

令和 4 年 10 月 17 日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22629

研究課題名（和文）脂肪酸代謝と心筋再生

研究課題名（英文）Fatty acid metabolism and cardiomyocyte cell cycle regulation

研究代表者

木村 航（Wataru, Kimura）

国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・チームリーダー

研究者番号：60452182

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：我々のような哺乳類の成体は損傷を受けた心筋を再生できない。この主な原因は、哺乳類の心臓ではほとんどの心筋細胞が出生後すぐの新生仔期に増殖能を失うことである。本研究では出生後の糖代謝から脂肪酸代謝への栄養状態の変化が心筋細胞周期停止を誘導しているというキー仮説を設定し、これを検証した。その結果、出生後の心筋細胞での細胞周期停止における脂肪酸代謝の重要性を明らかにし、出生後の細胞周期制御を担う新規因子を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々を含む脊椎動物では、心筋細胞が細胞周期に入る能力と心臓再生能とは完全に対応しており、心筋細胞の細胞周期制御機構の理解は、新たな心臓再生法の開発のためには不可欠である。我々は出生後の心筋細胞において細胞周期制御を担う新規因子AMPKを同定した。本因子AMPKの操作により心筋細胞増殖による心筋再生が誘導可能であれば、心疾患に対する新規治療法の開発につながる可能性があると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The adult mammalian heart is incapable of regeneration following myocardial injury mainly due to the lack of proliferative capacity in vast majority of cardiomyocytes. In contrast, early neonatal mammals can regenerate lost myocardium through proliferation of pre-existing cardiomyocytes. However, cardiomyocyte cell cycle is arrested in short period of time after birth.

In this study we assessed the role of fatty acid metabolism in cardiomyocyte cell cycle regulation in the neonatal heart. We identified a new regulator, namely AMPK, which is inactivated in neonatal cardiomyocytes and is responsible for the regulation of cardiomyocyte cell cycle. We are currently testing whether artificial regulation of AMPK can induce cardiac regeneration in postnatal mice.

研究分野：再生生物学

キーワード：心筋細胞 細胞周期 ミトコンドリア 脂肪酸 酸化 心筋梗塞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我々を含む脊椎動物では、心筋細胞が細胞周期に入る能力と心臓再生能とは完全に対応しており、心筋細胞の細胞周期制御機構の理解は、新たな心臓再生法の開発のためには不可欠である。我々は、哺乳類では出生後の酸素環境の変化が心筋細胞の細胞周期停止に重要であることを明らかにしてきた。一方、酸素濃度の変化だけでは心筋細胞の細胞周期停止をすべて説明できないことから、酸素濃度以外の出生後の環境変化が心筋細胞の細胞周期停止を誘導している可能性も同時に示唆された。

栄養状態の変化は哺乳類の周産期に起こる大きな変化のひとつである。胎仔期の心筋細胞でのエネルギー産生は糖代謝がほとんどを占めるのに対し、出生後には血中インスリン量が急激に減少するとともに母乳の経口摂取により血中の脂肪酸量が大幅に増加する。これに対応して心筋細胞の主なエネルギー源は糖から脂肪酸へと急激に切り替わる。この切り替わりは心筋細胞の成熟に重要であることが知られている。しかし細胞周期制御との関係に注目した研究はなく、脂肪酸代謝と心臓再生との関連も明らかにされていない。そこで本研究では脂肪酸代謝をターゲットにし心筋細胞増殖を誘導するという新しい概念の提唱に挑戦することにした。

2. 研究の目的

我々のような哺乳類の成体は損傷を受けた心筋を再生できない。この主な原因は、哺乳類の心臓ではほとんどの心筋細胞が出生後すぐの新生仔期に増殖能を失うことである。我々は出生後の酸素環境の変化が心筋細胞の増殖停止に重要であることを示した。しかし酸素環境以外の環境要因も細胞周期制御に重要である可能性が同時に示された。そこで本研究では出生後の糖代謝から脂肪酸代謝への栄養状態の変化が心筋細胞周期停止を誘導しているというキー仮説を設定し、これを検証する。哺乳類では胎仔期の胎盤を介した栄養交換から出生後には脂質に富んだ母乳の経口摂取へと栄養状態が大きく変更し、心筋細胞は胎児期の糖代謝から、出生後は脂肪酸代謝へと主要な ATP 産生源が大きく変化する。このような栄養状態の変化が細胞周期に与える影響は全く不明である。そこで本研究では以下 2 つの研究課題を設定し、この謎に迫る。

課題 1: 出生後の心筋細胞での細胞周期停止における脂肪酸代謝の役割

課題 2: 成体の心筋細胞での細胞周期停止の維持における脂肪酸代謝の役割

この課題に答えることにより、脂肪酸代謝経路と心筋細胞細胞周期制御との連関について明らかにするとともに、脂肪酸代謝の制御による心臓再生法の確立の基盤をつくることを本研究の目的とする。

3. 研究の方法

(後日差替予定)

新生仔マウスに対し、脂肪酸代謝の阻害剤である oxfenicine の皮下注射、および低脂肪乳を生産する MMTV-Cre; PERK flox マウスを代理母として、心筋細胞が増殖を停止する時期まで飼育を行った。そのうち心筋細胞増殖、および代謝制御関連因子の発現・局在を検討した。また、出生後の心筋細胞での脂肪酸代謝活性化を制御する分子機構について、RNA シークエンシングデータの再解析と、その結果を受けた免疫組織化学およびイムノプロットにより解析した。さらに、同定した経路の心筋細胞増殖制御における役割について、新生仔マウスに対する薬理的介入とコンディショナルノックアウトマウス作成による遺伝学的解析により検討した。

4. 研究成果

(後日差替予定)

Oxfenicine および MMTV-Cre; PERK flox 代理母により、出生後の心筋細胞での脂肪酸代謝活性化を阻害したところ、心筋細胞の細胞周期停止が起こる時期が延長することがわかった。しかしこれらの結果は他グループによって報告された (Front. Cell Dev. Biol. 7, 42 (2019); Nat. Metab. 2, 167-178 (2020)) ため、さらにその上流の分子機構に迫った。新生仔の心臓での RNA シークエンシングによるトランスクリプトームの結果について解析したところ、脂肪酸代謝を活性化させる役割が知られている AMPK シグナルが出生後の心臓で活性化していることが明らかとなった。そこで新生仔マウス心臓において免疫組織化学およびイムノプロットにより検討したところ、AMPK シグナルが出生後に活性化していることを見出した。そこで AMPK シグナルを阻害するため、新生仔マウスへの阻害剤投与、そして心筋細胞特異的かつタモキシフェン依存的な AMPK 2 のコンディショナルノックアウトマウス作成を行った。その結果、いずれにおいても心

筋細胞の細胞周期停止が遅れることを見出した．これらの成果は AMPK シグナルが出生後の心筋細胞の細胞周期制御において重要な役割を果たしていることを示すものであった．以上の結果を受け，現在は AMPK シグナルが脂肪酸 酸化を含むミトコンドリア代謝を制御しているか，そうであればどのような経路を介しているかについて検討を行っている．

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sakaguchi Akane, Nishiyama Chihiro, Kimura Wataru	4. 巻 1867
2. 論文標題 Cardiac regeneration as an environmental adaptation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research	6. 最初と最後の頁 118623 ~ 118623
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbamcr.2019.118623	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 木村航	4. 巻 46
2. 論文標題 環境ストレス応答と相分離	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 現代化学増刊 相分離生物学の全貌	6. 最初と最後の頁 29-34
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakaguchi Akane, Kimura Wataru	4. 巻 -
2. 論文標題 Metabolic regulation of cardiac regeneration: roles of hypoxia, energy homeostasis, and mitochondrial dynamics	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Current Opinion in Genetics and Development	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 14件 / うち国際学会 9件）

1. 発表者名 木村航
2. 発表標題 環境適応と心臓再生能
3. 学会等名 第17回幹細胞シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村航
2. 発表標題 Heart Regeneration
3. 学会等名 ASUKA Symposium2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村航
2. 発表標題 酸素代謝による心筋細胞の細胞周期制御
3. 学会等名 第55回日本小児循環器学会 総会・学術集会(ポスター発表)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村航
2. 発表標題 環境ストレスと心筋ターンオーバー
3. 学会等名 第28回日本CellDeath学会学術集会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村航
2. 発表標題 酸化ストレス応答と心筋再生
3. 学会等名 第17回レドックス・ライフィノペーションシンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村航
2. 発表標題 Environmental Stress and Myocardial Regeneration
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村航
2. 発表標題 Oxidative Metabolism and Cardiomyocyte Cell Cycle Regulation
3. 学会等名 The 50th NIPS International Symposium（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村航
2. 発表標題 Oxidative Metabolism and Myocardial Homeostasis
3. 学会等名 CVMW2019心血管代謝週間（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村航
2. 発表標題 哺乳類の環境適応と心筋再生能
3. 学会等名 兵庫県立こども病院理化学研究所 生命機能科学研究センター（BDR）第4回ジョイントシンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村航
2. 発表標題 環境応答と心筋再生
3. 学会等名 第2回信州大-理研BDR合同セミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村航
2. 発表標題 Oxidative metabolism in cardiomyocyte cell cycle regulation
3. 学会等名 第4回日本循環器学会基礎研究フォーラム FCVB-BCVR Joint Symposium（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木村航
2. 発表標題 Mitochondrial Regulation of Cardiomyocyte Cell Cycle
3. 学会等名 第4回日本循環器学会基礎研究フォーラム Progress report（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木村航
2. 発表標題 Metabolic adaptation in the regulation of cardiomyocyte cell cycle ~how mammals deal with a mismatch between development and birth timing?
3. 学会等名 2020年度生理研国際研究集会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木村航
2. 発表標題 Metabolic Regulation of Cardiomyocyte Turnover
3. 学会等名 CVMW2020 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木村航
2. 発表標題 代謝適応と心筋再生
3. 学会等名 CVMW2020 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関