

報道関係各位

2021年10月28日  
東京慈恵会医科大学  
理化学研究所  
群馬大学

## VATER 症候群に類似する新規モデルマウスの作製に成功 —VATER 症候群の病態・発症メカニズムの解明に期待—

### 【本研究成果のポイント】

- Dyrk2<sup>[1]</sup>遺伝子を欠損したマウスを新たに作製し、これまでのどのマウスより指定難病である VATER 症候群<sup>[2]</sup>に近い病態を示している事を発見しました。
- Dyrk2 欠損マウスは呼吸不全により出生直後致死となり、Dyrk2 が Shh<sup>[3]</sup>-Foxf1<sup>[4]</sup>発現制御を介して発生初期の肺形成に働くことを見出しました。

東京慈恵会医科大学 生化学講座の與五沢里美講師、吉田清嗣教授、理化学研究所 生命機能科学研究センター 呼吸器形成研究チーム 森本充チームリーダー、群馬大学 生体調節研究所ゲノム科学リソース分野 堀居拓郎准教授、畑田出穂教授らの共同研究グループは、Dyrk2 遺伝子を欠損させたマウスを新たに作製して解析を進めたところ、国の指定難病である VATER 症候群と類似した病態を示すことを発見しました。

本研究成果により、Dyrk2 欠損マウスが VATER 症候群の病態・発症メカニズムを解明する新規の有用なモデルになり、診断法・治療法の開発に繋がることが期待されます。

### 【研究概要】

国の指定難病である VATER 症候群は、多発先天性奇形症候群の一つであり、V = 椎体異常、A = 肛門奇形、TE = 気管食道瘻、R = 橈骨奇形及び腎奇形という 5 徴候の頭文字の組み合わせで命名され、C = 心奇形、L = 四肢奇形を含めて VACTERL 連合とも称されます。

VATER 症候群の発症メカニズムと根本的な治療法は確立されておらず、発症メカニズムの解明と新たな治療法の開発が急務となっています。

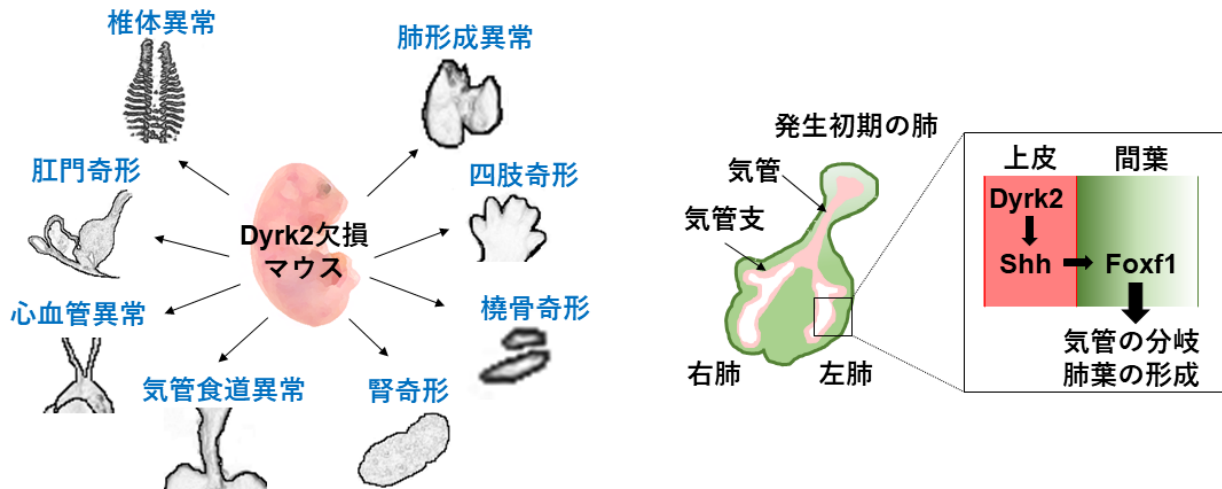
今回、研究グループは、CRISPR/Cas9 ゲノム編集法<sup>[5]</sup>を用いて Dyrk2 欠損マウスを新たに作製し、本マウスが呼吸不全により出生直後致死となることを見出しました。

このマウスの胎児での状態を解析した結果、様々な組織形成異常を見出し、その表現型が多発先天性奇形症候群の一つである VATER 症候群に酷似した病態を示すことを発見しました（概要図）。

また、発生初期の肺において、Dyrk2 が Shh-Foxf1 発現制御を介して気管支形成に働くことを見出しました。

本研究は、2021年10月20日付けで英科学誌『Communications Biology』に掲載されました。

## 概要図



VATER 症候群に類似する Dyrk2 欠損マウスの表現型（右）と肺形成における Dyrk2 の機能（左）

### 【研究結果の意義】

Dyrk2 が欠損したマウスは VATER 症候群と類似した病態を示しました。今後、新たなモデルマウスとして解析を進めることにより VATER 症候群の病態・発症メカニズムの解明、診断法・治療法の開発に繋がることが期待されます。

また、Dyrk2 が肺をはじめとする様々な組織形成に重要な役割を担う分子であることが新たに示されました。この知見により、組織形成の分子機序の理解や発生異常の病態解明が進むことが期待されます。

### 【報道機関からのお問い合わせ窓口】

学校法人慈恵大学 経営企画部 広報課

Tel : 03-5400-1280

E-mail : [koho@jikei.ac.jp](mailto:koho@jikei.ac.jp)

理化学研究所 広報室 報道担当

E-mail : [ex-press@riken.jp](mailto:ex-press@riken.jp)

国立大学法人群馬大学 昭和地区事務部総務課研究所庶務係

Tel : 027-220-8822

E-mail : [kk-msomu4@jimu.gunma-u.ac.jp](mailto:kk-msomu4@jimu.gunma-u.ac.jp)

# 研究の詳細

## 1、背景

VATER 症候群は、V = 椎体異常、A = 肛門奇形、TE = 気管食道瘻、R = 橈骨奇形及び腎奇形という 5 徴候の頭文字の組み合わせで命名されており、多発奇形を伴う国の指定難病の一つです。上記の 5 徴候に加えて、C = 心奇形、L = 四肢奇形が合併する事もあり、この場合、VACTERL 連合と称します。しかし、その発症メカニズムと効果的な治療方法は確立されておらず、外科的治療、リハビリなど対症療法のみであり、生涯にわたり、合併症ごとの継続的な治療とリハビリが必要となります。したがって、VATER 症候群の発症メカニズムの解明と新たな治療法の開発が急務となっており、その研究に役立つモデルマウスの作製が期待されています。

## 2、研究手法と成果

研究グループは、これまで Dyrk2 の機能解明を行っており、マウス個体レベルにおける生理的機能を明らかにするため、CRISPR/Cas9 ゲノム編集法を用いて Dyrk2 欠損マウスを作製し、その表現型と疾患との関連性について解析を進めました。

Dyrk2 欠損マウスは、出生直前の胎生 18.5 日目までは生存していましたが、出生直後に呼吸不全を引き起こし、致死となることがわかりました。そこで、Dyrk2 欠損マウスの胎生期の解析を行ったところ、Dyrk2 欠損胎児は、椎体異常、肛門奇形、心血管異常、気管食道異常、腎奇形、橈骨奇形、四肢奇形、肺形成異常の表現型を認め、VATER 症候群の病態と類似することを新たに発見しました (図 1、表 1)。

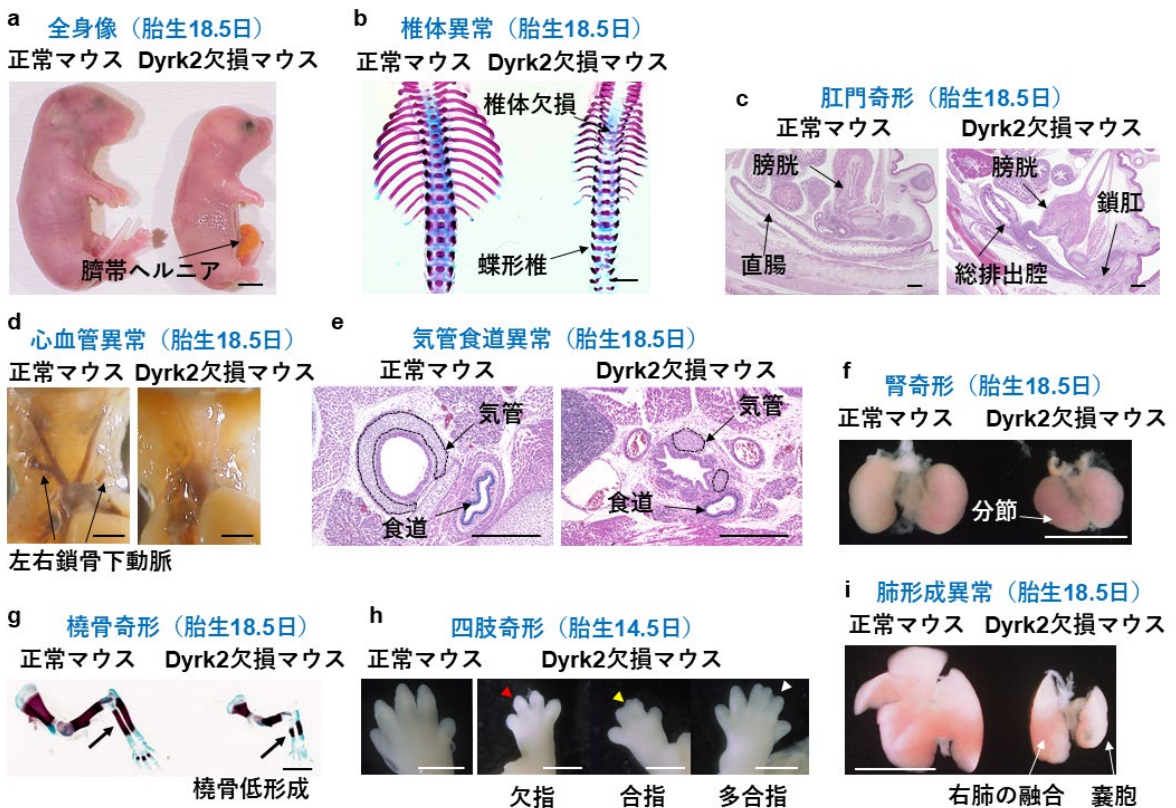


図 1 VATER 症候群と類似する Dyrk2 欠損マウスの表現型

a-i) Dyrk2 欠損マウスでは、様々な組織形成異常が認められた。また顔面低形成、臍帯ヘルニアが認められた。スケールバーは 3mm(a, f, g, i)、1.5mm(b)、400  $\mu$ m(c)、1mm(d, e, h)。

表 1 Dyrk2 欠損マウスの表現型のまとめ

椎体異常（椎体の欠損、蝶形椎）
肛門奇形（鎖肛、臍帯ヘルニア、短腸、総排泄腔遺残）
心血管異常（左右鎖骨下動脈の欠損）
気管食道異常（気管食道狭窄、気管軟骨形成異常）
腎奇形（分節、尿路管形成異常）
橈骨奇形（橈骨の低形成）
四肢奇形（欠指、合指、多指）
肺形成異常（低形成、気管の分岐異常、肺葉の融合、嚢胞）

次に、Dyrk2 欠損マウスにおける呼吸不全の原因を明らかにするため、肺形成における Dyrk2 の機能を調べました。初めに、肺における Dyrk2 の発現を調べたところ、Dyrk2 は、胎生 11.5 日目の肺において気管上皮細胞<sup>[6]</sup>に発現しており、特に、胎生 18.5 日目の肺において、気管上皮細胞の一種である繊毛細胞<sup>[7]</sup>に発現していることがわかりました。このことから、Dyrk2 は、肺形成を通して気管上皮に発現していることがわかりました（図 2）。

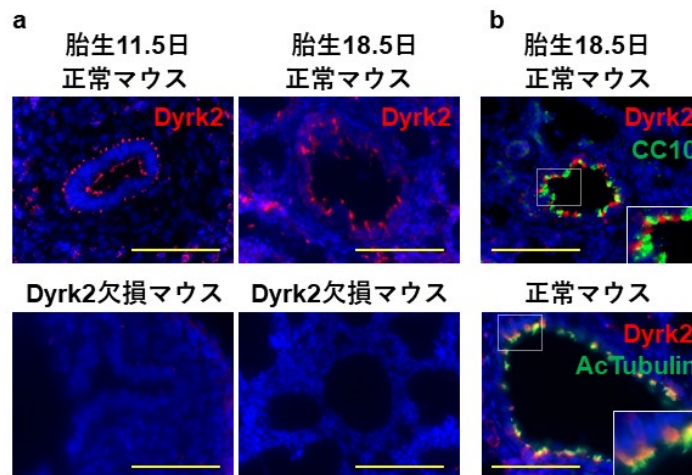
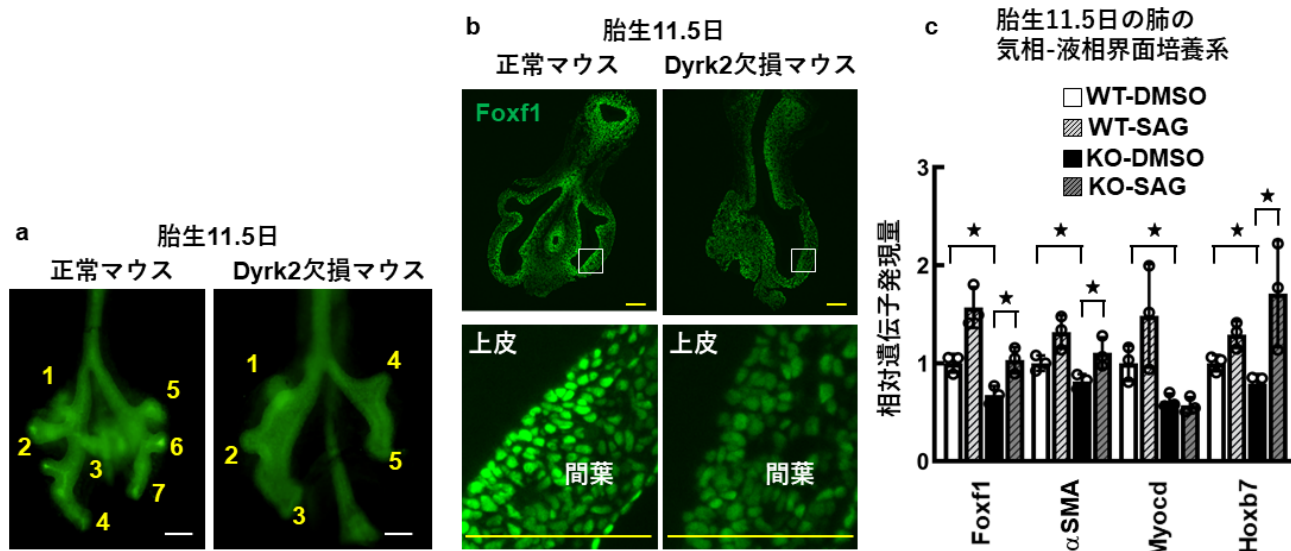


図 2 肺形成における Dyrk2 の発現

a) Dyrk2 (赤) は、胎生 11.5、18.5 日の肺において、気管上皮細胞に発現していることが示された。  
 b) Dyrk2 (赤) は、胎生 18.5 日の肺において、クラブ細胞<sup>[8]</sup>マーカーである CC10 (緑) ではなく、繊毛細胞マーカーである AcTubulin (緑) と共染色されることが示された。全ての細胞の核を青色で染色している。スケールバーは全て 100 μm。



次に、Dyrk2 欠損マウスの肺発生初期の異常を調べたところ、胎生 11.5 日目の Dyrk2 欠損肺において、気管支の分岐異常と間葉<sup>[9]</sup>に発現している Foxf1 の濃度勾配の消失が認められました。さらに Dyrk2 欠損肺の気相-液相界面培養系<sup>[10]</sup>において、Shh シグナルを活性化すると Foxf1 と下流遺伝子発現の回復が認められました。このことから、Dyrk2 は、Shh-Foxf1 シグナルを介して肺形成に働くことが明らかとなりました (図 3)。



**図 3 Dyrk2 欠損肺における Shh-Foxf1 シグナルを介した肺の分岐**

- a) 胎生 11.5 日目の肺における気管の分岐の様子。マウス胎児の気管上皮を E-Cadherin (緑) で染色し分岐数を調べると、Dyrk2 欠損肺では分岐数が減少しており、分岐の遅延が認められた。
- b) 胎生 11.5 日目の肺における Foxf1 の発現 (緑)。正常マウスでは、上皮直下において Foxf1 の濃度勾配が認められるが、Dyrk2 欠損肺では、Foxf1 の濃度勾配の消失が認められた。
- c) 胎生 11.5 日目の肺の気相-液相界面培養系における Foxf1 とその下流遺伝子発現。smoothened agonist (SAG)により Shh シグナル活性化すると、Dyrk2 欠損での Foxf1 とその下流遺伝子発現の回復が認められた。スケールバーは全て 100  $\mu$ m。

本研究から、Dyrk2 が様々な組織の形態形成に重要な役割に担う分子であること、特に気管支の分岐構造の形成に寄与することを新しく発見しました。また、Dyrk2 欠損マウスが、今後、VATER 症候群の病態・発症メカニズムを解明する有用なモデルとなる可能性を明らかにしました。

### 3、補足説明

#### [1] Dyrk2

癌細胞の増殖、転移などを抑制する癌抑制因子として働くリン酸化酵素。Dual-specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase 2 の略。

#### [2] VATER 症候群

多発先天性奇形症候群の一つであり、厚生労働省の希少難病に指定されている。「VATER 5 徴候の 3 徴候以上」として診断されることが多い。C=心奇形、L=四肢奇形が合併する事もある。

### [3] Shh

発生において体の形作りに中心的な役割を果たす分泌因子。Sonic Hedgehog の略。

### [4] Foxf1

肺の形態形成に重要な転写因子。Shh シグナルの標的遺伝子であり、間葉系細胞で産生される。Forkhead box F1 の略。

### [5] CRISPR/Cas9 ゲノム編集法

Cas9 という DNA 切断酵素と人工的にデザインしたガイド RNA (gRNA) などを細胞に導入し、ゲノム局所を選択的に改変する手法。標的遺伝子の一部の配列を組み込んだ gRNA を用いることで、標的遺伝子を破壊したり改変したりすることができる。

### [6] 気管上皮細胞

口・鼻からつながる気管の表面を覆うシート状の細胞。外界から体内の構造を保護するバリア機能のほか、栄養分の吸収や生理活性物質の分泌など、外界との物質の交換に働く。

### [7] 繊毛細胞

気管上皮細胞の一種。表面に繊毛を持ち、周囲の液体に流れを生じさせる細胞。体内に入った異物や細菌を繊毛運動により体外へと排出させる。

### [8] クラブ細胞

気管上皮細胞の一種で、ドーム型の分泌細胞。粘液を分泌し、湿度の保持や細い管構造の維持に役立っている。

### [9] 間葉

中胚葉に由来する未分化の疎性結合組織の一種。器官形成の段階では、外胚葉や内胚葉由来の上皮組織と接していることが多い。

### [10] 気相-液相界面培養系

セルカルチャーインサートの多孔メンブレン上に肺を置き、肺の上側を気相、メンブレンの下側を液相とする培養法。

## 4、論文情報

雑誌名：Communications Biology

タイトル：“Mice lacking DYRK2 exhibit congenital malformations with lung hypoplasia and altered Foxf1 expression gradient”

著者：Satomi Yogosawa, Makiko Ohkido, Takuro Horii, Yasumasa Okazaki, Jun Nakayama, Saishu Yoshida, Shinya Toyokuni, Izuhō Hatada, Mitsuru Morimoto, and Kiyotsugu Yoshida.

## 5、本研究への主な支援

本研究は、主に日本学術振興会（JSPS）科学研究費補助金（JP 17K08672, 17H03584, 20H03519, JP16H06276 (AdAMS)）、東京慈恵会医科大学研究奨励費、日本心臓財団研究奨励、上原記念生命科学財団による支援を受けて行われました。

## 6、研究メンバー・本研究に関するお問い合わせ先

東京慈恵会医科大学 医学部

生化学講座 講師 與五沢里美（よごさわ さとみ）E-mail : syogosawa@jikei.ac.jp

生化学講座 教授 吉田清嗣（よしだ きよつぐ）E-mail : kyoshida@jikei.ac.jp

理化学研究所 生命機能科学研究センター

呼吸器形成研究チーム チームリーダー 森本充（もりもと みつる）

群馬大学 生体調節研究所

ゲノム科学リソース分野 教授 畑田出穂（はただ いずほ）

ゲノム科学リソース分野 准教授 堀居拓郎（ほりい たくろう）

以上