

課題番号 20

血管内皮における膜貫通型タンパク質 Tmem100 の発現制御機構

[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)

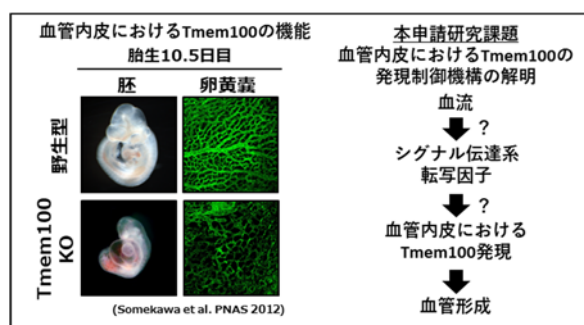
分担者：劉 孟佳

(国立循環器病研究センター、研究所)

研究費：物品費 18万円

[2] 研究経過

膜貫通型タンパク質である Tmem100 は胚発生期において血管内皮で発現しており、Tmem100 欠損マウスは血管系の形成異常により胎生致死となる。しかしながら、血管内皮における Tmem100 の発現制御機構については不明である (図)。



本申請研究では、申請者がマウスをモデル動物として、受け入れ教員である久保純助教が培養内皮細胞をモデルとして、それぞれの利点を活かしながら血管内皮における Tmem100 の発現制御機構についての解明を目指している。

以下、研究活動状況の概要を記す。

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。

申請者および研究協力者の中川修部長・劉孟佳研究員らは、LacZ レポーターを用いたトランスジェニックマウス解析により、マウス胚において Tmem100 の血管内皮細胞発現を制御するエンハンサー (Tmem100 内皮エンハンサー) を検索した。また、久保純助教は、培養血管内皮細胞において流れ刺激を負荷した際に、内在性 Tmem100 発現が上昇する条件 (流れ、強さ、速度など) について検討した。さらに、久保純助教が保持する複数の培養細胞 Well に同時に流れ刺激を負荷することが可能な装置を用いて Tmem100 内皮エンハンサーの流れ刺激に対する応答性について検討を進めている。

[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. Tmem100 内皮エンハンサーの同定
LacZ レポーターを用いたトランスジェニックマウス解析により、マウス胚において Tmem100 の血管内皮細胞発現を制御するエンハンサー (Tmem100 内皮エンハンサー) を新規に同定した。Tmem100 内皮エンハンサーは動脈系において特に転写活性を示しており、in vitro のルシフェラーゼアッセイからは血管内皮で発現する主要転写因子の制御を受けている可能性が示されている。
2. 培養内皮細胞における流れ刺激負荷による内在性 Tmem100 発現誘導
様々の流れ刺激負荷条件を検討した結果、1.2 Pa の層流による流れ刺激負荷の際に、時間経過とともに内在性 Tmem100 発現が上昇してることが確認された。
3. 培養内皮細胞における流れ刺激負荷による Tmem100 内皮エンハンサー活性誘導
予備的なデータではあるが、流れ刺激に反応して Tmem100 内皮エンハンサーが転写活性化する結果を得ている。今後、至適条件下での Tmem100 内皮エンハンサーの転写活性化および転写活性化過程における各種シグナル伝達系や転写因子の関与を検討していく計画である。

(3-2) 波及効果と発展性など

血管内皮での Tmem100 発現は胚における血管形成において必須である。また、遺伝性の肺動脈性肺高血圧症には ALK1 遺伝子変異が関与していることが知られているが、Tmem100 は ALK1 シグナル伝達系の下流因子でもある。以上から、本申請研究により血管内皮細胞における Tmem100 遺伝子の発現制御機構を明らかにすることで、胚発生期の血管形成および肺動脈性肺高血圧症の発症機構の理解に繋がることが期待される。

[4] 成果資料

英文原著論文

1. Ihara D, Watanabe Y*, Seya D, Arai Y, Isomoto Y, Nakano A, Kubo A, Ogura T, Kawamura T, Nakagawa O*. *co-corresponding author
Expression of Hey2 transcription factor in the early embryonic ventricles is controlled through a distal enhancer by Tbx20 and Gata transcription factors. Dev Biol, in press. (2020)

2. Miyoshi T, Hisamitsu T, Ishibashi-Ueda H, Ikemura K, Ikeda T, Miyazato M, Kangawa K, Watanabe Y, Nakagawa O, Hosoda H.
Maternal administration of tadalafil improves fetal ventricular systolic function in a Hey2 knockout mouse model of fetal heart failure. International Journal of Cardiology. In press. (2020)

学会等発表

一般講演 (口頭発表)

1. 浦崎明宏、渡邊裕介、原田恭弘、田中亨、劉孟佳、中川修
BMP-ALK1 シグナル伝達系の新規下流遺伝子群の発現制御と機能解析
HHT JAPAN 2019 (第6回日本 HHT 研究会) 2019年7月6日 東京都

2. Yusuke WATANABE, Dai IHARA, Daiki SEYA, Yoshie ISOMOTO, Yuji ARAI, Atsushi NAKANO, Atsushi KUBO, Osamu NAKAGAWA
Function and transcriptional regulation of Hey transcription factors during cardiovascular development
第42回分子生物学会年会 2019年12月6日 福岡市

3. 劉孟佳、片山由美、渡邊裕介、荒井勇二、磯本祥恵、中野厚史、上村・鎌田麻実、福嶋葉子、久保田義頭、植村明嘉、金井克晃、中川修
胎生期血管内皮遺伝子 Tmem100 の転写制御機構と血管形成における意義
第27日本血管生物医学会学術集会 2019年12月14日 神戸市

4. 浦崎明宏、田中亨、原田恭弘、劉孟佳、川村晃久、渡邊裕介、中川修
胚発生における心血管シグナル伝達系と環境因子の相互関係
第23回日本心血管内分泌代謝学会 2019年12月15日 神戸市

一般講演 (ポスター発表)

5. Toru TANAKA, Norika LIU, Shoko TAMURA, Daiki SEYA, Yusuke WATANABE, Osamu NAKAGAWA
Significance of Hey transcription factors in endothelial cell differentiation and embryonic vascular development
NAVBO Vascular Biology 2019 2019年10月28日 Pacific Grove, U.S.A.

6. 井原大、渡邊裕介、瀬谷大貴、磯本祥恵、荒井勇二、中野厚史、川村晃久、中川修
Gata および T-box 因子は胎生期心室筋における Hey2 遺伝子の転写を制御する
第42回分子生物学会年会 2019年12月4日 福岡市

7. 原田恭弘、田中亨、足立淳、若林真樹、石濱泰、渡邊裕介、川村晃久、中川修
胎生期血管形成におけるリン酸化酵素遺伝子 SGK1 の内皮特異的発現機構と下流シグナル伝達様式の解析
第42回分子生物学会年会 2019年12月4日 福岡市

8. 瀬谷大貴、井原大、川村晃久、渡邊裕介、中川修
右心室および心室中隔における Hey2 発現は心臓形態形成に必須である
第42回分子生物学会年会 2019年12月5日 福岡市