

## ポスター発表 | 基礎研究

■ 2025年7月12日(土) 9:30 ~ 10:20 ■ ポスター会場（文化会館棟 2F 第1・2ギャラリー）6

## ポスター発表 (III-P01-6)

## 基礎研究

座長：加藤 太一（名古屋大学大学院医学系研究科成長発達医学）

座長：篠原 務（名古屋市立大学大学院 新生児小児医学）

[III-P01-6-01]

EP4-EGFPレポーターゼブラフィッシュを用いた、EP4発現調節機序の解明

○吉田 賢司<sup>1,3</sup>, 伊藤 育<sup>1</sup>, 谷藤 章太<sup>1</sup>, 内田 敬子<sup>1</sup>, 南沢 享<sup>1,4</sup>, 川原 玄理<sup>2</sup>, 林 由起子<sup>2</sup>, 横山 詩子<sup>1</sup> (1.東京医科大学 細胞生理学分野, 2.東京医科大学 病態生理学分野, 3.東京慈恵会医科大学 小児科学講座, 4.ビューティ & ウェルネス専門職大学)

[III-P01-6-02]

肺動脈性肺高血圧症モデルラットにおけるシリビニンの作用

○川口 奈奈子, 張 ていてい, 羽山 恵美子, 古谷 喜幸, 中西 敏雄, 稲井 慶 (東京女子医科大学 循環器小児・成人先天性心疾患科)

[III-P01-6-03]

MultiplexPCRを用いた川崎病発症とウイルス感染の関連に関する検討

○今村 俊也, 三浦 大, 前田 潤, 山岸 敬幸 (東京都立小児総合医療センター 循環器科)

[III-P01-6-04]

マルチオミクス解析を用いたファロー四徴症における右室流出路狭窄の病態発生機序の解明

○鈴木 浩之<sup>1,2</sup>, 笠原 真悟<sup>1,2</sup>, 小谷 恭弘<sup>1,2</sup>, 黒子 洋介<sup>1,2</sup>, 小林 純子<sup>1,2</sup> (1.岡山大学学術研究院 医歯薬学域 心臓血管外科学, 2.岡山大学病院 心臓血管外科)

[III-P01-6-05]

心内膜由来組織マクロファージは心臓の形態形成と恒常性維持に寄与する

○劉 孟佳<sup>1,2</sup>, 中野 敦<sup>2</sup> (1.熊本大学 国際先端医学研究機構, 2.カリフォルニア大学ロサンゼルス校 分子発生生物学)

[III-P01-6-06]

患者iPS細胞由来の心筋細胞を用いたコネキシン45変異に関する研究

○古谷 喜幸<sup>1</sup>, 羽山 恵美子<sup>1</sup>, 西井 明子<sup>2,3,4</sup>, 川口 奈奈子<sup>1</sup>, 島田 光世<sup>1</sup>, 中西 敏雄<sup>1</sup>, 稲井 慶<sup>1</sup> (1.東京女子医科大学 循環器小児・成人先天性心疾患科, 2.東京女子医科大学 統合教育学修センター, 3.東京女子医科大学 予防医学科, 4.東京女子医科大学 循環器内科)

[III-P01-6-07]

Pitx2変異マウス胚における房室中隔欠損症のデジタル3次元画像解析

○三村 由依<sup>1</sup>, 竹下 直樹<sup>1,2</sup>, 佐波 理恵<sup>1,3</sup>, 榊 真一郎<sup>1,4</sup>, 八代 健太<sup>1</sup> (1.京都府立医科大学 大学院医学研究科 生体機能形態科学, 2.京都府立医科大学 大学院医学研究科 小児科学, 3.京都府立医科大学 大学院医学研究科 放射線診断治療学, 4.東京大学 大学院医学系研究科 小児科学)

## ポスター発表 | 基礎研究

■ 2025年7月12日(土) 9:30 ~ 10:20 ■ ポスター会場 (文化会館棟 2F 第1・2ギャラリー) 6

## ポスター発表 (III-P01-6)

## 基礎研究

座長：加藤 太一 (名古屋大学大学院医学系研究科成長発達医学)

座長：篠原 務 (名古屋市立大学大学院 新生児小児医学)

## [III-P01-6-01] EP4-EGFPレポーターゼブラフィッシュを用いた、EP4発現調節機序の解明

○吉田 賢司<sup>1,3</sup>, 伊藤 育<sup>1</sup>, 谷藤 章太<sup>1</sup>, 内田 敬子<sup>1</sup>, 南沢 享<sup>1,4</sup>, 川原 玄理<sup>2</sup>, 林 由起子<sup>2</sup>, 横山 詩子<sup>1</sup> (1.東京医科大学 細胞生理学分野, 2.東京医科大学 病態生理学分野, 3.東京慈恵会医科大学 小児科学講座, 4.ビューティ&ウェルネス専門職大学)

キーワード：EP4、ゼブラフィッシュ、薬剤スクリーニング

【背景】プロスタグランジンE<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) 受容体EP4は、出生時に動脈管において発現が上昇することが知られており、動脈管閉鎖に大きく寄与している。しかしその発現調節の分子メカニズムは完全には解明されていない。ゼブラフィッシュは生体内の蛍光シグナルを直接観察できるため、ハイスループットな薬剤スクリーニングに広く用いられている。

【目的】EP4-EGFPレポーターゼブラフィッシュ系統を樹立し、EP4発現調節機構を解明し動脈管を制御するための新たな創薬の標的となりうるEP4発現を制御する化合物の同定を行う。

【方法】ヒトEP4のオルソログであるゼブラフィッシュEP4b遺伝子のプロモーター候補領域をTol2ベクターにサブクローニングした後受精卵に導入し、EP4-EGFPレポーターゼブラフィッシュ系統を確立した。EGFPと内在性EP4bに関して、成魚における臓器別発現量をqPCRで比較した。また稚魚のEGFPシグナルを蛍光実体顕微鏡で撮影し、ImageJで定量評価した。

【結果】EF1aに対する相対的発現量は、内在性EP4bは脳(0.49-1.68倍)で眼と同等、心臓(0.12-1.07倍)や肝臓(0.01-0.48倍)で有意に少なかった。またEGFPは脳(0.96-2.84倍)で眼と同等、心臓(0.12-0.92倍)や肝臓(0.01-0.10倍)で有意に少なく、これは内在性EP4bと同様の傾向を示した(n=10)。また胚や稚魚では体幹神経堤にEGFPシグナルが観察され、先行報告の*in situ* hybridizationで検出された内在性EP4b発現部位と一致した。さらに目の近傍に強いEGFPシグナルを新たに確認し、ImageJのIntegrated Densityで定量可能であった。signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) 阻害剤投与で、有意差は得られなかったもののEGFPの蛍光強度は低下傾向であった。

【結論】EP4-EGFPレポーターゼブラフィッシュは内在性EP4発現を一部再現しており、EP4発現を制御する薬剤スクリーニングに有用なツールとなりうる。

## ポスター発表 | 基礎研究

■ 2025年7月12日(土) 9:30 ~ 10:20 ■ ポスター会場（文化会館棟 2F 第1・2ギャラリー）6

## ポスター発表 (III-P01-6)

## 基礎研究

座長：加藤 太一（名古屋大学大学院医学系研究科成長発達医学）

座長：篠原 務（名古屋市立大学大学院 新生児小児医学）

## [III-P01-6-02] 肺動脈性肺高血圧症モデルラットにおけるシリビニンの作用

○川口 奈奈子, 張 ていてい, 羽山 恵美子, 古谷 喜幸, 中西 敏雄, 稲井 慶 (東京女子医科大学 循環器小児・成人先天性心疾患科)

キーワード：肺動脈性肺高血圧症、シリビニン、骨髓細胞

**背景** 以前本学会で、肺動脈性肺高血圧症(PAH)モデルラットにおける肺動脈、肺のCXCR4発現が上昇することを報告した。CXCR4はサイトカインの一種であるケモカイン(SDF1)の受容体である。さらに、CXCR4阻害剤であり、抗酸化作用、抗炎症作用を持つシリビニンがPAHモデルラットに対して右心室圧低下などの症状緩和効果を有することを報告した。シリビニンはマリアアザミの種子から抽出されるフラボノイドである。**目的** CXCR4阻害剤プレリキサホル（商品名モゾビル）は、骨髓の造血幹細胞を末梢血中に動員させるために、多発性骨髓腫などの治療の一環としてG-CSFとともに用いられているので、シリビニンが作用する細胞が骨髓に存在すると考えた。また、PAHの症状と炎症が関連すると考えられているので、骨髓細胞に対するシリビニンの作用を検討した。**方法** モノクロタリン投与と低酸素飼育（2週間）によって作製したPAHモデル（PAH）群およびコントロール(C)群由来の骨髓細胞を培養し、シリビニンおよびプレリキサホルに対する作用を遺伝子発現解析およびフローサイトメトリー解析により検討した。**結果** シリビニンは、C群、PAH群両方において培養骨髓細胞のCXCR4発現を増加させたが、PAH群においてより上昇させた（qPCR）。プレリキサホルには同濃度でこのような作用は観察されなかった。さらに、シリビニン処理によってCXCR4発現細胞が増加すること、それは顆粒球とマクロファージであることが分かった（フローサイトメトリー）。**結論** シリビニンは肺、肺動脈のCXCR4の発現を抑制するとともに、骨髓由来の細胞にも作用して、顆粒球、マクロファージを増加させる可能性がある。これにより、早く免疫が作用し、抗炎症作用によって肺動脈肥厚を抑制したと考えられる。また、シリビニンはプレリキサホルとは異なる作用をする可能性がある。

## ポスター発表 | 基礎研究

■ 2025年7月12日(土) 9:30 ~ 10:20 ■ ポスター会場（文化会館棟 2F 第1・2ギャラリー）6

## ポスター発表（III-P01-6）

## 基礎研究

座長：加藤 太一（名古屋大学大学院医学系研究科成長発達医学）

座長：篠原 務（名古屋市立大学大学院 新生児小児医学）

## [III-P01-6-03] MultiplexPCRを用いた川崎病発症とウイルス感染の関連に関する検討

○今村 俊也, 三浦 大, 前田 潤, 山岸 敬幸 (東京都立小児総合医療センター 循環器科)

キーワード：川崎病、病因、RSウイルス

## 【背景】

川崎病の病因は明らかでないが、何らかの感染症が誘因になりうることが指摘されている。先行感染をきたすウイルスの種類は報告ごとにばらつきが見られる。

## 【目的】

川崎病の発生と各種呼吸器系ウイルス感染の流行との時期的関連性を明らかにする。

## 【方法】

2020年1月から2024年9月の間に当院で検査を行ったMultiplexPCR（FilmArray呼吸器パネル®）の各種ウイルスの検出結果と、川崎病の入院患者数を後方視的に解析した。ウイルスの検出数と川崎病の週ごとの発生数をポアソン回帰モデルで分析した。対象ウイルスはSARS-CoV-2、ヒトメタニューモウイルス、RSウイルス、パラインフルエンザウイルス3型である。

## 【結果】

対象は、川崎病患者524人（0歳2か月～8歳9か月、中央値2歳、男294人）とMultiplexPCR 16,402件だった。週ごとの川崎病の発生数と、4週間前のRSウイルスの検出数に有意な関連が見られた（リスク比1.023, 95%信頼区間1.004-1.042）。一方で、SARS-CoV-2、ヒトメタニューモウイルス、パラインフルエンザウイルス3型は、いずれも感染の流行が川崎病の発生数の上昇に先行していたが、リスク比（95%信頼区間）は、それぞれ1.002(0.991-1.012)、1.006(0.975-1.038)、1.001(0.975-1.027)と有意な関連はみられなかった。

## 【考察】

気道ウイルスの感染、特にRSウイルスの流行が川崎病の発症に約1か月先行していることが示唆された。川崎病は自然免疫系の活性化により血管炎を引き起こすと考えられ、ウイルス感染の免疫応答による時間的差異が川崎病の発症に関与している可能性がある。全国調査によれば、川崎病の発生数は、以前は1月に多発していたが、2021年から8月に多くなっている。この変化は、近年RSウイルス感染が7～8月にピークを示していることで説明ができるかもしれない。

【結論】 RSウイルスを含む気道感染が川崎病を誘発する可能性が示唆された。

## ポスター発表 | 基礎研究

📅 2025年7月12日(土) 9:30 ~ 10:20 📍 ポスター会場 (文化会館棟 2F 第1・2ギャラリー) 6

## ポスター発表 (III-P01-6)

## 基礎研究

座長：加藤 太一 (名古屋大学大学院医学系研究科成長発達医学)

座長：篠原 務 (名古屋市立大学大学院 新生児小児医学)

## [III-P01-6-04] マルチオミクス解析を用いたファロー四徴症における右室流出路狭窄の病態発生機序の解明

○鈴木 浩之<sup>1,2</sup>, 笠原 真悟<sup>1,2</sup>, 小谷 恭弘<sup>1,2</sup>, 黒子 洋介<sup>1,2</sup>, 小林 純子<sup>1,2</sup> (1.岡山大学学術研究院 医歯薬学域 心臓血管外科学, 2.岡山大学病院 心臓血管外科)

キーワード：ファロー四徴症、右室流出路狭窄、マルチオミクス解析

【背景】ファロー四徴症では肺動脈弁および右室流出路狭窄の程度により手術術式が変わり長期予後に大きく影響するが、その発生機序は解明されていない。本研究では、次世代シーケンサーを中心としたマルチオミクス解析によりファロー四徴症における右室流出路狭窄の分子生物学的病態解明を試みた。【方法】当院でファロー四徴症根治術を施行した患者14名から術中に切除した右室流出路心筋を採取しRNA sequencingおよびwhole exome sequencingを行った。根治術時の肺動脈弁輪径の大きさにA群 (z-score > -3, n=6) およびB群 (z-score < -3, n=8) に分け、2群間での発現変動遺伝子および関連遺伝子変異を検討した。

【結果】2群間での有意な発現変動遺伝子は35個(false discovery rate: FDR < 0.1)あり、A群よりB群で発現が増強した遺伝子が22個、発現が減弱した遺伝子が13個だった。GOエンリッチメント解析ではcell lineage map for neuronal differentiation、negative regulation of cellular component organization、organic anion transportが上位3位となった。35個の発現変動遺伝子についてwhole exome sequencingでは2群間で有意な遺伝子変異・バリエーションは認めなかった。発現変動遺伝子のうち右室発生に関与するとされている遺伝子についてはHAND2を認め、A群に比較しB群で有意に発現減弱していた(logFC: -0.43, p < 0.01)。【結語】マルチオミクス解析により、ファロー四徴症における右室流出路狭窄は遺伝子変異を伴わない遺伝子発現異常が病態発生機序となっており、また右室発生に関連する遺伝子であるHAND2発現低下が関与している可能性が示唆された。

## ポスター発表 | 基礎研究

📅 2025年7月12日(土) 9:30 ~ 10:20 📍 ポスター会場（文化会館棟 2F 第1・2ギャラリー） 6

## ポスター発表（III-P01-6）

## 基礎研究

座長：加藤 太一（名古屋大学大学院医学系研究科成長発達医学）

座長：篠原 務（名古屋市立大学大学院 新生児小児医学）

## [III-P01-6-05] 心内膜由来組織マクロファージは心臓の形態形成と恒常性維持に寄与する

○劉 孟佳<sup>1,2</sup>, 中野 敦<sup>2</sup> (1.熊本大学 国際先端医学研究機構, 2.カリフォルニア大学ロサンゼルス校 分子発生生物学)

キーワード：心内膜性造血、心臓マクロファージ、心内膜床

心臓がポンプとして効果的に機能するためには、胚発生中の適切な形態形成が重要だ。心臓の内部構造は短期間で劇的な変化を遂げ、新生児期に至るまでリモデリングが続く。心臓のルーピング後、流出路や房室管領域の心内膜細胞は内皮間葉転換（EndoMT）を経て心内膜床を形成し、最終的に心臓弁や中隔へとリモデリングされる。近年の我々の研究では、Nkx2-5の下流でNotchシグナルが活性化することにより、心内膜細胞がEndoMTと時空間的に一致して内皮造血転換（EHT）も行うこと、またこの心内膜性造血は心内膜床のリモデリングに寄与する組織マクロファージとなることが明らかとなった（Liu et al. Nat Commun. 2023; Liu & Nakano, Front Physiol. 2024）。これらの知見は、哺乳類における胚性造血が卵黄嚢や大動脈-生殖腺-中腎（AGM）領域でのみ行われるという従来の概念を覆し、心臓発生の新たな側面を提示するものであった。心内膜細胞由来の組織マクロファージは、常在型マクロファージとして成体心臓組織内に居続けるが、その役割は全くわかっていない。我々は、心内膜細胞系譜を持つ組織マクロファージのレポーターマウスおよび欠損マウスを用いて、局在と役割を解析した。その結果、心内膜由来マクロファージは血管や心臓弁に局在し、組織線維化を抑えている可能性を示唆するデータが得られた。以上から本研究は、心臓が胎生期の局所造血の場となって組織マクロファージを局所に供給することで、心臓の形態形成および恒常性維持に寄与することを示した。

## ポスター発表 | 基礎研究

■ 2025年7月12日(土) 9:30 ~ 10:20 ■ ポスター会場 (文化会館棟 2F 第1・2ギャラリー) 6

## ポスター発表 (III-P01-6)

## 基礎研究

座長：加藤 太一 (名古屋大学大学院医学系研究科成長発達医学)

座長：篠原 務 (名古屋市立大学大学院 新生児小児医学)

## [III-P01-6-06] 患者iPS細胞由来の心筋細胞を用いたコネキシン45変異に関する研究

○古谷 喜幸<sup>1</sup>, 羽山 恵美子<sup>1</sup>, 西井 明子<sup>2,3,4</sup>, 川口 奈奈子<sup>1</sup>, 島田 光世<sup>1</sup>, 中西 敏雄<sup>1</sup>, 稲井 慶<sup>1</sup> (1.東京女子医科大学 循環器小児・成人先天性心疾患科, 2.東京女子医科大学 統合教育学修センター, 3.東京女子医科大学 予防医学科, 4.東京女子医科大学 循環器内科)

キーワード：ヒトiPS細胞分化心筋細胞、心機能、興奮伝播速度

【背景】 遺伝性心疾患患者のiPS細胞 (iPSC) から分化誘導して得られる心筋細胞 (iPSC-CM) は、患者心筋に代わり、遺伝子変異による細胞機能変化の評価に用いることができる。コネキシン (Cx) は隣接する細胞間の物質の輸送を司るギャップジャンクション蛋白の一つである。心臓にはCx40, 43, 45が発現し、Cx45は心臓では刺激伝導系に局限して存在する。Cx45の変異 (p.R75H) は、心房に局限した伝導障害を引き起こした。【目的】 iPSC-CMを用いて、コネキシン45変異による影響を評価する。【方法】 健常者およびCx45変異をもつ患者の不死化B細胞株から山中因子を導入してiPSCを作製した。免疫染色法により多分化能マーカーを検出し、STEMdiff Trilineage Differentiation kit (STEMCELL Technologies)を用いて三胚葉分化能の検定を行った。これらのiPSCから接着法によりCMを誘導し、乳酸を含む培地により純化した。このCMを多点平面微小電極プローブ (MED64, Alpha MED Scientific) 上に接着・培養して、外部電流を測定した。【結果】 不死化B細胞株から作成したiPSCは、多分化能マーカーであるTRA-1 60, SSEA4, Oct4を発現した。iPSCをin vitroで三胚葉へ分化すると、いずれも内胚葉マーカー (FOXA2)、中胚葉マーカー (NCAM1)、外胚葉マーカー (PAX6) を発現した。iPS-CMの電気生理的指標をMEDシステムにより検討したところ、Cx45変異をもつiPS-CMのFPDは健常に比べて短く、興奮伝播速度は遅い傾向が示された。【結論】 患者iPS-CMを用いて、Cx45変異による伝導率の変化などの電気生理学指標の変化を検出することができた。遺伝子変異による細胞機能変化の評価に、本研究法は有用である。

## ポスター発表 | 基礎研究

📅 2025年7月12日(土) 9:30 ~ 10:20 📍 ポスター会場（文化会館棟 2F 第1・2ギャラリー）6

## ポスター発表 (III-P01-6)

## 基礎研究

座長：加藤 太一（名古屋大学大学院医学系研究科成長発達医学）

座長：篠原 務（名古屋市立大学大学院 新生児小児医学）

## [III-P01-6-07] Pitx2変異マウス胚における房室中隔欠損症のデジタル3次元画像解析

○三村 由依<sup>1</sup>, 竹下 直樹<sup>1,2</sup>, 佐波 理恵<sup>1,3</sup>, 榎 真一郎<sup>1,4</sup>, 八代 健太<sup>1</sup> (1.京都府立医科大学 大学院医学研究科 生体機能形態科学, 2.京都府立医科大学 大学院医学研究科 小児科学, 3.京都府立医科大学 大学院医学研究科 放射線診断治療学, 4.東京大学 大学院医学系研究科 小児科学)

キーワード：房室中隔欠損、Dorsal mesenchymal protrusion、デジタル3D画像解析

Bicoid型ホメオドメイン転写因子 PITX2は、マウス初期胚の左の側板中胚葉で左右非対称に発現し、臓器の左側の形態を規定する。先行研究によれば、左右非対称なPitx2の発現を欠くPitx2  $\Delta$ ASE/ $\Delta$ ASE変異マウスでは、房室中隔欠損症 (Atrioventricular septal defect; AVSD) を含む複雑先天性心疾患を生じることが示されている。房室中隔の形成には、右心房の下大静脈開口部付近から心房内腔に向けて突出する背側間葉突起 (Dorsal mesenchymal protrusion; DMP) とよばれる棘状の構造物が、重要な役割を果たすと考えられている。しかし、左右非対称なPitx2の発現とDMPの形成との関係は、多くが不明のままである。本研究では、左右非対称なPitx2の発現が心臓形態に及ぼす影響を精査するため、Pitx2  $\Delta$ ASE/ $\Delta$ ASE変異マウス胚の心臓を、野生型マウス胚の心臓と比較し、特に房室中隔の形成過程に焦点を当て、デジタル3次元 (3D) 画像解析を行った。Pitx2を発現した履歴を持つ細胞を遺伝学的にEYFPで標識できる遺伝子改変マウスを用い、受精後13.5日の胚心臓に対して、心筋(ミオシン重鎖)、内皮または心内膜 (PECAM1)、Pitx2発現細胞系譜 (EYFP) および核 (DAPI) に対し、全胚蛍光免疫染色を実施した。その後、CUBIC法による組織透明化を行い、光シート蛍光顕微鏡にて断層画像を取得した。得られた画像から3D画像を構築し、野生型と変異型の形態を詳細に比較した。その結果、Pitx2  $\Delta$ ASE/ $\Delta$ ASE変異マウス胚ではDMPの欠失が確認され、これにより房室中隔欠損を生じたと考えられた。本研究により、DMPの形成には初期胚中胚葉における左右性の確立が必要であることが判明した。