

## 血管内皮細胞における Hrt1/Hey1 遺伝子の転写制御機構

### [1] 組織

代表者：渡邊 裕介

(国立循環器病研究センター、研究所)

対応者：久保 純

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：中川 修

(国立循環器病研究センター、研究所)

石井 修平

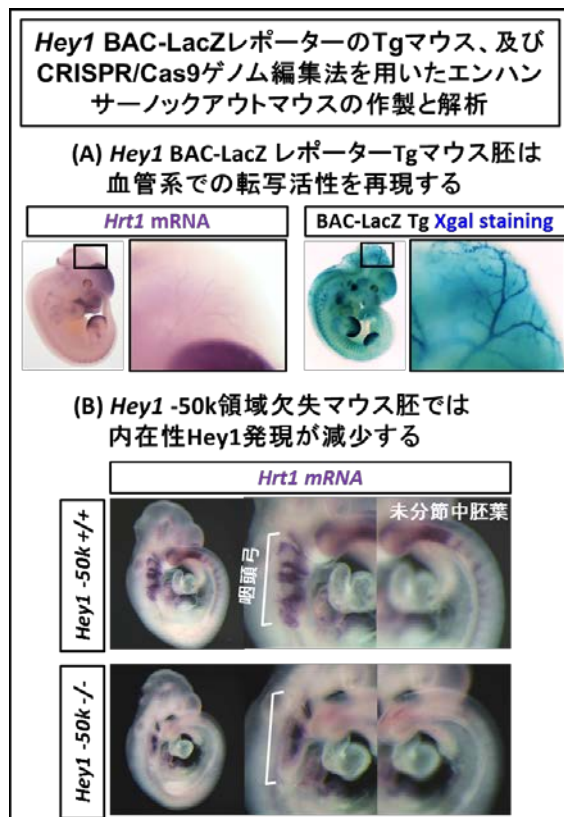
(国立循環器病研究センター、研究所)

研究費：物品費（消耗品、その他）40万円

### [2] 研究経過

全身に血液を循環させる血管は生命維持にとって根幹となる器官であり、その形態・機能異常は個体の生存に直結する。血管内皮細胞の発生・分化において、Notch シグナリングは主要な機能を担っているシグナル伝達系の1つであり、Notch シグナリングを構成する因子の欠失や変異は血管形成の異常をきたす。申請者・研究協力者が研究対象としてきたbHLH転写因子であるHrt1/Hey1は、Notch活性化により速やかに遺伝子発現が誘導される。本申請研究では、血管内皮細胞におけるNotchシグナリングと剪断応力に注目し、両者によるHrt1/Hey1遺伝子の転写制御機構を指標として解析することにより、血管発生におけるNotchシグナリングと剪断応力の意義を理解することを目的とした。

以下、研究活動状況の概要を記す。研究代表者、及び分担者は、所属研究施設にてHrt1/Hey1遺伝子のNotchシグナリング応答領域の同定を行った(図)。また、受け入れ先教員である久保純助教は、CRISPR/Cas9ゲノム編集技術について研究代表者への助言を行い、また加齢医学研究所にて培養血管内皮細胞に剪断応力を負荷し、イメージングする系を立ち上げた。研究代表者は当初、加齢医学研究所を訪問して受け入れ先教員と打ち合わせ・実験を行う予定が変更となったが、互いの進捗状況についてメール、電話を通じて密に連絡を取り合い、データ交換を行うことにより実験を遂行した。



### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

本年度は以下に示す研究成果を得た。

1、血管内皮細胞におけるHrt1/Hey1遺伝子のNotchシグナリング応答領域の同定。

トランスジェニックマウス作製、CRISPR/Cas9法による転写調節領域ノックアウトマウスの作製、そして培養細胞を用いた転写調節領域の活性解析により、Hrt1/Hey1遺伝子の遠位領域が、胚発生期におけるNotchシグナリング応答領域であると同定した(図)。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究では、遺伝子の転写調節領域解析をCRISPR/Cas9ゲノム編集技術によって行うということで、他の遺伝子の転写調節領域解析へも応用できる手法を立ち上げることができ、今後の発展が期待される。

また、次頁に示すように、大学院生が本共同研究に分担者として加わることで成果を挙げ、学会発表を多く行うことができた。

#### [4] 成果資料

学会発表

シンポジウム (口頭発表)

1. 渡邊裕介、中川修

咽頭弓に存在する二次心臓領域発生の分子機構

第122回日本解剖学会総会全国学術集会、長崎県長崎市、2017年3月28日

一般講演 (口頭発表)

2. 渡邊裕介、石井修平、深山俊治、上本泰生、井原大、久光隆、荒井勇二、中川修

Hrt1/Hey1 遺伝子の血管内皮発現制御機構におけるNotchおよびALK1シグナリングによる協調的転写調節メカニズム

第24回日本血管生物医学会学術集会、長崎県長崎市、2016年12月9日

3. 石井修平、渡邊裕介、深山俊治、上本泰生、井原大、久光隆、藤田匡秀、中川修

Hrt1/Hey1 遺伝子の血管発生における意義と血管内皮発現制御機構における転写調節メカニズム

第15回日本心血管発生研究会、大阪府吹田市、2016年10月15日

4. 石井修平、渡邊裕介、上本泰生、井原大、久光隆、深山俊治、中川修

Hrt1/Hey1 遺伝子の血管内皮発現制御機構におけるNotchおよびALK1シグナリングによる協調的転写調節メカニズム

第20回日本心血管内分泌代謝学会学術総会、東京都、2016年12月17日

一般講演 (ポスター発表、筆頭)

5. Watanabe Y, Ishii S, Fukayama T, Uemoto T, Ihara D, Hisamitsu T, Arai Y, Nakagawa O.

Synergistic regulatory mechanisms of endothelial Hrt1/Hey1 gene transcription by Notch and ALK1 signaling pathways.

第10回Notch研究会、静岡県三島市、2016年10月5日

6. 石井修平、渡邊裕介、上本泰生、井原大、久光隆、深山俊治、中川修

Hrt1/Hey1 遺伝子の血管内皮発現制御機構におけるNotchおよびALK1シグナリングによる協調的転写調節メカニズム

第39回日本分子生物学会年会、神奈川県横浜市、2016年11月30日

論文報告

なし