

課題番号 28

## 血管内皮細胞における Notch シグナリング活性化機構

### [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

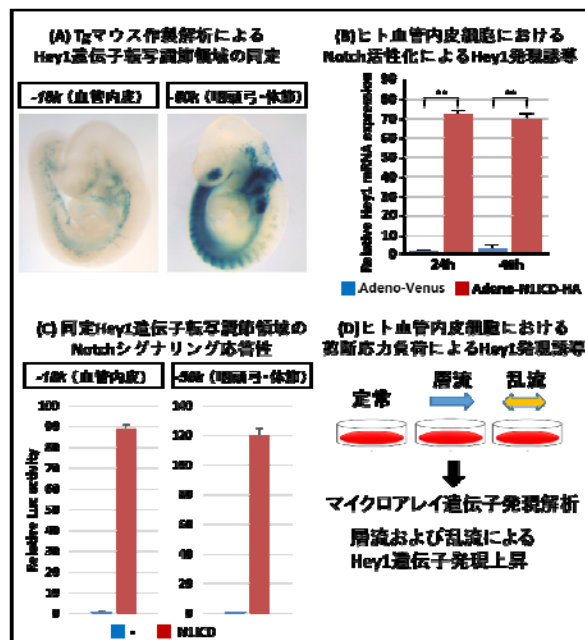
(国立循環器病研究センター、研究所)

研究費：物品費 26万4千2百円  
旅費 3万5千8百円

### [2] 研究経過

血管内皮細胞の発生、分化、機能において Notch シグナリングは必須の機能を担っている。Notch シグナリングの標的である Hey ファミリー因子に関しても、研究代表者・研究協力者のグループらが、Hey1 欠損マウスにおいて大血管形成異常が認められること、内皮細胞での Hey1;Hey2 二重欠損マウス胚において胎生初期の血管形成異常が認められることを報告してきた。そこで本申請研究では、血管内皮細胞における Hey1 遺伝子の転写制御機構解析を通じて、血管発生における Notch シグナリングや、剪断応力による遺伝子発現制御の分子機構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、及び協力者は、昨年度に引き続き所属研究施設にて Hey1 遺伝子の胎生期血管内皮細胞における転写調節領域のトランスジェニックマウス作製解析を行い、組織特異的転写調節領域の同定を行った(図A)。また、培養血管内皮細胞に対して Notch シグナリングを活性化させた際の Hey1 遺伝子の発現変化と転写調節領域の応答性を解析した(図B,C)。受け入れ先教員である久保純助教は、昨年度に本共同研究により加齢医学研究所にて立ち上げた培養血管内皮細胞に剪断応力を負荷する系を用いて、層流および乱流による剪断応力負荷時の血管内皮細胞における Hey1 遺伝子発現の解析を行った(図D)。これら双方が行った実験と結果について、昨年9月に研究代表者が加齢医学研究所を訪問して受け入れ先教員と詳細な情報交換とディスカッションを行い、今後の実験計画について打ち合わせを行った。



### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

本年度は以下および図に示す研究成果を得た。

- Hey1 遺伝子の組織特異的転写調節領域の同定。Hey1 遺伝子の内皮細胞での転写調節領域が-18k 領域に、咽頭弓・体節での転写調節領域が-50k 領域に存在することを明らかにした(図A)。
- Hey1 遺伝子と転写調節領域の Notch シグナリング応答性の解明。Hey1 遺伝子発現と、同定した Hey1 遺伝子の-18k、-50k の両領域が、Notch シグナリングに応答して転写活性を上昇させることを明らかにした(図B,C)。
- Hey1 遺伝子の剪断応力応答性の解明。培養血管内皮細胞において、層流および乱流という異なる剪断応力を負荷した際に、Hey1 遺伝子の発現が上昇することを明らかにした(図D)。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

血管内皮細胞における Notch シグナリングと剪断応力との関係については不明な点が多い。本共同研究で対象としている Hey1 遺伝子の転写制御の解析を通じて、Notch シグナリングと剪断応力のクロストークの理解が期待される。また、ヒトにおける血管形成異常と、Notch シグナリングと血流などの剪断応力に関連した疾患解明にも繋げ、臨床的にも意義があることとしたい。

#### [4] 成果資料

##### 学会等発表

##### 招待講演 (口頭発表)

##### 1. 渡邊裕介

二次心臓形成領域発生における FGF シグナル伝達系と転写調節機構

第 14 回 CEM フォーラム、京都府京都市、2017 年 4 月 8 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、西谷友重、荒井勇二、中川修

Hey1 expression in pharyngeal arch and presomitic mesoderm is regulated by a distal enhancer

2017 年度生命科学系学会合同年次大会、兵庫県神戸市、2017 年 12 月 8,9 日

##### 3. 深山俊治、渡邊裕介、瀬谷大貴、井原大、荒井勇二、磯本祥恵、中川修

胎生期血管内皮細胞における Hey1 遺伝子の発現制御機構

2017 年度生命科学系学会合同年次大会、兵庫県神戸市、2017 年 12 月 8,9 日

##### 4. 深山俊治、渡邊裕介、瀬谷大貴、井原大、荒井勇二、磯本祥恵、川村晃久、中川修

胎生期血管内皮細胞における Hey1 遺伝子の発現制御機構

第 21 回日本心血管内分泌代謝学会、大阪府大阪市、2017 年 12 月 10 日

##### 一般講演 (ポスター発表)

##### 5. Yusuke WATANABE, Masahide FUJITA, Shuhei ISHII, Toshiharu FUKAYAMA, Dai IHARA, Daiki SEYA, Teruhisa KAWAMURA, Osamu NAKAGAWA

Significance of Hey1 transcription factor in pharyngeal arch artery formation and regulatory mechanisms of its expression during embryonic development

The 8th TAKAO International Symposium on Molecular Mechanism of Cardiopulmonary Disease、島根県松江市、2017 年 10 月 7 日

##### 論文報告

##### 1. Watanabe Y, Miyasaka KY, Kubo A, Kida YS, Nakagawa O, Hirate Y, Sasaki H, Ogura T

Notch and Hippo signaling converge on Strawberry Notch 1 (Sbno1) to synergistically activate Cdx2 during specification of the trophectoderm.

Sci Rep. 2017 12;7:46135. (査読有り)

##### 2. Araki M, Hisamitsu T, Kinugasa-Katayama Y, Tanaka T, Harada Y, Nakao S, Hanada S, Ishii S, Fujita M, Kawamura T, Saito Y, Nishiyama K, Watanabe Y, Nakagawa O

Serum/glucocorticoid-regulated kinase 1 as a novel transcriptional target of bone morphogenetic protein-ALK1 receptor signaling in vascular endothelial cells.

Angiogenesis. 2018 in press. (査読有り)