

特集

血管・心筋再生は
どこまで来たか

識る



Expertise

心臓発生にかかわる クロマチン・ヒストン制御 の役割

▶ *Functional roles of chromatin/histone in heart development*

塚原由布子 (東京大学分子細胞生物学研究所エピゲノム疾患研究センター心循環器再生研究分野)

小柴和子 (東京大学分子細胞生物学研究所エピゲノム疾患研究センター心循環器再生研究分野, 東京大学大学院理学系研究科生物科学)

竹内 純 (東京大学分子細胞生物学研究所エピゲノム疾患研究センター心循環器再生研究分野, JST さきがけ「iPS細胞と生命機能」)

心臓細胞への運命決定にかかわる転写因子群, すなわち心臓(特異的)転写因子群は進化の過程で高度に保存され, 先天性心疾患の原因遺伝子となることから心臓発生において重要な役割を担っている。多くの研究者らによって心臓転写因子の同定と機能解析が進められた結果, 心臓転写因子群は特異的なパートナーと協調して心臓区画化形成にかかわる下流遺伝子の発現を制御し, 各細胞系譜への運命決定や分化成熟に働くことが明らかとなった。しかしながら, 心疾患の多様な症状やホメオスタシスの制御など心臓転写因子研究のみでは解き明かせない現象が存在する。これは, 心臓転写因子群がどのような場面においても独立して優先的に機能するわけではなく, 細胞のクロマチン状態によって心臓転写因子群の活性が制御されるためと考えられる。近年, クロマチンの構造変化を引き起こすエピジェネティックな制御機構が次々と明らかになり, 心臓においても心臓発生の時期・領域特異的に機能するエピジェネティック因子への関心が高まっている^{1,2)}。本稿では, エピジェネティック因子の概略を交え, エピジェネティック因子が心臓転写因子の制御を介して心臓特異的な機能を発揮するメカニズムについて紹介していく。さらに, 心臓のエピジェネティック研究がもたらす心疾患の新たな治療法への展望を述べたい。

エピジェネティック因子の 概要

クロマチンとよばれるDNAとヒストンからなる高次構造は、遺伝子情報をコンパクトに核内へと収納するとともに、遺伝子の転写活性を制御している。DNAがヒストンに強く巻きついた領域(ヘテロクロマチン)では、転写因子がDNAにアクセスできずに標的因子の転写が抑制される。一方、DNAの巻きつきがゆるんだ領域(ユークロマチン)では、転写因子による標的遺伝子の転写が活性化される。このよう

なクロマチン状態の変化は、クロマチンリモデリング因子やヒストン修飾とよばれるエピジェネティック因子により制御される。クロマチンリモデリング因子は複数の因子が会合した複合体としてATP依存的に機能し、活性化サブユニットであるATPaseの種類によって、SWI/SNF、CHRAC (ISWI)、NuRD、INO80複合体に大別される(図1)。また、ヒストンのN末端はさまざまな翻訳後修飾を受けることにより、遺伝子の転写活性を正負に制御する。その他のエピジェネティックな制御として、DNAシトシンのメチル化修飾があげ

られる。シトシンが多く含まれるCpG配列はプロモーター領域に多く存在し、メチル化修飾を受けてその下流遺伝子の発現を制御する。また、DNAメチル化はヘテロクロマチン構造への転換を促す働きもある。

形態形成における クロマチンリモデリング因子

現在までに、さまざまなクロマチンリモデリング因子のノックアウトマウスが作製されている。*Snf5*, *Srg3*,

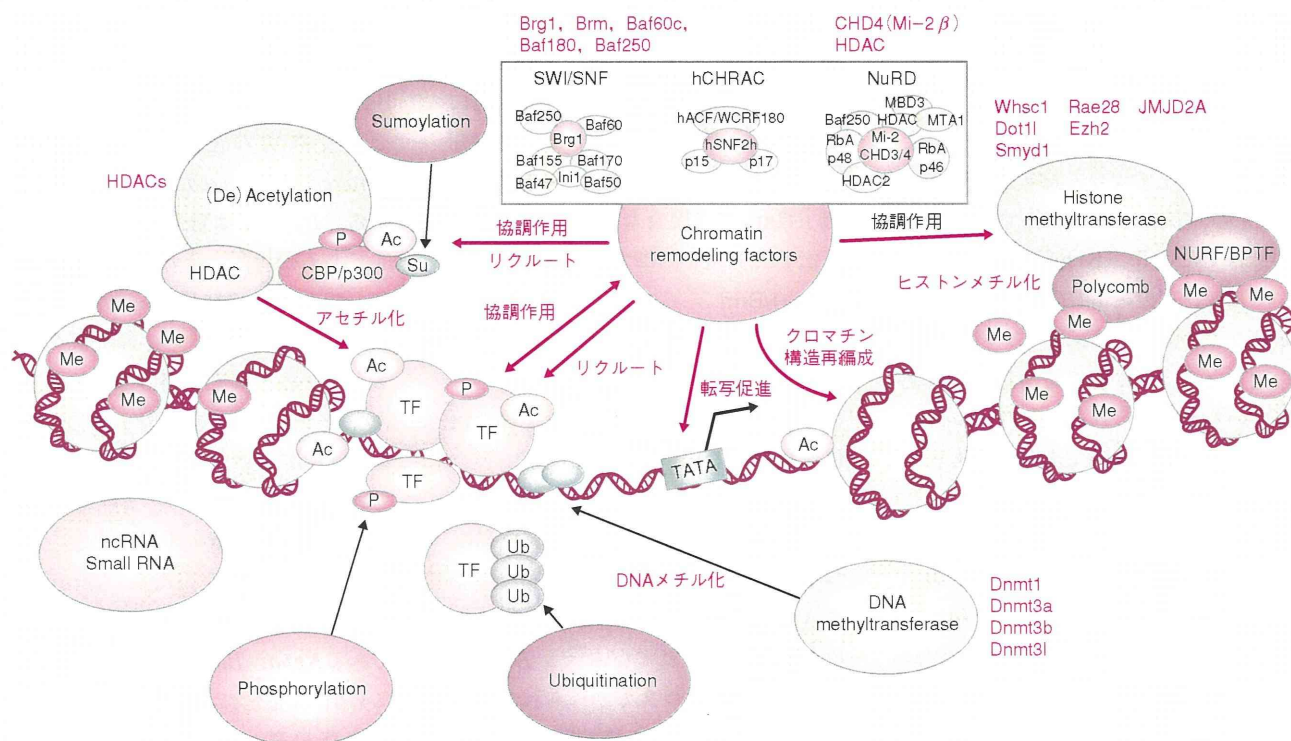


図1 心臓発生・心疾患に深く関与するエピジェネティック因子群

Baf155, *Brg1*ノックアウトマウスはいずれも早期致死となるため胚形成以降における機能は明らかとなっていない³⁻⁶⁾。また、CHRAC複合体に属する*Snf2h*は心臓や脳など組織特異的に発現するが、*Snf2h*ノックアウトマウスも早期致死となるため器官形成における機能は不明である⁷⁾。このような結果から、クロマチンリモデリング因子が初期発生に必須であることは明白だが、これら因子の組織特異的な役割については疑問視されていた。しかしながら、近年クロマチンリモデリング因子群の組織形成にかかわる新たな機能が次々と報告されている。

*Brg1*のゼブラフィッシュホモログである*young*の変異体は網膜分化が阻害される⁸⁾。*Brm*ノックアウトマウスは、細胞増殖に多少の異常が認められるが基本的には正常に発生する⁹⁾。*Brg1*と*Brm*は協調してマウス表皮とAER形成(肢芽の伸長に必須)に働いている¹⁰⁾。興味深いことに、*Brg1*は免疫系においては*Baf57*とともにT細胞の運命決定にかかわることから^{11,12)}、さまざまな因子との会合が組織特異性を生み出していると考えられる。また、*Baf45A*は神経幹細胞に必須であることも報告されている¹³⁾。

Chromodomain Helicase DNA binding protein (CHD)は、DNAの二重らせんを紐解くhelicaseの一種である。CHDファミリーに属するCHD7は*Sox*の標的因子の転写活性を制御するため、*Sox*が責任遺伝子として発症する無眼球症候群患者にCHARGE症候

群様の奇形を引き起こす原因となる¹⁴⁾。

心臓発生と先天性心疾患におけるクロマチンリモデリング因子

(1) SWI/SNF-BAF複合体

SWI/SNF複合体は、酵母の“mating type switching and sucrose non-fermenting”変異株から単離され、ATP依存的にクロマチン状態を変化させる¹⁵⁾。哺乳類SWI/SNFホモログは*Brahma-related gene 1 (Brg1)*と*Brm*という2つのATPaseをコア因子として、そのまわりに約10種類のBAF (Brg1/Brm associated factor) 因子が取り巻いた巨大な複合体(2MDa)を形成している¹⁶⁾。哺乳類SWI/SNFは自身によってヌクレオソームを解いた後、転写開始点にポリメラーゼIIを引き寄せる機能が知られている¹⁷⁾。さらに、*Brg1*は転写因子*Gata*と直接会合し、*Gata*の下流遺伝子の発現を制御する^{18,19)}。

●Brg1/Brm

BAFサブユニットをもつSWI/SNF複合体(SWI/SNF-BAF)は、11のサブユニットのアレンジにより多様な機能を発揮する。

SWI/SNF-BAF複合体のATPaseである*Brg1*はさまざまな器官形成に関与し^{6,11,13,20,21)}、心臓でも特異な機能をもつことがTakeuchiとBruneauらによって報告されている²²⁾。*Brg1*のヘテロ欠損型マウスで認められる左室低形成は、*Brg1*と心臓転写因子*Tbx5*の発現量のバランスが崩れることが原

因と考えられる²³⁾。また、Holt-Oram症候群の表現型は多岐にわたるが、その原因の1つが*Brg1*による*Tbx5*の転写活性調節であった。このようにクロマチンリモデリング因子による心臓転写因子の制御機構の解明は、心疾患の多様な表現型を紐解くテキストとなる。また、*Brg1*は胎仔期の心筋でβ-myosin heavy chain (β-MHC)を発現させ、成体心筋においてはα-MHCの発現を抑制する^{24,25)}。さらに、成体心筋ではストレスに応答して発現した*Brg1*がβ-MHCの発現を誘導することから、*Brg1*は胎仔性心筋の維持に働くと考えられる^{24,25)}。

●Baf60ファミリーメンバー

SWI/SNF複合体を形成するサブユニットには60kDaの3つのアイソフォーム*Baf60a*, *Baf60b*, *Baf60c*が存在し、それぞれ別の遺伝子(*Smarcd1*, *Smarcd2*, *Smarcd3*)にコードされている。*Baf60c*は発生初期の心臓特異的であるが^{16,26)}、その他のサブファミリーである*Baf60a*と*Baf60b*は初期心臓には発現しない^{16,27)}。*Baf60c*のノックダウン胚では流出路の短縮、右室・両心房の低形成、房室管の欠損など多くの異常が認められる^{26,27)}。このとき、動脈幹に発現する遺伝子(*Bmp4*, *Pitx2*, *Fgf10*)は一様に減少する。また、心臓転写因子*Nkx2-5*, *Tbx5*, *Gata4*の発現は維持されるが、これらの標的因子である*Nppa*, *Bmp10*, *Irx3*(肉柱形成に必須)は完全に消失する。SWI/SNF複合体は*Baf60c*依存的に*Tbx5*, *Nkx2-5*, *Gata4*と会合し、CBP/P300

とも特異的な条件下で会合する。Baf60cは心臓転写因子群とSWI/SNF複合体を架橋することにより巨大な転写複合体の要となって、特異的な下流遺伝子の発現調節にかかわっている^{22,28,29)}。Baf60cはNotchとも会合するが、この場合は心臓因子の誘導は起こらず、初期胚のノードにおいて*Nodal*の発現を制御して左右軸形成に重要な役割を担っている²⁷⁾。

●Polybromo (Baf180)

Baf180は、SWI/SNF-PBAF複合体のサブユニットであり、核内受容体であるRXR γ による転写活性を促す³⁰⁾。*Baf180*の欠損は早期致死とはならないが、RXR α 欠損マウスと同様に柵状構造のない薄い心筋壁が認められる³¹⁾。Baf180は心外膜に発現しており、心腔形成や冠形成においてSWI/SNF-Baf60c複合体とは別個に機能すると考えられる²⁷⁾。

●ARIDファミリーメンバー (Baf250 ; ARID1とBaf200 ; ARID2)

Baf250はBaf250a、Baf250b、Baf250cの3タイプのアイソフォームが存在し、そのなかでもBaf250aとBaf250bは胚性幹細胞特異的な複合体esBafや神経幹細胞特異的な複合体npBafの補因子として機能する。

Baf250aはマウス胎齢6.5日目に致死となることから初期発生にかかわる重要な因子であるが、心臓特異的なBAF複合体の必須因子となることから、心臓においてもなんらかの機能をもつことが予想される^{4,5,32)}。

(2)ヌクレオソームリモデリング・ヒストン脱アセチル化(NuRD)複合体

NuRD (nucleosome remodeling and deacetylase)複合体はヒストン脱アセチル化酵素を含むことから転写抑制に働き³³⁾、初期発生においては細胞のパターンニングと分化を調節している^{34,35)}。現在までにNuRD複合体を構成するMTAサブユニットのアイソフォーム(MTA1、MTA2、MTA3)の相違から3種類のNuRD複合体が報告されている。また、この複合体はメチル化シトシン特異的に結合するMBDサブユニットを含み、複雑で強力な転写抑制複合体を形成している。NuRD複合体のコア因子であるCHDは現在までに9種類が報告されており、とりわけCHD1、CHD3 (Mi-2 α)、CHD4 (Mi-2 β)は胚性幹細胞の維持に必須である³²⁾。NuRD複合体はヒストンメチル基転移酵素であるWhsc1や³⁶⁾、心室中隔形成にかかわる心臓転写因子Sall4との結合を介して^{37,38)}、心臓発生になんらかの機能を担っていることが推測される。

心臓におけるヒストンモディフィケーション

ヒストンは、可逆的なアセチル化、メチル化修飾や、リン酸化、ユビキチン化、SUMO化、リボシル化修飾を受けてクロマチン状態を変化させ、転写活性を制御する(図1)。最近ではヒストン脱アセチル化酵素(histone deacetylases ;

HDACs)やヒストンアセチル基転移酵素(histone acetyltransferases ; HATs)が心臓の遺伝子発現を制御することが明らかとなり、HDACファミリー異常による先天性心疾患との関連が注目されている。また、ヒストンのメチル化修飾も転写活性を制御する機構として重要視されている^{39,40)}。

(1)ヒストン脱アセチル化酵素(HDACs)、アセチル基転移酵素(HATs)

心臓形成において、いくつかの転写因子はHDAC依存的に機能する。例えば、SET、MYNDドメインをもつmBopはHDACに依存して*Hand2*の発現を制御し、mBopはIrx5と会合してHDACを誘導する^{41,42)}。serum response factor (SRF)は心臓発生の主要因子であり、HAT活性をもつTIP60と会合すると心臓特異的な転写活性を補助し、HDAC4と会合すると一転して転写抑制因子として機能する⁴³⁻⁴⁵⁾。ホメオドメイン蛋白質のHopとHDAC2の複合体は、SRFとの結合を介してプロモーター上に結合し、転写を抑制する⁴⁶⁾。さらにHDAC2はGata4の脱アセチル化を促進し心筋増殖を抑制する⁴⁷⁾。HAT、p300、PCAFを誘導するTAZ因子はTbx5と特異的に結合することにより*Nppa*の転写を亢進するだけでなく、YAP/TAZ複合体は β カテニンシグナルを調節し心筋増殖を制御する^{48,49)}。

(2)ヒストンメチル基転移酵素

Whsc1は*Nkx2-5*と結合して*Nkx2-5*

の転写活性を抑制し、一方ではヒストンH3リシン36のトリメチル化(H3K36me3)修飾により*Nkx2-5*とそのターゲット遺伝子の発現を負に制御するとも考えられている³⁶⁾。ヒト、マウスにおいて*Whsc1*の変異は、*Nkx2-5*の変異と同様に心房・心室の中隔欠損が認められる^{36,50)}。

*DOT1L*はヒストンH3K79のメチル化修飾に働く酵母*DOT1*の哺乳類ホモログであり、心臓特異的に欠損させたマウスでは心腔肥大と収縮不全、刺激伝導系の異常が認められ致死率が上昇する⁵¹⁾。*DOT1L*は心筋の生存に重要な*Dystrophin*の転写を制御し、拡張型心筋症の原因遺伝子となる⁵¹⁾。

*Smyd1*は組織特異的に発現するリシンメチル基転移酵素の一種であり、SETドメインを介したヒストンのメチル化修飾によって転写抑制に働く⁴¹⁾。*Smyd1*欠損マウスは、心筋未成熟による右室欠損が起こり重篤な心形成不全となる⁴¹⁾。ゼブラフィッシュでは、*Smyd1*が心筋収縮や筋線維の成熟に必須となることから⁵²⁾、心臓発生における*Smyd1*の機能は高度に保存されている。

(3) high mobility group (HMG)

蛋白質

クロモソーム蛋白質であるHMGは、クロマチン構造変換やプロモーター/エンハンサー領域における多量の転写因子との複合体形成を介して、ターゲット遺伝子の転写を制御する⁵³⁾。HMGの一種である*HMGA2*は、胎仔心臓特異

的に発現して心筋分化を促進する⁵³⁾。また、*Nkx2-5*のプロモーター領域には*HMGA2*の結合領域があり、*HMGA2*はBMPにより誘導された*Smad1/4*と複合体を形成して*Nkx2-5*の転写を促進している⁵³⁾。

(4) Polycom遺伝子群

*Rae28*は*Nkx2-5*の発現を制御し、心房心室中隔形成にかかわっている⁵⁴⁾。*YY1*は抑制因子*Ezh2*のCarGボックスを認識して*MHCIIb*や*MCK*のプロモーター上に*Ezh2*をリクルートすることで、心筋分化を抑制すると考えられている⁵⁵⁾。現在のところ、*in vivo*でpolycom遺伝子群が直接的に心臓発生にかかわる記述はないが、*in vitro*においては心筋分化マーカー遺伝子である*Mlc2*、*B型natriuretic peptide*、心臓特異的*α-actin*などの発現制御にかかわるといふ興味深い報告がなされている⁵⁶⁻⁵⁸⁾。

心筋のdefined factorとしてのエピジェネティック因子

*MyoD*による骨格筋の誘導や^{59,60)}、*myocardin*による平滑筋への分化誘導の成功により^{61,62)}、単一の転写因子が特定の細胞への分化誘導を支配する「マスター因子」となることが示された(図2)。心臓においてもさまざまな心臓主要転写因子(*Tbx5*、*Gata4*、*Nkx2-5*、*Mef2c*、*Hand1*、*Hand2*…)による検討がなされたが、単一の心臓転写因子では心筋はおろか心臓誘導さえもでき

なかった。近年、複数の「defined factors (特定因子群)」によりiPS細胞が樹立されたことがきっかけとなり、心臓においても心筋分化を促す「defined factors」の探索が進められ、心臓主要転写因子*Gata4*、*Nkx2-5*、*Tbx5*の組み合わせをもってしても心筋の分化誘導には不十分であることがわかった^{22,27)}(表1)。驚くべきことに、スクリーニングの結果見出された心臓特異的なクロマチンリモデリング因子*Baf60c*を*Gata4*、*Tbx5*とともに強制発現させると、中胚葉性由来の側板中胚葉細胞に異所的に拍動する心臓が誘導された^{22,26)}(図3a)。このとき、*Baf60c*によるクロマチン状態の変化が、*Gata4*、*Tbx5*による心筋トロポニン遺伝子のプロモーター領域への結合を促進させることが*in vivo* ChIP法により示された²²⁾(図3b)。

最近では、Iedaらにより心臓の線維芽細胞から機能的な心筋へとリプログラムする因子が同定された⁶³⁾(詳細は特集9「ダイレクトリプログラミングによる心筋細胞誘導法の確立と臨床応用への展望」に記載されているので参考にしてもらいたい)。興味深いことに線維芽細胞から心筋への分化転換には*Gata4*と*Tbx5*は必要であるが、*Baf60c*に代わって心臓転写因子*Mef2c*が必要であった⁶³⁾。誘導された心筋のメチル化解析により、心筋遺伝子のプロモーター領域においてH3K27me3レベルが低下し、H3K4me3レベルが増加しており、具体的な因子は不明であるが、なんらかのエピジェネティクスな修飾を受けて

いると考えられる。これらの知見により、エピジェネティックな制御のもとで心臓転写因子を組み合わせることの重要性が示された。

エピジェネティック因子による心筋再生へのアプローチ

心疾患の高い罹患率と死亡率は全世界に共通であり、その原因として心臓の再生能が低いことがあげられる。そこで、病変部の死滅した心筋に代替する新しい心筋ソースとして、ES細胞やiPS細胞などの多能性細胞から分化させた心筋を治療に用いる試みがな

れている^{53,64,65}。iPS細胞は、患者の細胞に由来するため免疫応答を防ぐ利点があるが⁶⁶、未分化なiPS細胞の移植はテラトーマ形成の危険があるため、純粋な心筋のみを移植する必要がある⁶⁷。また最近では、胎仔の心臓前駆細胞を霊長類の心臓病変部へと移植したところ、生着して心筋へと分化したことから心臓前駆細胞の有効性が示された⁶⁸。しかしながら、iPS細胞の樹立・分化誘導には長期間を要すること、また心臓前駆細胞の入手は困難であることなど、医療応用への課題は多く残されている。これらの解決策として、エピジェネティック因子による心筋誘導法が大いに期待される。患者

由来の細胞からiPS細胞を介さずに直接に心筋を誘導するリプログラム因子として心筋の作製過程を大幅に短縮できる。さらに、心臓の病変部やその近傍に直接因子を導入することにより、まさに病変部で新しい心筋を再生できる可能性がある。このように、エピジェネティック因子は今後の医療応用への展開が望まれるが、その有効性及び安全性については慎重に検討を進めなくてはならない。その礎として、心臓の発生学、細胞生物学などの基礎研究分野において、エピジェネティックな制御メカニズムに対する一層の理解が重要となっている。

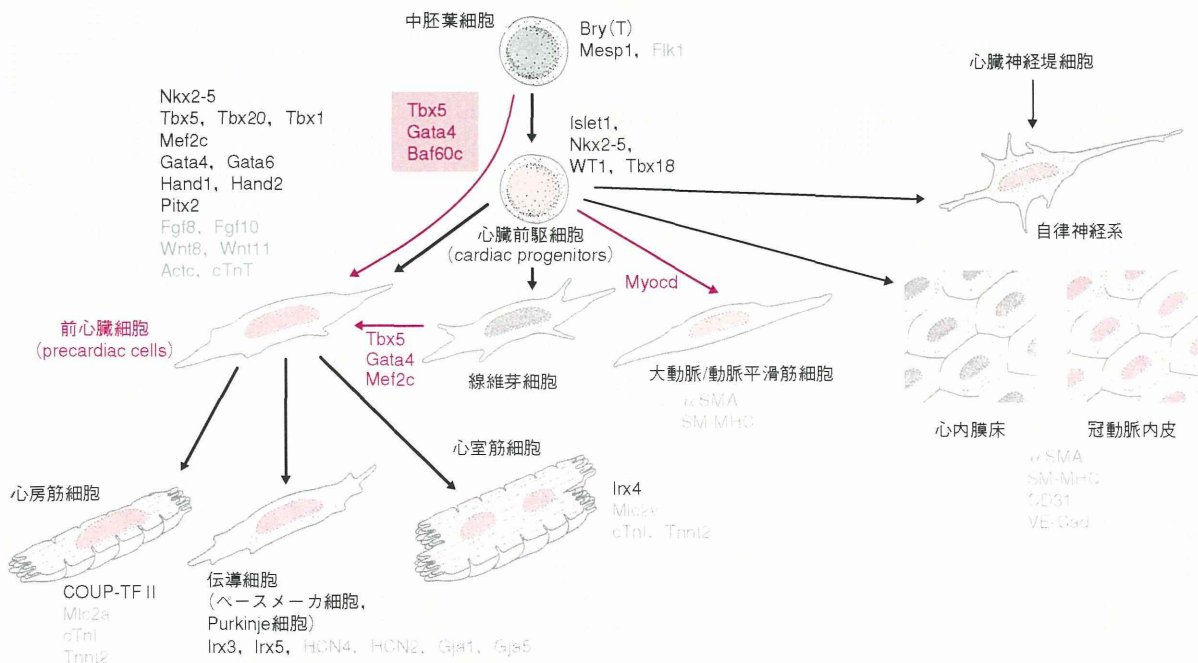


図2 心臓構成細胞と細胞種特異的な遺伝子

Tbx5	Gata4	Gata1	Nkx2-5	Baf60c	Baf60b	<i>Actc1, Myl7</i> 発現誘導	拍動誘導
+	-	-	-	-	-	×	×
-	+	-	-	-	-	×	×
-	-	+	-	-	-	×	×
+	+	-	-	-	-	×	×
+	-	+	-	-	-	×	×
-	-	-	+	-	-	×	×
+	-	-	+	-	-	×	×
-	+	-	+	-	-	×	×
+	+	-	+	-	-	×	×
-	+	-	-	+	-	○	×
-	+	-	-	-	+	○	×
-	-	+	-	+	-	○	×
-	-	+	-	-	+	×	×
+	+	-	+	+	-	○	○
+	+	-	-	+	-	○	○
+	+	-	-	+	-	○	○

表1 心筋 defined factor の同定

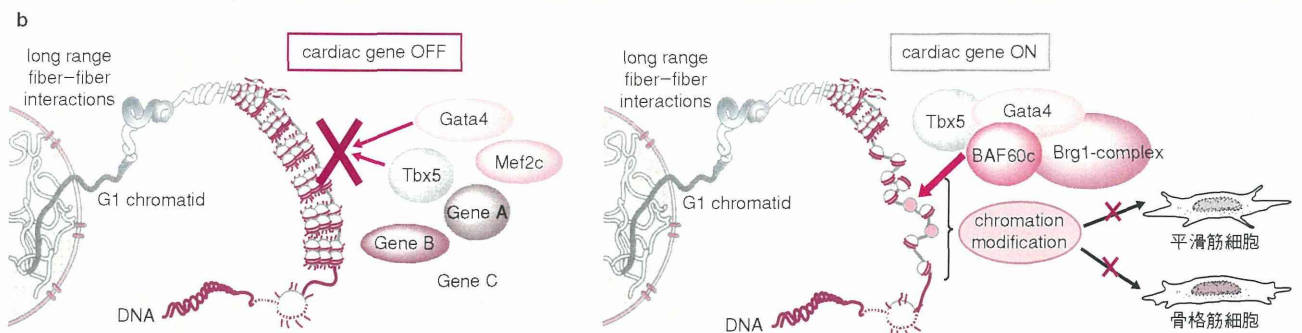
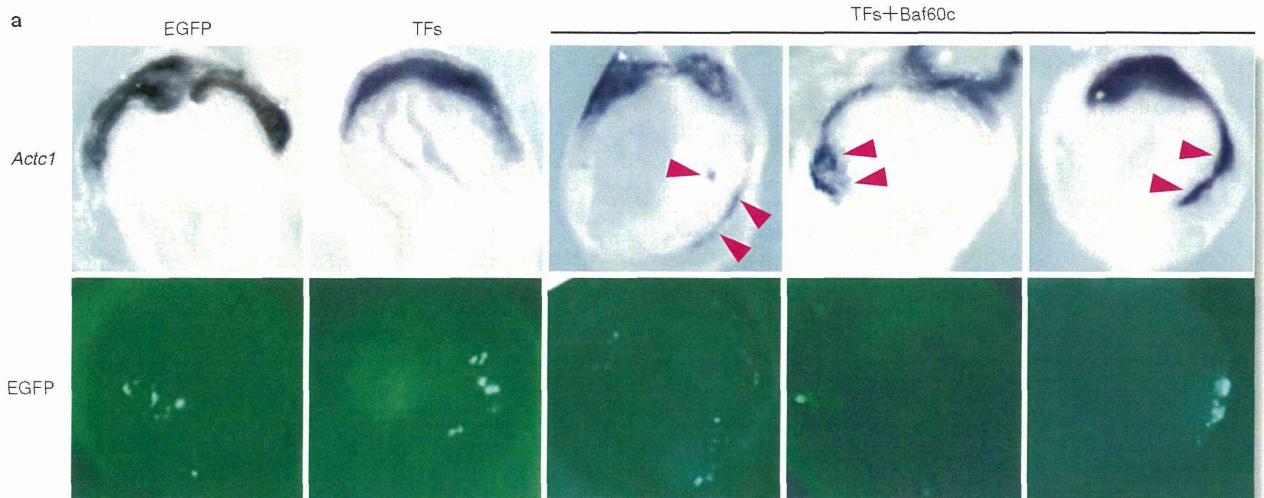


図3 心臓転写因子とBaf60cによる異所的な心筋誘導(a)とBaf60c依存的な心臓転写因子のリクルートメント(b)



心臓学におけるエピジェネティック因子の今後の展望

心臓の形成には多くのgenetic, epigeneticな因子がかかわることが次

第に明らかとなり、心筋のdefined factorsの発見という大きなブレイクスルーを生み出した。defined factorの一つがクロマチンリモデリング因子*Baf60c*であったことも、心臓発生に

おけるエピジェネティック因子の重要性を物語っている。エピジェネティクスに着眼した生体内の機能解析はまだ始まったばかりであり、今後は各細胞系譜や発生段階などで詳細な解析を進

文献

- van Weerd H, Koshiba-Takeuchi K, Kwon C, Takeuchi JK. Epigenetic Factors and Cardiac Development. *Cardiovasc Res* 2011 May 23. [Epub ahead of print]
- Bruneau BG: Chromatin remodeling in heart development. *Curr Opin Genet Dev* 20: 505-511, 2010.
- Guidi CJ, Sands AT, Zambrowicz BP, et al: Disruption of *Ini1* leads to peri-implantation lethality and tumorigenesis in mice. *Mol Cell Biol* 21: 3598-3603, 2001.
- Kim JK, Huh SO, Choi H, et al: *Srg3*, a mouse homolog of yeast SWI3, is essential for early embryogenesis and involved in brain development. *Mol Cell Biol* 21: 7787-7795, 2001.
- Klochendler-Yeivin A, Fiette L, Barra J, et al: The murine SNF5/INI1 chromatin remodeling factor is essential for embryonic development and tumor suppression. *EMBO Rep* 1: 500-506, 2000.
- Bultman S, Gebuhr T, Yee D, et al: A *Brg1* null mutation in the mouse reveals functional differences among mammalian SWI/SNF complexes. *Mol Cell* 6: 1287-1295, 2000.
- Stopka T, Skoultschi AI: The ISWI ATPase *Snf2h* is required for early mouse development. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 14097-14102, 2003.
- Link BA, Fadool JM, Malicki J, Dowling JE: The zebrafish young mutation acts non-cell-autonomously to uncouple differentiation from specification for all retinal cells. *Development* 127: 2177-2188, 2000.
- Reyes JC, Barra J, Muchardt C, et al: Altered control of cellular proliferation in the absence of mammalian *brhma1* (SNF2alpha). *EMBO J* 17: 6979-6991, 1998.
- Indra AK, Dupé V, Bornert JM, et al: Temporally controlled targeted somatic mutagenesis in embryonic surface ectoderm and fetal epidermal keratinocytes unveils two distinct developmental functions of BRG1 in limb morphogenesis and skin barrier formation. *Development* 132: 4533-4544, 2005.
- Chi TH, Wan M, Zhao K, et al: Reciprocal regulation of CD4/CD8 expression by SWI/SNF-like BAF complexes. *Nature* 418: 195-199, 2002.
- Chi TH, Wan M, Lee PP, et al: Sequential roles of Brg, the ATPase subunit of BAF chromatin remodeling complexes, in thymocyte development. *Immunity* 19: 169-182, 2003.
- Lessard J, Wu JI, Ranish JA, et al: An essential switch in subunit composition of a chromatin remodeling complex during neural development. *Neuron* 55: 201-215, 2007.
- Engelen E, Akinci U, Bryne JC, et al: *Sox2* cooperates with *Chd7* to regulate genes that are mutated in human syndromes. *Nat Genet* 43: 607-611, 2011.
- Martens JA, Winston F: Recent advances in understanding chromatin remodeling by Swi/Snf complexes. *Curr Opin Genet Dev* 13: 136-142, 2003.
- Wang W, Xue Y, Zhou S, et al: Diversity and specialization of mammalian SWI/SNF complexes. *Genes Dev* 10: 2117-2130, 1996.
- Delgado-Olguin P, Takeuchi JK, Bruneau BG: Chromatin modification and remodeling in heart development. *ScientificWorldJournal* 6: 1851-1861, 2006.
- Kadam S, Emerson BM: Transcriptional specificity of human SWI/SNF BRG1 and BRM chromatin remodeling complexes. *Mol Cell* 11: 377-389, 2003.
- Tamkun JW, Deuring R, Scott MP, et al: *brhma*: a regulator of *Drosophila* homeotic genes structurally related to the yeast transcriptional activator SNF2/SWI2. *Cell* 68: 561-572, 1992.
- Bultman SJ, Gebuhr TC, Pan H, et al: Maternal BRG1 regulates zygotic genome activation in the mouse. *Genes Dev* 20: 1744-1754, 2006.
- Yan Z, Wang Z, Sharova L, et al: BAF250B-associated SWI/SNF chromatin-remodeling complex is required to maintain undifferentiated mouse embryonic stem cells. *Stem Cells* 26: 1155-1165, 2008.
- Takeuchi JK, Bruneau BG: Directed transdifferentiation of mouse mesoderm to heart tissue by defined factors. *Nature* 459: 708-711, 2009.
- Takeuchi JK, Lou X, Alexander JM, et al: Chromatin remodeling complex dosage modulates transcription factor function in heart development. *Nat Commun* 2: 187, 2011.
- Hang CT, Yang J, Han P, et al: Chromatin regulation by Brg1 underlies heart muscle development and disease. *Nature* 466: 62-67, 2010.
- Côté J, Quinn J, Workman JL, Peterson CL: Stimulation of GAL4 derivative binding to nucleosomal DNA by the yeast SWI/SNF complex. *Science* 265: 53-60, 1994.
- Lickert H, Takeuchi JK, Von Both I, et al: *Baf60c* is essential for function of BAF chromatin remodeling complexes in heart development. *Nature* 432: 107-112, 2004.
- Takeuchi JK, Lickert H, Biggrove BW, et al: *Baf60c* is a nuclear Notch signaling component required for the establishment of left-right asymmetry. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 846-851, 2007.
- 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* 106: 709-721, 2001.
- Mori AD, Zhu Y, Vahora I, et al: *Tbx5*-dependent rheostatic control of cardiac gene expression and morphogenesis. *Dev Biol* 297: 566-586, 2006.
- Wang Z, Zhai W, Richardson JA, et al: Polybromo protein BAF180 functions in mammalian cardiac chamber maturation. *Genes Dev* 18: 3106-3116, 2004.
- Sucov HM, Dyson E, Gumeringer CL, et al: RXR alpha mutant mice establish a genetic basis for vitamin A signaling in heart morphogenesis. *Genes Dev* 8: 1007-1018, 1994.
- Ho L, Crabtree GR: Chromatin remodeling during development. *Nature* 463: 474-484, 2010.
- Zhang Y, LeRoy G, Seelig HP, et al: The dermatomyositis-specific autoantigen Mi2 is a component of a complex containing histone deacetylase and nucleosome remodeling activities. *Cell* 95: 279-289, 1998.
- Kaji K, Nichols J, Hendrich B: *Mbd3*, a component of the NuRD co-repressor complex, is required for development of pluripotent cells. *Development* 134: 1123-1132, 2007.
- Kaji K, Caballero IM, MacLeod R, et al: The

めるとともに、心疾患とのかかわりについても明らかにしていく必要がある。再生能が制限された哺乳類の心臓において、エピジェネティック因子により心筋へとリプログラムする手法は、心

疾患の新たな治療法としての可能性を秘めている。エピジェネティック因子による心臓転写因子の制御メカニズムを解明する試みは、心臓発生の理解を深めるとともに将来の心疾患治療や予

防において新たな知見をもたらすに違いない。

- NuRD component Mbd3 is required for pluripotency of embryonic stem cells. *Nat Cell Biol* 8: 285-292, 2006.
- 36) Nimura K, Ura K, Shiratori H, et al: A histone H3 lysine 36 trimethyltransferase links Nkx2-5 to Wolf-Hirschhorn syndrome. *Nature* 460: 287-291, 2009.
 - 37) Lu J, Jeong HW, Jeong H, et al: Stem cell factor SALL4 represses the transcriptions of PTEN and SALL1 through an epigenetic repressor complex. *PLoS One* 4: e5577, 2009.
 - 38) Koshiba-Takeuchi K, Takeuchi JK, Arruda EP, et al: Cooperative and antagonistic interactions between Sall4 and Tbx5 pattern the mouse limb and heart. *Nat Genet* 38: 175-183, 2006.
 - 39) Backs J, Olson EN: Control of cardiac growth by histone acetylation/deacetylation. *Circ Res* 98: 15-24, 2006.
 - 40) Haberland M, Montgomery RL, Olson EN: The many roles of histone deacetylases in development and physiology: implications for disease and therapy. *Nat Rev Genet* 10: 32-42, 2009.
 - 41) Gottlieb PD, Pierce SA, Sims RJ, et al: Bop encodes a muscle-restricted protein containing MYND and SET domains and is essential for cardiac differentiation and morphogenesis. *Nat Genet* 31: 25-32, 2002.
 - 42) Costantini DL, Arruda EP, Agarwal P, et al: The homeodomain transcription factor Irx5 establishes the mouse cardiac ventricular repolarization gradient. *Cell* 123: 347-358, 2005.
 - 43) Wang D, Chang PS, Wang Z, et al: Activation of cardiac gene expression by myocardin, a transcriptional cofactor for serum response factor. *Cell* 105: 851-862, 2001.
 - 44) Davis FJ, Gupta M, Camoretti-Mercado B, et al: Calcium/calmodulin-dependent protein kinase activates serum response factor transcription activity by its dissociation from histone deacetylase, HDAC4. Implications in cardiac muscle gene regulation during hypertrophy. *J Biol Chem* 278: 20047-20058, 2003.
 - 45) Barron MR, Belaguli NS, Zhang SX, et al: Serum response factor, an enriched cardiac mesoderm obligatory factor, is a downstream gene target for Tbx genes. *J Biol Chem* 280: 11816-11828, 2005.
 - 46) Kook H, Lepore JJ, Gitler AD, et al: Cardiac hypertrophy and histone deacetylase-dependent transcriptional repression mediated by the atypical homeodomain protein Hop. *J Clin Invest* 112: 863-871, 2003.
 - 47) Trivedi CM, Zhu W, Wang Q, et al: Hopx and Hdac2 interact to modulate Gata4 acetylation and embryonic cardiac myocyte proliferation. *Dev Cell* 19: 450-459, 2010.
 - 48) Murakami M, Nakagawa M, Olson EN, Nakagawa O: A WW domain protein TAZ is a critical coactivator for TBX5, a transcription factor implicated in Holt-Oram syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 18034-18039, 2005.
 - 49) Heallen T, Zhang M, Wang J, et al: Hippo pathway inhibits Wnt signaling to restrain cardiomyocyte proliferation and heart size. *Science* 332: 458-461, 2011.
 - 50) Bergemann AD, Cole F, Hirschhorn K: The etiology of Wolf-Hirschhorn syndrome. *Trends Genet* 21: 188-195, 2005.
 - 51) Nguyen AT, Xiao B, Nepl RL, et al: DOT1L regulates dystrophin expression and is critical for cardiac function. *Genes Dev* 25: 263-274, 2011.
 - 52) Tan X, Rotllant J, Li H, et al: SmyD1, a histone methyltransferase, is required for myofibril organization and muscle contraction in zebrafish embryos. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 2713-2718, 2006.
 - 53) Monzen K, Ito Y, Naito AT, et al: A crucial role of a high mobility group protein HMGA2 in cardiogenesis. *Nat Cell Biol* 10: 567-574, 2008.
 - 54) Shirai M, Osugi T, Koga H, et al: The Polycomb-group gene *Rac28* sustains *Nkx2.5/Csx* expression and is essential for cardiac morphogenesis. *J Clin Invest* 110: 177-184, 2002.
 - 55) Caretti G, Di Padova M, Micales B, et al: The Polycomb Ezh2 methyltransferase regulates muscle gene expression and skeletal muscle differentiation. *Genes Dev* 18: 2627-2638, 2004.
 - 56) Latinkic BV, Cooper B, Smith S, et al: Transcriptional regulation of the cardiac-specific *MLC2* gene during *Xenopus* embryonic development. *Development* 131: 669-679, 2004.
 - 57) Bhalla SS, Robitaille L, Nemer M: Cooperative activation by GATA-4 and YY1 of the cardiac B-type natriuretic peptide promoter. *J Biol Chem* 276: 11439-11445, 2001.
 - 58) Chen CY, Schwartz RJ: Competition between negative acting YY1 versus positive acting serum response factor and tinman homologue Nkx-2.5 regulates cardiac alpha-actin promoter activity. *Mol Endocrinol* 11: 812-822, 1997.
 - 59) Davis RL, Weintraub H, Lassar AB: Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblasts. *Cell* 51: 987-1000, 1987.
 - 60) Tapscott SJ, Davis RL, Thayer MJ, et al: MyoD1: a nuclear phosphoprotein requiring a Myc homology region to convert fibroblasts to myoblasts. *Science* 242: 405-411, 1988.
 - 61) Small EM, Warkman AS, Wang DZ, et al: Myocardin is sufficient and necessary for cardiac gene expression in *Xenopus*. *Development* 132: 987-997, 2005.
 - 62) Wang Z, Wang DZ, Pipes GC, Olson EN: Myocardin is a master regulator of smooth muscle gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 7129-7134, 2003.
 - 63) Ieda M, Fu JD, Delgado-Olguin P, et al: Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors. *Cell* 142: 375-386, 2010.
 - 64) Basson M: Singling out heart cells. *Nat Med* 13: 33, 2007.
 - 65) Kawai T, Takahashi T, Esaki M, et al: Efficient cardiomyogenic differentiation of embryonic stem cell by fibroblast growth factor 2 and bone morphogenetic protein 2. *Circ J* 68: 691-702, 2004.
 - 66) Gonzalez C, Pedrazzini T: Progenitor cell therapy for heart disease. *Exp Cell Res* 315: 3077-3085, 2009.
 - 67) Nussbaum J, Minami E, Laflamme MA, et al: Transplantation of undifferentiated murine embryonic stem cells in the heart: teratoma formation and immune response. *FASEB J* 21: 1345-1357, 2007.
 - 68) Blin G, Nury D, Stefanovic S, et al: A purified population of multipotent cardiovascular progenitors derived from primate pluripotent stem cells engrafts in postmyocardial infarcted nonhuman primates. *J Clin Invest* 120: 1125-1139, 2010.

