

氏 名	こ まつ こう じ 小 松 紘 司
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3047 号
学位授与の日付	平 成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 分 子 医 学 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Meltrin β expressed in cardiac neural crest cells is required for ventricular septum formation of the heart (心臓神経堤細胞に発現するメルトリン β は心室中隔形成に必須である)
論文調査委員	(主 査) 教 授 開 祐 司 教 授 野 間 昭 典 教 授 米 田 正 始

論 文 内 容 の 要 旨

ADAM (a disintegrin and metalloprotease) ファミリーはメタロプロテアーゼドメイン, ディスインテグリンドメインをもつ膜貫通型糖タンパク質である。代表的な機能としては, 細胞膜表面に存在する増殖因子や接着因子などを切断することにより, 細胞間相互作用の制御に関与する事が報告されている。申請者の所属する研究室ではこの ADAM ファミリーに属するメルトリン β (Meltrin β ; ADAM19) を同定し, ノックアウトマウスの解析を通して発生過程において心臓形成, 末梢神経の形成に関与していることを報告している。培養細胞を用いた研究により, メルトリン β はニューレグリン (neuregulin) の切断に関与することが明らかにされているが, 発生段階における役割は明らかではない。そこで申請者はメルトリン β ノックアウトマウスの心臓における心室中隔欠損, 弁の形成不全の原因を詳細に解析することにより, 心臓の発生過程におけるメルトリン β の機能を検討した。

心臓においてメルトリン β は心内膜床 (endocardial cushion) と呼ばれる部位で発現している。心内膜床は流出部 (将来, 大動脈と肺動脈を形成する部位) に存在する outflow tract (OT) cushion と心房—心室間に存在する atrioventricular (AV) cushion の 2 種類が存在する。OT cushion は心内皮細胞から上皮間葉転換によって生じる間葉細胞および心臓へと移動してくる神経堤細胞によって構成され, AV cushion は心内皮細胞由来の間葉細胞によって構成される。メルトリン β はこれらの間葉細胞, 神経堤細胞どちらにも発現が見られるため, 両者の動態を区別して観察するため各細胞系譜特異的に発現する遺伝子のプロモーターを利用した Cre マウス (Tie2-Cre マウス (間葉細胞), P0-Cre マウス (神経堤細胞)) を用いた Cre-loxP システムによる解析を行った。まず, LacZ を発現するトランスジェニックマウスを各 Cre マウスとかけ合わせ解析を行った結果, 心内皮における上皮間葉転換や神経堤細胞の移動に差はないが, 胎生13.5日齢の段階で心室近傍の OT cushion (近位 OT cushion) まで移動してきた神経堤細胞による近位 OT cushion の融合に異常が認められた。この部位は肺動脈と右心室, 大動脈と左心室を結合させるのに重要な部位であり, メルトリン β ノックアウトマウスでは近位 OT cushion の融合が起こらず, この結合が正常に行われないことにより心室中隔欠損を発症していることが明らかになった。

OT cushion では神経堤細胞, 心内皮細胞由来の間葉細胞ともメルトリン β を発現していることから, どちらの細胞に異常の原因があるかを特定するために loxP サイトを Cre で切断するとメルトリン β を発現するトランスジェニックマウスを作製し, 各細胞特異的にメルトリン β を発現させる機能回復実験を行った。その結果, 神経堤細胞特異的にメルトリン β を発現させると心室中隔欠損および一部の弁形成不全が回復した。以上のことから, 神経堤細胞に発現するメルトリン β は近位 OT cushion の融合に必須であり, この融合異常が心室中隔欠損, 弁の形成不全の原因であることが明らかになった。

本研究は各細胞におけるメルトリン β の発現を細胞特異的に制御して観察する事により, 心臓の形態形成における神経堤細胞とそこに発現するメルトリン β の役割を個体レベルで明らかにしたものである。

論文審査の結果の要旨

ADAM ファミリーに属する模型プロテアーゼメルトリン β の欠損マウスでは、心室中隔欠損、弁の形成不全が見られる。申請者は、この原因を詳細に検討することにより、心臓神経堤細胞におけるメルトリン β の役割を明らかにした。

ノックアウトマウスにおいて異常が見られる心室中隔、弁の形成には心内膜床 (endocardial cushion) が重要な役割を果たしており、この組織でメルトリン β の発現が見られた。心内膜床には outflow tract (OT) cushion と atrioventricular (AV) cushion と呼ばれる 2 種類が存在し、OT cushion は心内皮由来細胞と心臓神経堤細胞によって構成され、AV cushion は主に心内皮由来細胞より成る。メルトリン β は両方の細胞で発現することから、申請者は Cre-loxP システムを利用した遺伝子改変マウスを用いて、神経堤細胞および内皮細胞系譜特異的に β -ガラクトシダーゼを発現させる事によってそれらの細胞動態を追跡すると同時に、細胞系譜特異的にメルトリン β を発現させるトランスジェニックマウスを作成し、機能回復を試みた。その結果、メルトリン β 欠損マウスでは心臓内への神経堤細胞の移動は見られるが、左右の近位内膜床隆起の融合に異常があり、これが中隔欠損、右房室弁の形成不全の原因である事を見出した。さらに中隔欠損・弁形成不全は、神経堤細胞におけるメルトリン β の発現により特異的に回復し、心室中隔・弁形成における心臓神経堤細胞の関与を遺伝学的に示した。

以上の研究は、心臓の形態形成におけるメルトリン β および神経堤細胞の役割に関して重要な知見を示し、したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は平成19年1月12日に実施された論文内容とそれに関した試問を受け、合格と認められたものである。