

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03680

研究課題名(和文) 生理的環境下におけるストレス応答による心筋細胞の細胞周期制御

研究課題名(英文) Mechanism of cardiomyocyte cell cycle regulation through stress response pathways

研究代表者

木村 航 (Kimura, Wataru)

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) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：哺乳類の成体の心臓は再生能がない。一方、胎児および出生直後の新生児には心筋を再生する能力がある。我々は、マウスにおいて出生後の心筋再生能の喪失に酸化ストレス応答が重要な役割を果たすことを示してきた。そこでこのシグナル伝達経路の実体の同定と、その制御による心筋再生を目的とした研究を行った。その結果、AMPK (Adenosine 5'-monophosphate activated protein kinase)シグナルが新生児の心筋再生能の制御に重要であることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、哺乳類の心筋再生を制御する分子機構の一端を明らかにするものである。これらの成果をもとに、さらに研究を進めていく。具体的には、新生児において、あるいはAMPKシグナルの上流、下流においてどのような機構がはたらき心筋再生能が喪失するかを解明し、さらにAMPK自体や上流、下流の阻害によって成体において心筋再生が誘導されるかを検討する。これらの研究により、新たな心筋再生法の開発につながる基盤的知見が得られるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Although adult mammals do not possess the capacity to regenerate the heart following injuries such as myocardial infarction, fetal and early neonatal mammals do possess such capacity. In previous studies, we have shown that oxidative stress response pathways play critical roles in regulating regenerative abilities in the heart in mammals. In the current study, we sought to identify pathways that control such stress response pathways in the neonatal heart. As a result, we identified AMPK signaling as a critical regulator of the cardiomyocyte cell cycle and capacity for cardiac regeneration in the postnatal mammalian heart.

研究分野：再生生物学

キーワード：心筋梗塞 心筋再生 心筋細胞 AMPK

1. 研究開始当初の背景

心疾患、とりわけ心筋梗塞などの虚血性心疾患は世界の死因の第一位を占めている。心筋梗塞の場合、たとえ急性期を生き延びても、残った心筋組織が心機能を支えきれない場合には心リモデリングから心不全の発症に至る。心不全の患者数、死亡者数は増え続け、近い将来にはパンデミックの様相を呈すると予想されている。

このような現状の背景には、我々のような哺乳類の成体の心臓では、大部分の心筋細胞が増殖能を持たず、そのため我々には障害を負った心筋の再生能がないという事実がある。一方ゼブラフィッシュやイモリ、哺乳類の胎児および出生直後の新生児では、多くの心筋細胞が細胞周期に入る能力があり、彼らには心筋再生能がある。すなわち心筋細胞が細胞周期に入る能力と心筋再生能には完全な対応があり、その制御機構を理解することは、心筋再生法の開発に大きく資すると考えられる。しかし現在まで、哺乳類の成体の心筋細胞において細胞周期を再び活性化できる分子機構に関する知見は断片的なものにとどまっている。

2. 研究の目的

我々は、これまでにマウスを主なモデルとして使用し、左室補助装置による長期(半年以上の)脱負荷による機械刺激ストレスの緩和(**JACC 2015**)、長期低酸素暴露(**7% FiO₂**, 2週間, **Nature 2017**)による酸化ストレス緩和により成体において心筋細胞の細胞周期再エントリー、梗塞心の機能回復を実現することを示してきた。しかしこれらの操作はいずれも高侵襲であり安全性等に問題を残している。本研究計画はこのストレス応答経路を活性化させて心筋細胞の細胞周期制御を担うシグナル伝達経路の実体の同定と、その制御による心筋再生を目的とする。

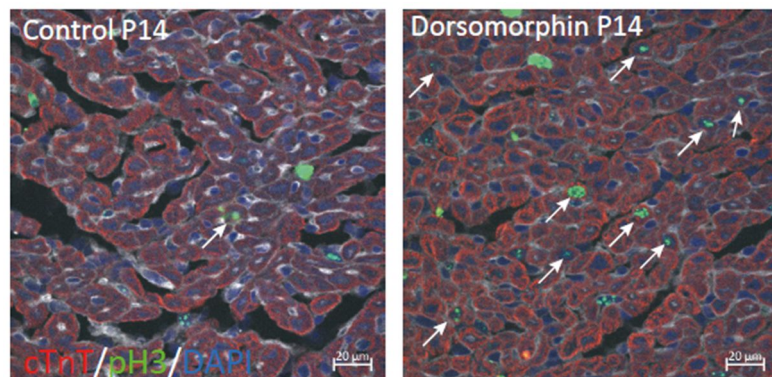
3. 研究の方法

新生仔マウス心臓組織を用いたトランスクリプトーム、メタボローム解析により、出生後に変動しているシグナル伝達経路候補を同定した。つづいて新生仔もしくは成体マウス心臓での候補経路の活性変動の有無、そしてマウスに対する阻害剤導入により心筋細胞の細胞周期が変動するか、を基準にストレス応答経路の網羅的な探索を行った。得られた候補経路について、低分子化合物を用いた阻害を行うことで、新生仔マウスが出生後に心筋再生能を保持する期間を変更させるかを検証した。さらにそれらの候補経路の構成因子について、遺伝子改変マウスを作成することにより、出生後の心筋細胞増殖における機能を検証した。

4. 研究成果

われわれは新生仔マウスの心臓組織を用いた比較メタボローム解析を行い、出生後の心筋組織にて変動することが予想されるシグナル伝達経路の候補を絞り込んだ。その結果候補として上がった **AMPK (Adenosine 5'-monophosphate activated protein kinase)** シグナルについて詳細な解析を行った。まず **AMPK** シグナルが出生後の心筋組織で活性化していることを見出した。加えて、低分子化合物による **AMPK** シグナルの阻害を行い、出生後の心筋細胞の増殖期間延長が観察された(図)。さらに、同じく低分子化合物による **AMPK** シグナル活性化を行ったところ、心筋細胞増殖期間が短縮されることを見出した。この結果を受け、さらに新生仔マウスに対する **AMPK** シグナル阻害を行った後に心筋梗塞の導入を行ったところ、心筋再生能を持つ期間の延長が観察された。さらに **AMPK α 2** の心筋細胞特異的かつタモキシフェン依存のノックアウトマウス (**α MHC-MerCreMer;Prkaa2^{loxP/loxP}, Prkaa2 flox** マウスは **Jackson laboratory #014142**) を作成し、出生後の心筋細胞での **AMPK** シグナルの阻害を行ったとこ

る，同様に心筋細胞の増殖期間延長が観察された．また別の研究課題において有袋類オポッサムでも **AMPK** シグナルの機能についての検討を行った結果，オポッサムでもマウスと同様に **AMPK** シグナルが出生後の心筋細胞増殖を制御していることが明らかになり，**AMPK** 機能の種間保存性が示された．以上の成果は哺乳類の心筋再生を制御する分子機構の一端を明らかにするものである．



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Iwasa N, Matsui TK., Iguchi N, Kinugawa K, Morikawa N, Sakaguchi YM., Shiota T, Kobashigawa S, Nakanishi M, Matsubayashi M, Nagata R, Kikuchi S, Tanaka T, Eura N, Kiriyama T, Izumi T, Saito K, Kataoka H, Saito Y, Kimura W, Wanaka A, Nishimura Y, Mori E, Sugie K	4. 巻 15
2. 論文標題 Gene Expression Profiles of Human Cerebral Organoids Identify PPAR Pathway and PKM2 as Key Markers for Oxygen-Glucose Deprivation and Reoxygenation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular Neuroscience	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) 10.3389/fncel.2021.605030	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sakaguchi Akane, Kimura Wataru	4. 巻 70
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 54 ~ 60
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.gde.2021.05.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Saito Yuichi, Kimura Wataru	4. 巻 12
2. 論文標題 Roles of Phase Separation for Cellular Redox Maintenance	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Genetics	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) 10.3389/fgene.2021.691946	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kawakami Satoshi, Yoshitane Hikari, Morimura Taiki, Kimura Wataru, Fukada Yoshitaka	4. 巻 171
2. 論文標題 Diurnal shift of mouse activity by the deficiency of an ageing-related gene <i>Lmna</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 509 ~ 518
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvac015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nishiyama Chihiro, Saito Yuichi, Sakaguchi Akane, Kaneko Mari, Kiyonari Hiroshi, Xu Yuqing, Arima Yuichiro, Uosaki Hideki, Kimura Wataru	4. 巻 146
2. 論文標題 Prolonged Myocardial Regenerative Capacity in Neonatal Opossum	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Circulation	6. 最初と最後の頁 125 ~ 139
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCULATIONAHA.121.055269	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計14件 (うち招待講演 14件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 木村 航
2. 発表標題 心筋の代謝と再生をつなぐメカニズム
3. 学会等名 第一回神戸茶話会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 坂口 あかね、川崎 美和、木村 航
2. 発表標題 BITC induces mitochondrial fission and cardiomyocyte proliferation.
3. 学会等名 生理研研究会 比較統合生理学的観点からの循環生理の解析 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木村 航
2. 発表標題 出生による心筋再生スイッチングの哺乳類種間差
3. 学会等名 第94回日本生化学会 シンポジウム1S06m「哺乳類の代謝変動による環境適応とその異常」(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木村 航
2. 発表標題 Metabolic Regulation of Neonatal Cardiac Regeneration
3. 学会等名 CVMW2021 心血管代謝週間 ISHRシンポジウム 1 (JMCC Symposium) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木村 航
2. 発表標題 " HIF signaling and cardiovascular diseases "
3. 学会等名 第86回日本循環器学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木村 航
2. 発表標題 心筋再生研究とイメージング
3. 学会等名 第8回極みプロジェクトシンポジウム / 第7回CRESTミーティング (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木村 航
2. 発表標題 Interspecies comparison between eutherian and marsupial mammals identifies how cardiomyocytes adapt to switching from intrauterine to postnatal environment
3. 学会等名 第55回 日本発生生物学会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木村 航
2. 発表標題 心筋の代謝と再生をつなぐメカニズムの解明
3. 学会等名 JST 創発的研究支援事業「融合の場」第1回公開シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木村 航
2. 発表標題 Prolonged regenerative capacity in the neonatal opossum heart
3. 学会等名 BCVS Scientific Sessions 2022（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木村 航
2. 発表標題 哺乳類種間比較による新生仔心筋再生機構の同定
3. 学会等名 第51回日本心臓管作動物質学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木村 航
2. 発表標題 マウス・オポッサム間比較による出生後の心筋成長スイッチング機構の解明
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木村 航
2. 発表標題 Mammalian interspecies comparison identifies AMPK as a postnatal cardiomyocyte cell cycle regulator
3. 学会等名 CVMW2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木村 航
2. 発表標題 Role of oxidative metabolism in the regulation of mammalian cardiac regeneration
3. 学会等名 The 1st International Conference of C-MARS (Cardiovascular, Metabolic, and Aging Research Symposium) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 木村 航
2. 発表標題 哺乳類新生仔を用いた心筋再生研究
3. 学会等名 第22回日本再生医療学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2022年～2023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
研究 分担者	升本 英利 (Masumoto Hidetoshi) (70645754)	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・上級研究員 (82401)	

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
---------	---------