

課題番号	LS029
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実施状況報告書(平成 23 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	心循環器系の由来と多様性をもたらす分子メカニズム
研究機関・ 部局・職名	東京大学・分子細胞生物学研究所・講師
氏名	小柴 和子

1. 当該年度の研究目的

**1. 3次元イメージングの構築と心臓形態の観察、心房中隔獲得時期の特定**

魚類と両生類の間に位置する肉鱗類の肺魚とシーラカンスの心臓形態を、3次元イメージングを作製することにより、詳細に観察し、心房中隔、肺循環系の獲得時期を明らかにする。それとともに、新たな3次元イメージング法の構築に取り組む。

**2. 肺魚やワニにおける心臓発生に関わる主要遺伝子の単離及び発現解析**

マウスやニワトリで心房に極性をもって発現している遺伝子を肺魚において単離し、その発現パターンを魚類やカエルと比較することにより、心房中隔形成に直接関わっている遺伝子を同定する。魚類、肺魚、カエルを用いた遺伝子の発現解析は、in situ ハイブリダイゼーションを行なった後に、3次元イメージングを作製して行なう。

**3. 心室中隔形成に関わる Tbx5 遺伝子の上流解析**

心室中隔形成に関わる Tbx5 遺伝子の左室に局在した発現が、どのような制御機構によってもたらされるのか、心室中隔獲得過程にある爬虫類の Tbx5 上流配列を比較することにより明らかにする。

2. 研究の実施状況

前年度に引き続き、新たな3次元イメージング法の確立に取り組んだ。MRI やマイクロ CT など従来の方法では心臓の内部やマウス初期胚のように微細な構造を観察することが困難であったが、造影剤処理とマイクロ CT を組み合わせることにより心臓の内部構造を詳細に観察できることを我々は見いだした。これは心臓切片を作製せずに、心臓の形態異常を知ることができるという点で非常に画期的であり、心電図計測とともに変異マウスのスクリーニングを効率的におこなえる有用な解析系となることが期待される。現在、この手法をさらに発展させ、マウス初期胚において特定の因子が発現している領域を、マイクロ CT を用いて3次元イメージ化する新規の方法を開発しているところである。

造影剤/マイクロ CT の組み合わせにより、様々な動物の心臓を観察したところ、肺魚では明瞭な心房中隔形成が認められた。アフリカ肺魚(プロトプテルス)では心室中隔も有しており、驚くことにプロトプテルス・エチオピクスにおいては心室をほとんど二分するほど心室中隔が発達していた。プロトプテルスでは肺呼吸が発達していることを考え合わせると、肺循環獲得と関連するの

様式19 別紙1

は心房中隔であるが、効率的な肺呼吸のためには心室中隔も必要であることが推察される。そこで人工繁殖が可能で、胚発生を観察することができるオーストラリア肺魚を用いて、肺魚の心臓発生過程を調べた。肺魚の胚は両生類に非常に似通った外観をしており、心臓発生過程の同じような時期に心房中隔が形成されていることがわかった。現在、心臓発生に関わる遺伝子、特に心臓左右差遺伝子プロファイルから候補遺伝子を選び、肺魚からの単離をすすめている。これらの発現を調べることにより、心房の左右性決定がどのようになっているか、また両生類にはない心室中隔を肺魚がどのように獲得したか、明らかにしていく予定である。

Tbx5 遺伝子の制御機構を明らかにするため、BAC トランスジェニックの作製を計画しており、現在海外の共同研究先に爬虫類 BAC ライブラリーのスクリーニングを行ってもらっている。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 1 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 1 件 van Weerd JH, <u>Koshiba-Takeuchi K</u>, Kwon C, Takeuchi JK., Epigenetic factors and cardiac development., Cardiovasc Research. 2011 Jul 15;91(2):203-11, 2011.5</p> <p>(掲載済み一査読有り) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 11 件</p>	<p>専門家向け 計 11 件</p> <p>(1)Joshua D Wythe, <u>Kazuko Koshiba-Takeuchi</u>, Kyonori Togi, Benoit G. Bruneau, A strict lineage boundary between the first and second heart fields is defined by the contribution of the Tbx5 lineage., 2011 Weinstein Cardiovascular Development Conference (Cincinnati), 2011 年 5 月 6 日</p> <p>(2)van Henk Weerd、横田直子、小島瑞代、笹岡陽介、<u>小柴和子</u>、竹内純、心臓前駆細胞維持におけるクロマチン再構成複合体の役割、第 11 回東京大学生命科学シンポジウム(東京)、2011 年 6 月 4 日</p> <p>(3) <u>Kazuko Koshiba-Takeuchi</u>, Chulan Kwon, Jun K. Takeuchi, Cell-Fate Specification of Cardiac Progenitor/Stem Cells by Defined Factors in vivo., ISSCR 9th Annual Meeting(Canada), 2011 年 6 月 18 日</p> <p>(4) 森田唯加、塚原由布子、杉崎弘江、Kwon Chulan、<u>小柴和子</u>、竹内純、胚性・体性心臓前駆細胞をマークする新規因子の特異な分化制御機構、第 2 回 Molecular Cardiovascular Conference II (北海道)、2011 年 9 月 3 日</p> <p>(5) 横田直子、ヴァンウイールドヘンク、小島瑞代、杉崎弘江、竹内純、<u>小柴-竹内和子</u>、脊椎動物心臓の発生進化と形態進化のメカニズム、2011 年 9 月 21-23 日、日本動物学会第 82 回大会(旭川)、2011 年 9 月 21-23 日</p> <p>(6) 竹内純、<u>小柴和子</u>、塚原由布子、森田唯加、中村遼、山田小和加、横田直子、マウスが紐解く心臓研究のアプローチ、日本遺伝学会第 83 回大会(京都)、2011 年 9 月 22 日</p> <p>(7)Naoko Yokota, Henk Van Weerd, Mizuyo Kojima, Jun K Takeuchi, <u>Kazuko Koshiba-Takeuchi</u>, Cardiac septum formation in the vertebrate heart evolution、第 34 回日本分子生物学会年会ワークショップ(横浜)、2011 年 12 月 13 日 (“Can the heart regenerate? –Approaches to regeneration and developmental diversity of the heart”というタイトルでワークショップをオーガナイズした)</p> <p>(8)<u>小柴和子</u>、Heart evolution and the capacity for cardiac regeneration -What we have got or lost during evolution-, 第 9 回心血管幹細胞研究会(品川)、2012 年 1 月 14 日(招待講演)</p>

様式19 別紙1

	<p>(9) Yuika Morita, Yuko Tsukahara, Peter Anderson, Junko Kurokwa, Hiroe Sugizaki, Ryuichi Nishinakamura, Tetsushi Furukawa, <u>Kazuko Koshiba-Takeuchi</u>, Chuian Kwon, Jun K. Takeuchi, Sall+ Cells Represent a Renewing cardiac Progenitor Population., Keystone Symposia/Cardiovascular Development and Regeneration (Taos, New Mexico), 2012年1月23日</p> <p>(10) <u>Kazuko Koshiba-Takeuchi</u>, Ryo Nakamura, Sawaka Yamada, Mizuyo Kojima, Jun K. Takeuchi, Chromatin Formation is Necessary for Cardiomyocyte Regeneration in Mammal/Amphibian Models., Keystone Symposia/Cardiovascular Development and Regeneration (Taos, New Mexico), 2012年1月23日 (招待口演)</p> <p>(11) 森田唯加、塚原由布子、杉崎弘江、Kwon Chulan、小柴和子、竹内純、新たな心臓前駆細胞制御因子と階層性の理解、第41回日本心臓血管作動物質学会(秋田)、2012年2月11日</p> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書 計2件</p>	<p>(1)塚原由布子、<u>小柴和子</u>、竹内純、心臓発生にかかわるクロマチン・ヒストン制御の役割、月刊「Heart View」Vol. 15 No. 8 特集「血管・心筋再生はどこまで来たか」、2011年8月</p> <p>(2)<u>小柴和子</u>、竹内純、進化学事典 17.3 ボディプランと初期発生、共立出版、2012年4月</p>
<p>産業財産権 出願・取得状況 計0件</p>	<p>(取得済み)</p> <p>(出願中)</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>東京大学分子細胞生物学研究所 心循環器再生研究分野 竹内純研究室ホームページ</p> <p><a href="http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/junktakeuchi-lab/">http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/junktakeuchi-lab/</a></p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>オープンラボ、2011年5月28日、東京(分子細胞生物学研究所)、学部学生、20人、研究室で行っている研究や実験機器の説明。</p> <p>日大インターンシップ、2011年8月22日-9月2日、東京(分子細胞生物学研究所)、日本大学学部学生。動物の心臓形態の多様性について説明し、心臓特異遺伝子における異常と心臓形態の変化に関する実験を行ってもらった。それを通じて、心臓形態形成に関わる分子メカニズムに理解を深めていた。</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計0件</p>	
<p>その他</p>	<p>NHKBS プレミアム、いのちドラマチック～ウーパールーパー脅威の再生能力～、2011年9月7日放送に関連して取材をうけた。</p>

4. その他特記事項

日本発生生物学会の男女共同参画委員として、発生生物学会年会でワークショップをオーガナイズし、さらに男女共同参画学協会連絡会シンポジウムでポスター発表するなどの活動を行った。

## 実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

## 1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	61,000,000	31,600,000	0	29,400,000	0
間接経費	18,300,000	9,480,000	0	8,820,000	0
合計	79,300,000	41,080,000	0	38,220,000	0

## 2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	31,564,878	0	0	31,564,878	15,489,305	16,075,573	0
間接経費	9,480,000	0	0	9,480,000	9,480,000	0	0
合計	41,044,878	0	0	41,044,878	24,969,305	16,075,573	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	13,471,144	HSオールインワン蛍光顕微鏡、 実験試薬、実験動物、等
旅費	1,527,055	研究成果発表旅費Weinstein Cardiovascular Development Conference (Cincinnati)、等
謝金・人件費等	56,965	研究補助員人件費
その他	434,141	マウス微生物品質検査、動物輸送費、等
直接経費計	15,489,305	
間接経費計	9,480,000	
合計	24,969,305	

## 4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
HSオールインワン 蛍光顕微鏡	キーエンス BZ-9000	1	9,942,975	9,942,975	2011/6/22	東京大学
計算ソフト ダイナミック セルカウント(消耗品)	キーエンス BZ-H1C	1	1,260,000	1,260,000	2011/7/15	東京大学
ハイオラットラボ'トリス' サーマルサイクラー	C1000 Touch 185-1148J	1	999,600	999,600	2011/7/27	東京大学