九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

Hyperglycemia impairs left-right axis formation and thereby disturbs heart morphogenesis in mouse embryos

蜂須賀，正紘

https://hdl.handle.net/2324/1654723

出版情報：九州大学，2015，博士（医学），課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（2）

KYUSHU UNIVERSITY

氏　　名：蜂須賀　正紘

論 文 名：Hyperglycemia impairs left-right axis formation and thereby disturbs heart morphogenesis in mouse embryos
（高血糖は、マウス胚の左右軸形成を阻害し、そのため心臓形態形成を撹乱する）

区　　分：甲

論　文　内　容　の　要　旨

先天性心疾患はヒトにおいて最も頻度の高い先天異常であり、生児の0.8%-1.16%に影響している。そのような異常は必ずしも遺伝的変化によって起こるわけではなく、様々な環境要因によって、特定のタイプの先天性心疾患のリスクが上昇することが疫学的研究により明らかとなっている。1型や2型を含め、妊娠前糖尿病はそのような要因の一つである。現在まで、糖尿病性胚障害に関しては、マウスやラットを用いて研究されてきた。特に、高血糖に伴って生じた酸化ストレスが、ラットとマウスの胚における発育遅延や神経管異常に関与する可能性が示唆されている。そして、高血糖によって誘発された酸化ストレスは、神経上皮や心臓の神経堤において、ペアードボックス遺伝子*Pax3*の発現を減弱することが報告されており、それが起因となって、胚の神経管や流出路に異常を生じる可能性が示唆されている。しかしながら、他の組織において、母体糖尿病が先天異常を起こす機序はほとんど解明されていない。

ヒトにおいては、妊娠前糖尿病が内臓錯位に関連した先天性心疾患を起こす。内臓錯位は、1型糖尿病モデルである非肥満糖尿病マウス(nonobese diabetic mouse)の糖尿病であるメスの仔においても起こる。これらのマウス仔における左右異常は様々であるが、右側相同に伴った先天性心疾患が最も多い表現型である。しかしながら、このような異常が高血糖と関連してどのように発生するのかは、明確となっていない。

内臓器官の左右非対称性は、初期胚発生の間に確立される左右軸に基づき、もたらされたものである。マウスにおいて、遺伝的変化による左右軸の障害は、左右異常のみならず、先天性心疾患が発生する。マウスにおいて、胎生7.75日にノードにおける左向きの水流（ノード流）が形成される結果として、左右軸の形成が開始する。ノード流が生じた結果として、ノード周辺のcrown cellにおいて、いくつかの遺伝子の左右非対称な発現が最初に出現する。TGF-βファミリーに属する蛋白をコードする*Nodal*は、そのような遺伝子の一つであるが、その発現レベルは右側よりも左側で強くなる。この微細なNodal活性の左右差は、Nodalの直接拡散により側板中胚葉へ伝達すると考えられている。NodalはActivin受容体に結合し、細胞内シグナルを活性化する。活性化されたActivin受容体によって、細胞質でSmad2がリン酸化され、核へ移行し、転写の活性を促す。側板中胚葉における*Nodal*の転写は、

Smad2を介したポジティブループによって規定される。ノードで産生されたNodalが、最初に左側板中胚葉での自己の発現を活性化すると考えられ、左側板中胚葉での*Nodal*の局所的な発現は、ポジティブループの作用の結果として、それから側板中胚葉全体を網羅するように発現が広がる。左側板中胚葉の前方端では、心原基の左側におけるNodalシグナルが心臓ルーピングの方向を決定する。側板中胚葉及び心原基の左におけるNodalシグナルは、ホメオボックス遺伝子の*Pitx2* の発現が誘導し、その結果として、内臓器官が左右非対称な形態形成を獲得する。心臓では、左右非対称な*Pitx2*の発現は、ルーピングには関与しないが、適切な形態形成には必要であり、*Pitx2*の遺伝子変異マウスにおいては、先天性心疾患が発生する。

母親の糖尿病に関連した先天性心疾患や内臓錯位の分子的病因を解明するため、我々はストレプトゾトシンで糖尿病を誘発したメスマウスに由来する胚、そして、高濃度のグルコース培地で培養したマウス胚における左右軸形成を解析した。糖尿病母獣から得たマウス胚では心臓ルーピングに異常を呈する胚が散見され、またそのような胚において、*Pitx2*の発現が左側板中胚葉で消失している胚が散見された。培養で高濃度のグルコースに暴露した胚でも同様に、左側板中胚葉での *Nodal* 及び *Pitx2*の発現が消失しており、ノードのリン酸化 Smad2 の分布はノードの Nodal 活性が減弱していることを示していた。この現象が、今回の左右軸形成異常の原因と考えられたが、この見解に矛盾せず、ノードにおける *Nodal* の発現は減弱していた。また、ノードにおける *Nodal* の発現は Notch シグナルに依存するが、ノードにおける Notch シグナルもまた、減弱していた。以上の結果は、高濃度のグルコースが Notch シグナルを阻害することによって、ノードでの Nodal 活性に異常が生じ、心臓の態形成に必要な左右軸の確立を阻害することを示唆していた。右側相同に伴ったヒトの先天性心疾患も、この機序によって、少なくとも部分的には説明可能である。