

136

大血管転換症の形態形成における細胞外基質の研究

(課題番号 07671281)

平成7、8年度科学研究費補助金(基盤研究C)
研究成果報告書

平成9年3月



研究代表者 安井 寛
(東京女子医科大学・医学部・助手)

目次

1. はしがき	2
2. 研究組織	4
3. 研究経費	4
4. 研究発表（業績）	4
5. 研究成果報告	
(1) Immunohistochemical Localization of Collagen type I, Fibronectin and Hyaluronic acid in the Cardiac Outflow Tract of the Retinoic Acid-Treated Mouse Embryos Hiroshi Yasui, Makoto Nakazawa, Masae Morishima, Eizo Aikawa	7
(2) マウス胚仔心における integrin $\alpha 4$ の免疫組織化学的局在 —— ligand、dimerization、及び形態形成上の機能に関する考察 ——	21
(3) Abnormal cardiac morphogenesis in the retinoic acid-induced viscerotrial heterotaxy in mice Hiroshi Yasui, Masae Morishima, Makoto Nakazawa, Atsuyoshi Takao, Masahiko Ando, Eizo Aikawa	30
(4) Morphogenetic Spectrum of Conotruncal Anomalies Induced by Retinoic Acid in Mice Hiroshi Yasui, Masae Morishima, Masahiko Ando, Makoto Nakazawa, Eizo Aikawa	40

はしがき

先天異常は発生の異常によって生じ、そのpathogenesisは発生の理解なしには解明し得ない。先天性心疾患の原因を明らかにすることを目指して多くの研究者が心発生の研究を行ってきたが、specificな疾患の原因を解明するには、その疾患が高率に成立するような動物モデルが必要である。われわれは大血管転換症(TGA)の発生原因を解明するべく、レチノイン酸投与によるTGAマウスモデルを開発し、その形態形成過程を詳細に分析した。そのなかで、流出路中隔形成の2-3日前(胎生8-9日)に心円錐内に形成される一対の細胞外基質性(心ジェリー性)隆起が低形成・異形成となること、そのため流出路内腔の螺旋性が成立しないこと、心円錐の低形成のためにほぼ動脈幹に由来することになる流出路隆起がcounterclockwise rotationを欠如し、流出路隆起の位置は上下のまま、大動脈・肺動脈基部の位置は右・左のまま、まっすぐな流出路中隔が形成されることを見出した。その結果、大動脈・肺動脈はそれぞれが原始右室・原始左室と結び、大血管転換が成立するgrossな過程が理解できた(参考文献1-3)。

次いでわれわれは、胎生9日に円錐隆起の低形成を来す段階での、細胞外基質の関与を解明することを目指し、今回の研究を開始した。細胞外基質は一般に collagen, non-collagenous glycoprotein, proteoglycanなどに分類される。われわれはこれらの代表的な分子種について、免疫組織化学的に検索し、collagen type I, Fibronectin, Hyaluronic acidがTGAモデルの心流出路で特徴的分布を示すことを見出した(研究成果報告(1)参照)。この結果は、レチノイン酸によって引き起こされた遺伝子発現の持続的な変化、すなわち分化の異常によって、細胞外基質遺伝子の発現様式が変化したために生じたものと考えられる。また、細胞外基質は、組織の構成成分となる以外に、特異的な受容体に結合してシグナルを伝達することによって機能する。integrin $\alpha 4$ は、TGAの成立に大きく関与すると想定される細胞外基質Fibronectinの代表的受容体であるが、ligandとしてfibronectin以外にVCAM-1とも結合する。それらの局在を免疫組織化学的に検索した結果、胎生10-12日目のマウス胎仔において、integrin $\alpha 4$ は心流出路・流入路の心内膜由来の間葉細胞、神経堤細胞由来の流出路中隔、静脈洞中隔、左キュービエ管において、fibronectinの分布に一致して発現しており、ループ後の心形態形成への積極的な関与が示唆された。また、心外膜(epicardium)において、心房・心室最外層の心筋に発現するVCAM-1との間にligand-receptor関係が認められた。しかし、胎生9日目の心ジェリー低形成への関与は認められなかった(研究成果報告(2)参照)。むしろcollagen type I受容体

(integrin α 1、integrin α 2など)あるいはHyaluronic acid受容体 (RHAMM・CD44) が心ジェリー低形成と関連する可能性があるが、これらに関しては現在検索中である。

一方、レチノイン酸投与の時期を更に早くすることにより、lateralityの異常を伴う複合心奇形即ち臓器心房錯位症候群が誘発される(文献4)。今回の研究テーマである大血管転換はその奇形群の一つとして現われる。大血管転換成立に関する理解を深めるため、この系の形態形成過程を検索し、研究成果報告(3)にまとめた。また、大血管転換を単独に誘発する系でも、レチノイン酸投与量を少なくした場合、正常大血管関係を保持した円錐動脈幹奇形群が誘発され、大血管転換に属する心奇形群との間でspectrumを示す。今回、TGAモデルにこの系を含めた形態形成過程を、morphogenetic spectrumとして検索し、研究成果報告(4)にまとめた。今後は、細胞外基質やその受容体、更にその下流の、細胞内でのシグナル伝達の異常について、これらの拡張した大血管転換モデルにおいても解明していく予定である。

参考文献

1. Yasui H, Morishima M, Nakazawa M, et al.: Cardiac outflow tract septation in the mouse model of transposition of the great arteries. *Teratology*. 1997 (in press)
2. Yasui K, Nakazawa M, et al.: Morphological observation on the pathogenetic process of transposition of the great arteries induced by retinoic acid in mice. *Circulation*. 1995;91:2478-2486
3. 安井寛、森島正恵、富田幸子、他：レチノイン酸投与マウスにおける大血管転換症の形態学的特徴。日本小児循環器学会雑誌 1993;8:558-565
4. Morishima M, Tomita SM, Yasui H, et al : Animal models of visceratrial heterotaxy syndrome in the rodents. (Ed; Clark EB et al), Futura Publ. NY, 1995;625-628

研究組織

安井 寛	東京女子医科大学・医学部・助手
森島正恵	東京女子医科大学・医学部・助手
富田幸子	東京女子医科大学・医学部・助手
中澤 誠	東京女子医科大学・医学部・教授

研究経費

平成7年度	1000千円
平成8年度	1100千円

計2100千円

研究発表

(1) 学会誌など

- (1) Nakajima Y, Morishima M, Nakazawa M, et al: Inhibition of outflow cushion mesenchyme formation in retionic acid-induced complete transposition of the great arteries. *Cardiovasc Res* 1996;31:E77-E85
- (2) Nakajima Y, Hiruma T, Nakazawa M, et al: Hypoplasia of cushion ridges in the proximal outflow tract elicits formation of a right ventricle-to-aortic route in retionic acid-induced complete transposition of the great arteies in the mouse: Scanning electron microscopic observation of the corresion cast models. *Anat Rec* 1996;245:76-82
- (3) Morishima M, Tomita SM, Nakazawa M, et al: Visceroatrial heterotaxy syndrome induced by maternal hyperthermia in the rat. *Cardiol Young* 1995;5:251-256
- (4) Yasui K, Nakazawa M, et al: Morphological observation on the pathogenetic process of transposition of the great arteries induced by retionic acid in mice. *Circuvlation* 1995;91: 2478-2486

- (5) Nakazawa M, Morishima M, Tomita H, et al : Hemodynamics and ventricular function in the day-12 rat embryo: basic characteristics and the responses to cardiovascular drugs. *Pediatr Res* 1995;37:117-123
- (6) Yasui K, Nakazawa M, et al: Morphological observation on the pathogenetic process of transposition of the great arteries induced by retinoic acid in mice. *Circulation* 1995;91: 2478-2486
- (7) Morishima M, Yasui H, Nakazawa M, et al : Influence of genetic and maternal diabetes in the pathogenesis of viscerotrial heterotaxy in mice. *Teratology* 1996 (in press)

(2) 口頭発表

- (1) 安井寛 他：血流パターンから見た鶏胚心流出路収縮様式の検討、第30回日本小児循環器学会、平成6年7月1日
- (2) Yasui H et al. : Collagen type I distribution in the cardiac outflow tract in the mouse embryo treated with all-trans retinoic acid. Scientific conference on the molecular, cellular and functional aspects of cardiovascular development, sponsored by the American Heart Association, March, 1995, New Orleans, La, USA
- (3) Yasui H et al. : Cell division and apoptosis in the TGA model mouse. Weinstein Cardiovascular Development Meeting, June 1995, Rochester, NY, USA
- (4) 森島正恵 他：レチノイン酸投与マウスにおける大血管転換の形成過程、第30回日本小児循環器学会、平成6年7月1日
- (5) 森島正恵 他：レチノイン酸により誘発されたマウス胎仔内臓心房錯位症候群の形態学的解析、第35回日本先天異常学会、平成7年7月27日
- (6) 安井寛 他：胎生8か目レチノイン酸投与によりマウスに誘発される円錐動脈幹奇形の形態形成上のスペクトラム、第32回日本小児循環器学会、平成8年7月4日
- (7) 安井寛 他：胎生6か目レチノイン酸投与によりマウスに誘発される臓器心房錯位症候群の形態形成、第36回日本先天異常学会、平成8年7月27日

(3) 出版物

- (1) Nakazawa M, Morishima M, et al : Functional characteristics of the embryonic heart. *In Developmental Mechanisms of Heart Disease*. (Ed; Clark EB et al), Futura

Publ. NY, 1995;435-440

(2) Morishima M, Tomita SM, Yasui H, et al : Animal models of viscerotrial heterotaxy syndrome in the rodents. (Ed; Clark EB et al), Futura Publ. NY, 1995;625-628

(3) SMiyagawa-Tomita, M Morishima et al. : Distribution of cardiac neural crest cells, fibronectin, and tenascin in the outflow tract of chick embryos at incubation day 5 (Ed; Clark EB et al), Futura Publ. NY, 1995;295-296

(4) Y Nakajima, M Morishima, H Yasui et al. : Molecular mechanisms of complete transposition of the great arteries produced by all-trans retinoic acid in mouse embryo (Ed; Clark EB et al), Futura Publ. NY, 1995;315-318

(5) M. Morishima et al.: Morphological study of the inv situs inversus mutant mouse. (Ed; Clark EB et al), Futura Publ. NY, 1995;621-624