

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16153

研究課題名（和文）エネルギー代謝の変化による心筋の細胞周期制御機構の解明と心臓再生法の確立

研究課題名（英文）Energy metabolism regulates the myocardial proliferation and heart regeneration in adult mammal

研究代表者

坂口 あかね（Sakaguchi, Akane）

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・研究員

研究者番号：50836690

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000 円

研究成果の概要（和文）：哺乳類の心筋は胎仔期から出生直後においては増殖しているが、成長と共に分裂能を失うため、成体心臓は損傷部位を再生できないことが知られている。本研究では心筋細胞が増殖能を喪失する原因として栄養代謝の基質が出生前後で変化することに着目し解析を行った。その結果、胎仔期と同様の代謝様式を誘導する因子を特定し、遺伝子改変マウスを用いて成体心筋細胞が増殖能を再獲得することで損傷部位の再生が可能になることを明らかにした。またその下流の経路を薬理的に活性化したところ、遺伝学的解析と同様に成体心臓の機能的回復を伴う損傷部位の再生が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は成体哺乳類の心臓再生を目的とし、細胞周期制御機構の一端を明らかにするものである。これまで心筋細胞が増殖能を喪失する原因として出生後の脂肪酸代謝の活性化が指摘されていたが、報告者は新たに胎仔型の栄養代謝様式が成体の心筋細胞において増殖能の再獲得させることを見出した。また下流の経路に対して薬理的に介入することで、心筋梗塞部位が再生することを明らかにした。報告者は、胎仔型の栄養代謝様式が生後の脂肪酸代謝とは独立して細胞周期を制御し得る本研究成果は、虚血性心疾患のための新規治療法開発の一助になると考えている。

研究成果の概要（英文）：Mammalian cardiomyocytes are arrested from the cell cycle shortly after birth, and therefore mammals lose the ability to regenerate injured myocardium for the rest of their lives. Pharmacological induction of cardiomyocyte proliferation has gained a lot of interest in recent years, as researchers strive to achieve heart tissue regeneration. Here we show that the embryonic energy metabolism induces the cell proliferation in adult cardiomyocytes, and the downstream pathway could be regulated by the pharmacological approach. This treatment enables to regenerate the injured heart and recovered cardiac function in adult mammalian heart.

研究分野：循環器内科

キーワード：心臓再生 解糖系 エネルギー代謝 Ptp1

1. 研究開始当初の背景

哺乳類の心筋細胞は、出生直後は分裂可能だが生後しばらくすると分裂能を失うため、心筋梗塞などで損傷を受けた成体心臓は再生しない。心筋細胞が分裂能を喪失する原因としてこれまでに、出生後の大気中の酸素への暴露によって解糖系から酸化的リン酸化へ代謝の切り替わりが起こること、それによりミトコンドリアから発生する活性酸素種 (ROS) が細胞周期チェックポイントを活性化することが示されている(*Nature*, 2017; *Cell*, 2014)。一方で、低酸素環境への暴露により ROS の産生量が抑えられると、心筋細胞が分裂能を再獲得することで心筋梗塞の損傷部位が再生し、心機能は回復する(*Nature*, 2017)。また近年では別のグループから、心筋細胞の中心的な栄養源が出生前の臍帯を通じて供給される糖から出生後に母乳由来の脂肪酸へ変化することも細胞周期制御において重要であることが示された(*Nature Metabolism*, 2020)。しかし、栄養基質の変化がいかんして心筋細胞での代謝を変化させ細胞周期を制御しているのかは明らかにされていなかった。

2. 研究の目的

本研究では、臨床応用可能な心臓再生法の開発につながる基盤的知見を得るため、出生前後における代謝基質の変化が心筋細胞の細胞周期を制御しているという仮説に基づき、その分子メカニズムを明らかにすることで、成体での心筋細胞の分裂能再獲得による心臓再生法の確立を目指した。

3. 研究の方法

- (1) 代謝基質の変化が心筋細胞の増殖能に与える影響についての食餌的介入
出生前後におけるエネルギー代謝の基質変化が心筋細胞の分裂能に与える影響を明らかにするため、予備実験として新生仔マウスに対しグルコースを皮下注射し増殖能を比較した。その後、糖尿病モデルマウスを代理母として野生型マウスを飼育し、同様の解析を行った。また母乳中で変化した成分を同定するため脂肪酸リピドーム解析ならびにメタボローム解析を行った。
- (2) 代謝基質の変化が心筋細胞に与える影響についての初代培養系を用いた解析
代謝基質の変化が心筋細胞に与える直接の影響を検討するため、初代培養心筋細胞の培地に含まれる代謝基質を変化させ、心筋細胞の増殖能ならびに成熟について検証を行った。
- (3) 栄養変化の下流で増殖を制御する分子メカニズムの同定
栄養基質を変化させて培養した初代培養心筋細胞を用いて網羅的解析を行った。がん・神経幹細胞・造血幹細胞・初期胚など多数の増殖性細胞で代謝制御を介して分裂能を制御することが知られる因子 A が候補として得られたことから、これが栄養基質の変化を受けるかどうかについて(2)と同様の方法で検討した。また、心筋細胞特異的な因子 A ノックアウトマウスを用いて細胞増殖能・成熟・下流で変化する遺伝子発現についての検討を行った。
- (4) 代謝変化がもたらす増殖能再獲得を利用した心臓再生の薬理学的検討
因子 A の下流に対して薬理学的に介入することで心筋細胞の増殖能をコントロールできるかどうかを検討した。またこれにより虚血性心疾患が克服可能かどうかを検証するため、心筋梗塞モデルマウスを作製し検討した。

4. 研究成果

- (1) グルコース投与を行った新生仔・糖尿病モデルマウスに育てられた新生仔のどちらにおいても心筋細胞分裂期間の延長が認められた。また、糖尿病モデルマウスの代理母から採取した母乳は、脂質含有量に顕著な差は見られなかった一方で糖の含有量が増加していた。これらの結果から、心筋細胞の増殖能は糖の摂取量によって制御されることが明らかとなった。
- (2) 培地中に含まれるグルコースならびに脂質の変化によって細胞周期マーカー陽性心筋細胞の割合に変化は見られなかった一方で、先行研究と同様に心筋細胞の成熟化が見られた (Nat Metab. 2020; Nature. 2023)。In vivo 解析と異なりグルコース含有量の変化によって心筋細胞の増殖能に変化が見られなかった理由については、初代培養心筋を高い増殖能を維持している生後 1 日目の新生仔から単離した影響が考えられるため、更なる解析のために分裂能が低下した生後 7 日目以降の新生仔から単離した初代培養系の確立が望まれる。
- (3) 初代培養心筋を用いた網羅的解析によってグルコースの下流で代謝を制御するパスウェイが示唆された。その下流に存在する因子 A の心筋細胞特異的なノックアウトマウスでは CDK や cyclin などの細胞周期制御因子ならびに解糖系関連因子の発現低下を伴って増殖性心筋細胞が減少する一方で、titin や Myh6、脂質代謝関連因子などの成熟した心筋細胞に特異的な遺伝子の発現が上昇することが明らかとなった。
- (4) 解糖系活性化剤を新生仔・成体マウスに投与したところ増殖可能期間の延長だけでなく、一度細胞周期を停止した心筋細胞に置いての細胞周期再エントリーが認められた。また、分裂能を再獲得した心筋細胞によって心機能の回復を伴う心筋梗塞損傷部位の縮小が認められた。

以上の結果から、糖代謝が脂質代謝とは独立して心筋細胞の分裂能を制御することに加え、解糖系の活性化は虚血性心疾患のための新規治療法開発の一助になると考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Chihiro Nishiyama, Yuichi Saito, Akane Sakaguchi, Mari Kaneko, Hiroshi Kiyonari, Yuqing Xu, Yuichiro Arima, Hideki Uosaki, Wataru Kimura	4. 巻 146(2)
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6件（うち招待講演 2件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Akane Sakaguchi, Wataru Kimura
2. 発表標題 Glycolysis induces heart regeneration in adult mice
3. 学会等名 RIKEN BDR Symposium 2023 Transitions in Biological Systems
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Akane Sakaguchi, Wataru Kimura
2. 発表標題 Glycolysis induces heart regeneration through proliferation of cardiomyocytes in adult mice
3. 学会等名 第40回国際心臓研究学会日本部会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 坂口あかね , 川崎美和 , 木村航
2. 発表標題 胎仔型心筋の代謝様式は成体哺乳類の心臓再生を可能にする
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2023年

1．発表者名 坂口あかね
2．発表標題 Glycolysis induces heart regeneration through proliferation of cardiomyocytes in adult mice
3．学会等名 第33回モロシヌス研究会
4．発表年 2023年

1．発表者名 坂口あかね ， 川崎美和 ， 木村航
2．発表標題 解糖系を利用した成体心臓再生法の確立
3．学会等名 日本心脈管作動物質学会若手研究者交流シンポジウム（招待講演）
4．発表年 2023年

1．発表者名 Akane Sakaguchi, Wataru Kimura
2．発表標題 Ptbp1-glycolysis axis induces heart regeneration in adult mice
3．学会等名 CARDIOVASCULAR BIOENGINEERING (CVBE) SYMPOSIUM 2023 (国際学会)
4．発表年 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
--	---------------------------	-----------------------	----

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