



図3 BMPとWntによるCsx/Nkx2-5の発現誘導

発生初期のニワトリ胚では、BMPは胚周囲の内胚葉・外胚葉および原条に発現しており、Wntは後方の内胚葉、逆にWnt inhibitorは前方内胚葉に発現している。BMPはCsx/Nkx2-5の発現を誘導し、逆にWntはCsx/Nkx2-5の発現を抑制するため、実際のCsx/Nkx2-5の発現はBMPとWnt inhibitorの発現が重なった部分、すなわち前方外側中胚葉にみられるようになると思われる。(文献<sup>29)</sup>より改変)

予定心臓領域において発現が認められる。マウスでは、発生が進むにつれて次第に*Hand1*は左室領域に、*Hand2*は右室領域に局限して発現するようになる。*Hand2*ノックアウトマウスは*MEF2C*ノックアウトに類似した右室領域の形成不全により胎生致死となるのに対して<sup>20)</sup>、*Hand1*ノックアウトマウスは胎生早期に致死となり<sup>21)22)</sup>、心臓発生に関する解析は通常のノックアウトマウスでは困難である。ただし、tetraploid rescueにより得られた*Hand1*ノックアウトマウスは*Csx/Nkx2-5*ノックアウトマウスと類似した表現型を示し<sup>22)</sup>、このことは*Csx/Nkx2-5*ノックアウトマウスにおいて*Hand1*の発現が低下していることと一致する。さらに*Hand2*と*Csx/Nkx2-5*のダブルノックアウトマウスにおいては左右両方の心室が形成されないことも明らかにされており<sup>23)</sup>、*Hand1*と*Hand2*はそれぞれ左室・右室の形成に重要であると考えられる。また、*Hand2*は*Csx/Nkx2-5*や*GATA-4*と会合し、標的遺伝子の転写を協調的に制御することも報告されている<sup>24)25)</sup>。

### 予定心臓領域を誘導する因子

中胚葉から予定心臓領域が決定される過程では、隣接する組織由来のさまざまな液性因子が関与していることが明らかになっている。*Csx/Nkx2-5*を予定心臓領域のマーカーとして用いることにより、このような心臓領域を誘導する因子についての解析も進展した。

#### 1. BMP

ショウジョウバエではTinman位に位置する因子として、Dpp(decapentaplegic)が知られている。DppはTGF- $\beta$ スーパーファミリーに属する増殖因子で、脊椎動物ではBMP(bone morphogenetic protein)-2, BMP-4にもっとも相同性が高い。*dpp*は、発生初期には背側外胚葉に局限して発現しており、*tinman*の発現を隣接する背側中胚葉に局限させる機能を有する<sup>1)</sup>。同様にニワトリ胚においても*BMP-2*は予定心臓領域に隣接する内胚葉に発現しており、予定心臓領域でない前方外側中胚葉に発現させると*Csx/Nkx2-5*の異所性発現がみられることから<sup>26)</sup>、BMPが*Csx/Nkx2-5*の発現調節を行っているものと考えられる。

#### 2. WgとWnt

ハエの*wg(wingless)*も*dpp*同様に分泌蛋白をコードし、脊椎動物におけるWgホモログであるWntは10種以上のリガンドからなる大きなファミリーをつくっている。温度感受性変異体を用いてWgの機能を失わせると心臓の発生が阻害されることから、ハエにおいてはWgのシグナルが心臓形成に必要であると考えられる<sup>27)</sup>。また、このようなWgの作用は $\beta$ -cateninを含むcanonical pathwayを介することが示されている<sup>28)</sup>。一方、脊椎動物においては、前方中胚葉にWntの作用を阻害するWnt inhibitorが存在し、Wnt-3などによって活性化されるcanonical Wnt pathwayを阻害することにより予定心臓領域を誘導している(図3)<sup>29)</sup>。さ

らに, Wnt-11によって活性化されるnon-canonical Wnt pathwayが心臓発生に必須であることが明らかにされた<sup>30)</sup>. Wg/Wntのシグナルに関してショウジョウバエと脊椎動物で見られるこのような相違を統合的に解釈するのはなかなか困難であるが, 発生段階においてそれぞれのシグナルが活性化される時期の微妙な違いが関与している可能性も考えられる.

### おわりに

心筋細胞分化に関する研究は心筋特異的転写因子であるCsx/Nkx2-5の発見を契機に大きく進展した. 心臓発生に関与する転写因子・増殖因子も多数単離され, それぞれの機能解析も進んでいる. しかしながら, 中胚葉から予定心臓領域が決定され, さらに複雑な形態形成を経て最終的に心臓という一つの臓器を形成するに至るそれぞれの過程において, それらの転写因子・増殖因子がどのように機能しているかについては明らかではない. また, 幹細胞から心筋細胞への分化がどのような因子で調節されているのかについても不明な点が多い. 心筋細胞分化に関する研究がさらに進展することにより, 心臓発生過程の分子メカニズムの詳細が明らかになり, さらにそれらの知見が心臓再生のための新たな治療戦略につながることを期待される.

### 文 献

- 1) Zaffran S, Frasch M. Early signals in cardiac development. *Circ Res* 2002 ; 91 : 457.
- 2) Komuro I, Izumo S. *Csx* : a murine homeobox-containing gene specifically expressed in the developing heart. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 8145.
- 3) Lints TJ, Parsons LM, Hartley L, et al. *Nkx-2.5* : a novel murine homeobox gene expressed in early heart progenitor cells and their myogenic descendants. *Development* 1993 ; 119 : 419.
- 4) Lyons I, Parsons LM, Hartley L, et al. Myogenic and morphogenetic defects in the heart tubes of murine embryos lacking the homeobox gene *Nkx2-5*. *Genes Dev* 1995 ; 9 : 1654.
- 5) Tanaka M, Chen Z, Bartunkova S, et al. The cardiac homeobox gene *Csx/Nkx2.5* lies genetically

upstream of multiple genes essential for heart development. *Development* 1999 ; 126 : 1269.

- 6) Kuo CT, Morrisey EE, Anandappa R, et al. *GATA4* transcription factor is required for ventral morphogenesis and heart tube formation. *Genes Dev* 1997 ; 11 : 1048.
- 7) Molkenkin JD, Lin Q, Duncan SA, et al. Requirement of the transcription factor *GATA4* for heart tube formation and ventral morphogenesis. *Genes Dev* 1997 ; 11 : 1061.
- 8) Reiter JF, Alexander J, Rodaway A, et al. *Gata5* is required for the development of the heart and endoderm in zebrafish. *Genes Dev* 1999 ; 13 : 2983.
- 9) Gajewski K, Fossett N, Molkenkin JD, et al. The zinc finger proteins *Pannier* and *GATA4* function as cardiogenic factors in *Drosophila*. *Development* 1999 ; 126 : 5679.
- 10) Durocher D, Charron F, Warren R, et al. The cardiac transcription factors *Nkx2-5* and *GATA-4* are mutual cofactors. *EMBO J* 1997 ; 16 : 5687.
- 11) Shiojima I, Komuro I, Oka T, et al. Context-dependent transcriptional cooperation mediated by cardiac transcription factors *Csx/Nkx-2.5* and *GATA-4*. *J Biol Chem* 1999 ; 274 : 8231.
- 12) Gajewski K, Kim Y, Lee YM, et al. *D-mef2* is a target for *Tinman* activation during *Drosophila* heart development. *EMBO J* 1997 ; 16 : 515.
- 13) Gajewski K, Zhang Q, Choi CY, et al. *Pannier* is a transcriptional target and partner of *Tinman* during *Drosophila* cardiogenesis. *Dev Biol* 2001 ; 233 : 425.
- 14) Lilly B, Zhao B, Ranganayakulu G, et al. Requirement of MADS domain transcription factor *D-MEF2* for muscle formation in *Drosophila*. *Science* 1995 ; 267 : 688.
- 15) Lin Q, Schwarz J, Bucana C, et al. Control of mouse cardiac morphogenesis and myogenesis by transcription factor *MEF2C*. *Science* 1997 ; 276 : 1404.
- 16) Li QY, Newbury-Ecob RA, Terrett JA, et al. Holt-Oram syndrome is caused by mutations in *TBX5*, a member of the *Brachyury (T)* gene family. *Nat Genet* 1997 ; 15 : 21.
- 17) Basson CT, Bachinsky DR, Lin RC, et al. Mutations

- in human TBX5 cause limb and cardiac malformation in Holt-Oram syndrome. *Nat Genet* 1997 ; 15 : 30.
- 18) Bruneau BG, Nemer G, Schmitt JP, et al. A murine model of Holt-Oram syndrome defines roles of the T-box transcription factor Tbx5 in cardiogenesis and disease. *Cell* 2001 ; 106 : 709.
- 19) Hiroi Y, Kudoh S, Monzen K, et al. Tbx5 associates with Nkx2-5 and synergistically promotes cardiomyocyte differentiation. *Nat Genet* 2001 ; 28 : 276.
- 20) Srivastava D, Thomas T, Lin Q, et al. Regulation of cardiac mesodermal and neural crest development by the bHLH transcription factor, dHAND. *Nat Genet* 1997 ; 16 : 154.
- 21) Firulli AB, McFadden DG, Lin Q, et al. Heart and extra-embryonic mesodermal defects in mouse embryos lacking the bHLH transcription factor Hand1. *Nat Genet* 1998 ; 18 : 266.
- 22) Riley P, Anson-Cartwright L, Cross JC. The Hand1 bHLH transcription factor is essential for placenta-tion and cardiac morphogenesis. *Nat Genet* 1998 ; 18 : 271.
- 23) Yamagishi H, Yamagishi C, Nakagawa O, et al. The combinatorial activities of Nkx2.5 and dHAND are essential for cardiac ventricle formation. *Dev Biol* 2001 ; 239 : 190.
- 24) Dai YS, Cserjesi P, Markham BE, et al. The trans-cription factors GATA4 and dHAND physically interact to synergistically activate cardiac gene ex-pression through a p300-dependent mechanism. *J Biol Chem* 2002 ; 277 : 24390.
- 25) Thattaliyath BD, Firulli BA, Firulli AB. The basic-helix-loop-helix transcription factor HAND2 directly regulates transcription of the atrial naturetic pep-tide gene. *J Mol Cell Cardiol* 2002 ; 34 : 1335.
- 26) Schultheiss TM, Burch JB, Lassar AB. A role for bone morphogenetic proteins in the induction of cardiac myogenesis. *Genes Dev* 1997 ; 11 : 451.
- 27) Wu X, Golden K, Bodmer R. Heart development in *Drosophila* requires the segment polarity gene wingless. *Dev Biol* 1995 ; 169 : 619.
- 28) Park M, Wu X, Golden K, et al. The wingless sig-naling pathway is directly involved in *Drosophila* heart development. *Dev Biol* 1996 ; 177 : 104.
- 29) Marvin MJ, Di Rocco G, Gardiner A, et al. Inhibi-tion of Wnt activity induces heart formation from posterior mesoderm. *Genes Dev* 2001 ; 15 : 316.
- 30) Pandur P, Lasche M, Eisenberg LM, et al. Wnt-11 activation of a non-canonical Wnt signalling path-way is required for cardiogenesis. *Nature* 2002 ; 418 : 636.
- 31) Kelly RG, Brown NA, Buckingham ME. The arte-rial pole of the mouse heart forms from Fgf10-ex-pressing cells in pharyngeal mesoderm. *Dev Cell* 2001 ; 1 : 435.

\* \* \*