. Dissociation of function of endothelin-1 on cardiac function from that on morphogenesis of the heart during early development. Circulation 98(17), I-1359, Supple, The 71st Scientific Sessions of AHA, Dallas, TX, USA (1998, Nov.)
- 1 7 . Miyagawa-Tomita S, Morishima M and Nakazawa M. Alterations in RAR and TGF-beta expression in developing mouse hearts exposed to retinoic acid. P-13, 5th Int sympo on etiology and morphogenesis of congenital heart disease, Tokyo, Japan (1998, Dec.)
- 1 8 . Sato M, Miygawa-Tomita S, Komatsu K, Tomita H, Sugimura H, and Nakazawa M. Programmed cell death in the cardiac outflow tract with persistent truncus arteriosus in the chick embryo. Weinstein Cardiovasc Dev Conf, p45, Tucson, AZ (1999, May)
- 1 9 . 富田幸子、小松敬子、中澤 誠. ニワトリ 5 日胚の心臓流出路における心臓神経堤細胞の分布とフィブロネクチン、テネイシン発現. 第32回日本発生生物学会学会、p552、神戸 (1999年5月)
- 2 0 . 富田幸子、小松敬子、中澤 誠. ウズラ-ニワトリキメラ胚の心臓流入路に侵入するウズラ細胞. 第35回日本小児循環器学学会、140、福岡 (1999年7月)
- 2 1 . 佐藤まりこ、富田幸子、富田 斉、中澤 誠. 心臓神経堤細胞切除により作成した総動脈幹遺残心の流出路におけるアポトーシス. 第35回日本小児循環器学学会、251、福岡 (1999年7月)

- 2 2. 鈴木淳子、富田幸子、中澤 誠、西川俊郎. 川崎病後の冠動脈リモデリングの免疫組織科学的検討：回復期から遠隔期まで. 第35回日本小児循環器学会、179、福岡（1999年7月）
- 2 3. Miyagawa-Tomita S, Komatsu K, Tomizawa Y, Tomita H, Sato M, and Nakazawa M. Programmed cell death in the cardiac outflow tract with persistent truncus arteriosus in the chick embryo. *Circulation* 100(18), supp, I-130-131. The 72nd Scientific Sessions of AHA, Atlanta, GA (1999, Nov.)

#### （4）出版物

1. 中澤 誠、富田幸子. 心臓の形成と発達. 臨床発達心臓病学、改訂2版. 高尾篤良、門間和夫、中澤 誠、中西敏雄編、pp.8-18. 東京、中外医学社（1997）
2. 富田幸子、中澤 誠. レチノイン酸受容体と発達心. 臨床発達心臓病学、改訂2版. 高尾篤良、門間和夫、中澤 誠、中西敏雄編、pp.20-22. 東京、中外医学社（1997）
3. 富田幸子、相羽 純. 刺激伝導系の発達. 臨床発達心臓病学、改訂2版. 高尾篤良、門間和夫、中澤 誠、中西敏雄編、pp.57-58. 東京、中外医学社（1997）
4. Nakazawa M, Kajio F. Hormonal systems regulating the developing cardiovascular system. In *Development of Cardiovascular System*. WW Burggren, BB Keller, eds. pp.88-98. Cambridge Univ Press, London (1997)
5. 中澤 誠、富田幸子. 心奇形. 症候・病態の分子メカニズム. 松澤佑次編、pp.94-95. 東京、中山書店（1998）
6. 宮川-富田幸子. 心臓の形態発生とその異常. 最新 獣医診療ハンドブック. 長谷川篤彦編. pp29-33、東京、インターズー（1999）

### 3. 研究成果

#### 心臓を中心としたレチノイン酸

##### 【背景】

ビタミンAの生物学的機能の多くは、全トランス型レチノイン酸（ATRA）とその立体異性体である9-シスレチノイン酸（9-シスRA）による。これらは脂溶性の小さな物質であるが、ほとんどの細胞に影響を及ぼし細胞分化誘導、細胞増殖抑制、制癌作用、成長促進作用など強力な生理活性を示す。特に発生胚に対しては催奇形因子のひとつとしてあげられ種々の動物胎仔（ハムスター、ラット、マウス、ニワトリ、カエル、ゼブラフィッシュ）で確認されている。ヒトではにきびの治療薬（13-シスレチノイン酸）として使われた結果、奇形胎児が数多く産まれたことが報告され現在でも妊婦のレチノイン酸過剰摂取は注意が呼びかけられている（Lammerら、1985；Rothmanら、1995）。一方、レチノイン酸の欠乏は深刻で、胚全体の発育が悪くなり幅広い器官で異常がみられ、心臓では心筋の発育遅延、総動脈幹遺残、大動脈弓異常が認められる（Wilsonら、1949）。心臓は古くからレチノイン酸の標的臓器の1つであると考えられており、動物胎仔、ヒト胎児へのATRA、13-シスレチノイン酸の過剰により大血管転換、心内膜床欠損など様々な心臓形態異常を引き起こす（Yasuiら、1995；Miuraら、1990）。また発生初期の心臓ループにもレチノイン酸は影響を与え、最近では左右軸に関与する因子にレチノイン酸が働く（Tsukuiら、1999；Chazaudら、1999）ことが示され、レチノイン酸シグナルと左右軸因子との新たな研究の展開が始まっている。

##### 【核内受容体の構造と機能】

レチノイン酸は核内受容体スーパーファミリーに属する非ステロイド受容体に結合して作用する。その受容体はレチノイン酸受容体（RAR）とレチノイドX受容体（RXR）の2種類あり、それぞれ $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ のサブタイプがあり、異なる遺伝子座から作られている（図1）。さらにプロモーターや選択的スプライシングにより機能が異なるアイソフォームが存在する。RARタンパクの基本構造を図2に示した。この構造は核内受容体タンパクの基本構造で、タンパクN末端よりAからFまでの領域に分類される。RARにはATRAと9-シスRAが結合し、RXRには主に9-シスRAが結合するが、リガンド識別領域（リガンド結合ドメイン）はE領域にある。C領域にあるDNA結合ドメイン（Znフィンガー型）が標的エンハンサー配列（レチノイン酸応答配列）に結合する。レチノイン酸応答配列はAGGTCA配列を基本とした2個のモチーフの繰り返し配列からなる。受容体機能として最も重要な転写活性化能はA/B領域（AF-1）とE領域（AF-2）にある。RARとRXRはホモ2量体（RAR/RAR、RXR/RXR）またはヘテロ2量体（RXR/RAR）を形成して働くが、この2量体形成能はE領域にある。RXRはビタミンAの情報伝達をおこなう他に、VDR（ビタミンD受容体）、TR（甲状腺ホルモン受容体）、PPAR $\gamma$ （ペルオキシソーム増殖活性化受容体 $\gamma$ , peroxisome proliferator-activated receptor）とヘテロ2量体をつくりそれぞれの共役受容体としても働く。リガンドと結合した受容体は転写因子として機能し、転写の活性や抑制をおこす。血管平滑筋の実験で、初期転

写因子であるc-fos、c-jun、egr-1はレチノイン酸では変化しないことから、レチノイン酸シグナルはこれらの下流にあることが示唆されている（Mianoら、1996）。

最近、コアクチベーター、コリプレッサーなどの転写共役因子群が、レチノイン酸受容体2量体と会合または解離して転写活性化機能に関与することがわかってきた（柳沢ら、1998）。コアクチベーターとして働くものにSRC-1（steroid receptor coactivator-1）、TIF2、pCIP（p300/CBP、co-integrator-associated protein）などが同定され、コリプレッサーとしてはNCoR、SMRTが同定されている（図3）。これら共役因子自身および受容体との複合体が、ヒストンタンパク質のアセチル化活性（コアクチベーター）、脱アセチル化活性（コリプレッサー）をもつことが示され、積極的にクロマチン構造を変化させて転写制御をおこなう可能性が示唆されている。

#### 【マウス心臓におけるレチノイン酸受容体】

マウスの心臓では胎仔から成獣にいたるまでRAR $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ およびRXR $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ の遺伝子発現が認められ、胎齢11～12日（心臓はすでに右にループし房室管と流出路のクッション組織が成長している時期）の心臓全体でRAR $\beta$ 、 $\gamma$ のピークが見られる。レチノイン酸受容体抗体による検討では心筋全体にレチノイン酸受容体は発現しているが、クッション組織には発現は認められない。ATRA処理した胎齢12.5日の胎仔心臓を心房、心室、流出路の3分割し、レチノイン酸受容体およびTGF- $\beta$ 発現の変化を調べた（図4）。それぞれレチノイン酸応答が異なり、流出路においてはRAR $\gamma$ とTGF $\beta$ 3の増加とRAR $\beta$ の減少が認められた。RAR $\gamma$ とTGF $\beta$ 3はどの臓器でも最も発現が少ない因子で、心臓流出路でこれらの因子が変化することは興味深い。レチノイン酸応答配列にLacZをつけた遺伝子を導入したトランスジェニックマウスでは、心臓流出路にLacZの発現が認められる（Mossら、1998）。流出路ではレチノイン酸合成酵素の1つであるRALDH2（retinaldehydeoxidizing dehydrogenase）の発現も同じように認められるため内因性レチノイン酸がここで働いていることが示唆されている。

#### 【レチノイン酸受容体ノックアウトマウス】

RARのシングルノックアウトでは心臓に異常はおきないが、シングルノックアウトしたマウスを掛け合わせてRAR/RAR、RXR $\alpha$ /RARなどの組み合わせで、またRXR $\alpha$ のシングルノックアウトしたマウス胎仔に心血管奇形が認められた（図5）。異常は総動脈幹遺残、大動脈肺動脈中隔欠損、大血管転換、心内膜床欠損、大血管系異常、そして心室壁の菲薄化で、変異遺伝子型と心血管系異常を比べるとRAR $\beta$ /RAR $\gamma$ の組み合わせ以外は心血管系異常が認められる（図6）。RXR $\alpha^{-/-}$ マウス胎仔では、胎生11.5日までは普通に成長するが、胎生14.5日前後で心室筋の緻密層（compact zone）の発育が悪く菲薄化して心不全で死亡する。RXR $\alpha$ が心室心筋で必須遺伝子なのかどうか疑問がもたれ、1998年に2つのラボでそれぞれ異なった方法（キメラ法とcre/lox法）によって心筋におけるRXR $\alpha$ 機能の検討が行われた（Tranら、1998；Chenら、1998）。心筋壁は正常という同じ結果がでたことから、心臓におけるRXR $\alpha$ 機能は非細胞自律性（non-cell-autonomus）であり、RXR $\alpha$ は心筋の成熟には必要だが、心筋増殖（心筋



細胞系譜)には直接関わっていないことが判明した。最近、PPAR $\gamma$ のノックアウトマウス(胎齢12.5で致死)で胎盤機能低下と心室壁の菲薄化が認められている(Barakら、1999)。前述したようにRXRはPPAR $\gamma$ とヘテロ2量体を形成することから、RAR $\alpha$ 欠損で見られる表現型は基本的にPPAR $\gamma$ 機能異常による胎盤機能低下が原因と考えられているが、PPAR $\gamma$ は脂肪細胞分化とも関連することや、コアクチベーターやコレプレッサーの共役因子群との関係など不明な点が多く結論はでていない。

【参考文献】

1. Barak Y, Nelson MC, Ong ES, Jones YZ, Ruiz-Lozano P, et al. 1999. PPAR $\gamma$  is required for placental, cardiac, and adipose tissue development. *Mol Cell* 4 :585-95
2. Chambon P. 1996. A decade of molecular biology of retinoic acid receptors. *FASEB J* 10 :940-54
3. Chazaud C, Chambon P, P. C. 1999. Retinoic acid is required in the mouse embryo for left-right asymmetry determination and heart morphogenesis. *Development* 126 :2589-96
4. Chen JD, Evans RM. 1995. A transcriptional co-repressor that interacts with nuclear hormone receptors. *Nature* 1995 :454-7
5. Chen J, Kubalak SW, Chien KR. 1998. Ventricular muscle-restricted targeting of the RXR $\alpha$  gene reveals a non-cell-autonomous requirement in cardiac chamber morphogenesis. *Development* 125 :1943-9
6. Dyson E, Sucov HM, Kubalak SW, Schmid-Schönbein GW, DeLano FA, et al. 1995. Atrial-like phenotype is associated with embryonic ventricular failure in retinoid X receptor  $\alpha$  -/- mice. *Proc. Natl.Acad.Sci.USA* 92 :7386-90
7. Gruber PJ, Kubalak SW, Pexieder T, Sucove HM, Evans RM, et al. 1996. RXR $\alpha$  deficiency confers genetic susceptibility for aortic sac, conotruncal, atrioventricular cushion, and ventricular muscle defects in mice. *J.Clin. Invest* 98 :1332-43
8. Kastner P, Grondona JM, Mark M, Gansmuller A, LeMeur M, et al. 1994. Genetic analysis of RXR $\alpha$  developmental function: convergence of RXR and RAR signaling pathways in heart and eye morphogenesis. *Cell* 78 :987-1003
9. Kastner P, Mark M, Ghyselinck N, Krezel W, V. D, et al. 1997. Genetic evidence that the retinoid signal is transduced by heterodimeric RXR/RAR functional units during mouse development. *Development* 124 :313-26
10. Kurokawa R, Söderström M, Hörlein A, Halachmi S, Brown M, et al. 1995. Polarity-specific activities of retinoic acid receptors determined by a co-repressor. *Nature* 377 :451-4
11. Lammer EJ, Chen DT, Hoar RM, Agnish ND, Benke PJ, et al. 1985.

Retinoic acid embryopathy. *N Engl J Med* 313 :837-41

12. Lee RY, Luo J, Evans RM, Giguere V, Sucov HM. 1997. Compartment-selective sensitivity of cardiovascular morphogenesis to combinations of retinoic acid receptor gene mutations. *Circ.Res.* 80 :757-64

13. Luo J, Sucov HM, Bader J, Evans RM, Giguere V. 1996. Compound mutants for retinoic acid receptor (RAR) $\beta$  and RAR $\alpha$ 1 reveal developmental functions for multiple RAR $\beta$  isoforms. *Mech Dev* 55 :33-44

14. Mendelsohn C, Lohnes C, Décimo D, Lufkin T, LeMeur M, et al. 1994. Function of the retinoic acid receptors (RARs) during development (II) Multiple abnormalities at various stages of organogenesis in RAR double mutants. *Development* 120 :2749-71

15. Miano JM, Topouzis S, Majesky MW, Olson EN. 1996. Retinoid receptor expression and all-trans retinoic acid-mediated growth inhibition in vascular smooth muscle cells. *Circulation* 93 :1886

16. Miura S, Miyagawa S, Morishima M, Ando M, Takao A. 1990. Retinoic acid-induced viscerotaxial heterotaxy syndrome in rat fetus. In *Developmental cardiology: Morphogenesis and function*, ed. Clark EB, Takao A, pp. 467-84. New York: Futura

17. Moss JB, Xavier-Neto J, Shapiro MD, Nayeem SM, McCaffery P, et al. 1998. Dynamic patterns of retinoic acid synthesis and response in the developing mammalian heart. *Dev Biol* 199 :55-71

18. Rothman KJ, Moore LL, Singer MR, Nguyn UDT, Mannino S, et al. 1995. Teratogenicity of high vitamin A intake. *N Engl J Med* 333 :1369-73

19. Sucov HM, Dyson E, Gumeringer CL, Price J, Chien KR, et al. 1994. RXR $\alpha$  mutant mice establish a genetic basis for vitamin A signaling in heart morphogenesis. *Gene & Dev* 8 :1007-18

20. Tran CM, Sucov HM. 1998. The RXR $\alpha$  gene functions in a non-cell-autonomous manner during mouse cardiac morphogenesis. *Development* 125 :1951-6

21. Tsukui T, Capdevila J, Tamura K, Ruiz-Lozano P, Rodriguez-Esteban C, et al. 1999. Multiple left-right asymmetry defects in *Shh*(-/-)

mutant mice unveil a convergence of the shh and retinoic acid pathways in the control of Lefty-1. Proc Natl Acad Sci USA 96 :11376-81

22. Wilson JG, Warkany J. 1949. Aortic arch and cardiac anomalies in the offspring of Vitamin A deficient rats. Am J Anat 85 :113-55

23. 柳沢純, 舩広善和, 加藤茂明. 1998. 核内レセプターの転写共役因子. 医学のあゆみ 186 :657-62

24. Yasui H, Morishima M, Miyagawa-Tomita S, Nakazawa M, Momma K. 1995. Morphological observations on the pathogenetic process of the great arteries in mice. Circulation 91 :2487-6



	Human			Mouse	
	Chromosomal map site	RNA(kb)	分布	Chromosomal map site	RNA(kb)
<b>RAR<math>\alpha</math></b>	17q21.1	3.8+2.8	普遍的	11	3.8+2.8
<b>RAR<math>\beta</math></b>	3p24	3.6+3.1	組織特異的	14	3.4
<b>RAR<math>\gamma</math></b>	12q13	3.3	肺、皮膚	15	3.7
<b>RXR<math>\alpha</math></b>	9q34.3	5.6	組織特異的	2	5.6
<b>RXR<math>\beta</math></b>	6p21.3	3.0+2.7	普遍的	17	3.4+2.8
<b>RXR<math>\gamma</math></b>	1q22-23	2.5+2.0	筋肉、心臓	1	2.3+1.9

図1. ヒトとマウスにおけるレチノイン酸受容体（RAR）とレチノイドX受容体（RXR）の遺伝子座とRNAの長さや分布。文献2より改変。

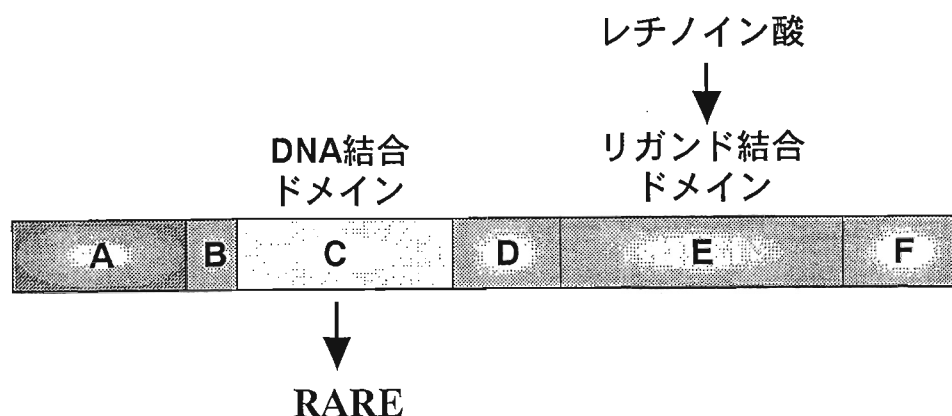


図2. レチノイン酸受容体タンパクの基本構造。E領域にあるリガンド結合ドメインがリガンドと結合する（入力シグナル）と、C領域にあるDNA結合ドメインが標的遺伝子のレチノイン酸応答配列（RARE）と結合（出力シグナル）してレチノイン酸シグナルを伝える。核内受容体は化学シグナルから遺伝情報シグナルへの変換装置である。

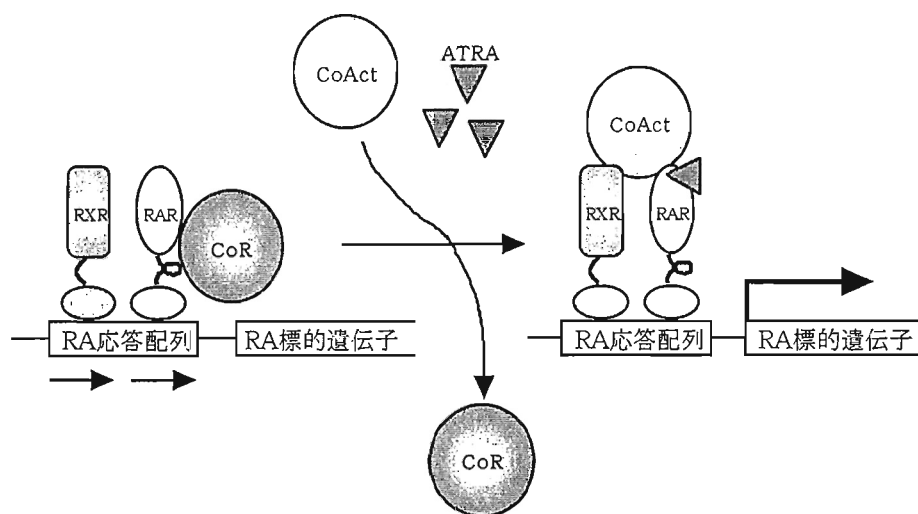


図3. 正常レチノイン酸受容体の転写制御作用。リガンド（ATRA）非存在下ではコリプレッサー（CoR）が受容体に結合して転写を抑制する。リガンドが受容体に結合するとコリプレッサーは解離し、コアクチベーター（CoAct）が受容体に結合して巨大な複合体となって転写を活性化する。文献4、10より改変。

	Atrium- ra	Ventricle- ra	Outflow- ra
RAR $\beta$	↓	↘	↓
RAR $\gamma$	→	↗	↑
TGF $\beta$ 1	↑	↓	↗
TGF $\beta$ 2	→	→	↘
TGF $\beta$ 3	↑	↓	↑

図4. レチノイン酸投与後のマウス胎仔12.5日の心臓（Atrium、心房；Ventricle、心室；Outflow、流出路）におけるレチノイン酸受容体、TGF $\beta$ 発現の変化。

- 
1. Mendelsohn et al. (1994) Development 120, 2749
  2. Kastner et al. (1994) Cell 78, 987
  3. Gruber et al. (1996) J Clin Invest 98, 1332
  4. Luo et al. (1996) Mech Dev 55, 33.
  5. Kastner et al. (1997) Development 124, 313
  6. Lee et al. (1997) Cir Res 80, 757
- 

図5. 心血管異常が認められるRAR/RAR、RAR/RXRダブルノックアウトマウスの文献。

---

PTA	$A\alpha/A\beta^{2^{*1,4}}, A\alpha/A\gamma^{*1}, A\alpha1/A\beta^{*4,6}, A\alpha1/A\beta^{2^{*1,4}}$ $X\alpha^{-/-\#3}, X\alpha/A\alpha^{*2,5}, X\alpha/A\alpha1^{*6}, X\alpha/A\beta^{*5,6}, X\alpha/A\gamma^{*2,5}$
AP window	$X\alpha^{-/-\#3}, X\alpha/A\alpha^{*5}, X\alpha/A\beta^{*6}, X\alpha/A\gamma^{*5}$
TGA	$X\alpha/A\alpha^{*5}, X\alpha/A\alpha1^{*6}$
AV canal defect	$A\alpha/A\beta^{2^{*1,4}}, A\alpha/A\gamma^{*1}$ $X\alpha^{-/-\#3}, X\alpha/A\alpha^{*5}, X\alpha/A\beta^{*5}$
Ao arch anomaly	$A\alpha/A\beta^{2^{*1,4}}, A\alpha1/A\beta^{*4,6}, A\alpha1/A\beta^{2^{*1,4}}$ $A\alpha1/A\gamma/A\alpha2^{*1}, A\alpha/A\gamma^{*1}$ $X\alpha/A\alpha^{*2,5}, X\alpha/A\alpha1^{*6}, X\alpha/A\beta^{*5}, X\alpha/A\gamma^{*2,5}, X\alpha/A\beta^{*6}$
Thin myocardium	$A\alpha1/A\beta^{*6}, A\alpha/A\gamma^{*1,2}$ $X\alpha^{-/-\#2,3}, X\alpha/A\alpha^{*2}, X\alpha/A\alpha1^{*6}, X\alpha/A\beta^{*6}$

---

図6. 異常遺伝子型と心血管異常。番号は図5の文献番号を示す。Ao arch anomaly, 大動脈弓異常；AP window, 大動脈肺動脈窓（大動脈肺動脈中隔欠損）；AV canal defect, 心内膜床欠損；PTA, 総動脈幹遺残；TGA, 大血管転換；Thin myocardium, 心室壁菲薄化。