

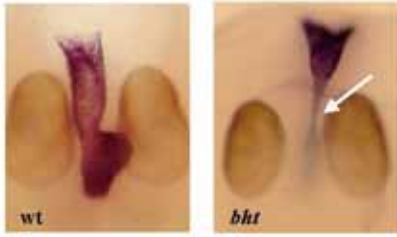
小型魚類を用いた心臓発生、再生研究

慶應義塾大学医学部 再生医学教室 牧野伸司

未知の生命現象を解き明かす最も確実な方法は突然変異体を用いた遺伝学的手法である。遺伝学的手法には、何らかの表現型を呈している突然変異体を単離した後、その原因遺伝子を同定する順遺伝学的手法と、ノックアウト法により既知遺伝子の機能を破壊する逆遺伝学的手法が挙げられる。これらの両方を駆使することが可能なモデル脊椎動物として小型魚類は有用である。メダカ、ゼブラフィッシュ等の小型魚類は発生初期には拡散により胚の栄養、酸素供給を行うため、ヒト、マウスで胎生致死となる心臓変異体でもかなりの期間生存可能である。さらに卵が透明であるために実体顕微鏡下で生きたまま心臓形態の観察が可能である。即ち哺乳類では産まれてくることのない変異をもつ心臓が、実際にどのような三次元構造をもち、どのような発生段階を経ていくのか詳細に観察することが可能である。メダカゲノムのサイズはヒトの四分の一、ゼブラフィッシュの半分で、純系統が維持されているのでゼブラフィッシュよりさらに順遺伝学を行うのが有利である。我が国での研究の歴史は古く、脊椎動物の発生メカニズムや遺伝病の研究を目的に、既に 300 系統以上の突然変異体が単離されている。2007 年にメダカゲノムの解読は終了しており (Kasahara M et al, Nature. 2007:714-9) この情報を利用することで、突然変異体を用いた遺伝学的解析がますます容易になってきている。

これらの現状を踏まえ、我々は化学変異剤ENUを用いたメダカ変異体スクリーニングよりメダカ心室筋形成不全突然変異体を得た。野生型の心臓は心房と心室が連動して二相性のリズムで拍動するのに対して、突然変異体の心臓は心室の拍動が全く認められない。変異体の心室内腔は盲端になっており、血管系は正常であり心房が拍動するのにも関わらず、心室筋のみが正常に増殖できずに心室内腔が大動脈に開通しないという、これまでに例をみない表現型を示す変異体を得られた。この変異体は心房、静脈洞が大きく拡大することから Big Heart Tube : *bht* と命名された。このような表現型を呈する突然変異体は、ゼブラフィッシュでもこれまでに報告がなく、この突然変異体の原因遺伝子を解明、遺伝子の機能解析を行うことで、「心室筋増殖、心筋維持」というこれまで着目されたことのなかった現象を紐解くことができると考えている。我々はこの変異体の原因遺伝子をポジショナルクローニング法により 100kb の領域まで絞り込んだ。この領域には細胞外マトリックスのプロテオグリカンがあり、小型魚類の遺伝子ノックダウンシステムであるモルフォリーノオリゴでも変異体と同様の表現型が得られた。

ミオシン軽鎖 *in situ* (心室形成不全：白矢印)



WT

bht(心室形成不全)

