

令和 6 年 5 月 16 日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的研究（開拓）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K18273

研究課題名（和文）哺乳類の出生の異時性に基づく心筋再生機構の解明

研究課題名（英文）Mechanism of Cardiac Regeneration and Developmental Heterochrony

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） 20,000,000円

研究成果の概要（和文）：我々はマウスにおいて心筋細胞の細胞周期停止は、新生仔が出生後に子宮外環境へ暴露されることが引き金となって起こることを報告した。一方、同じ哺乳類でも有袋類は超未熟仔の状態で誕生し、器官形成の大部分を子宮外環境で行うため、出生が器官形成から成熟への切り替わりと同調しない。我々は、有袋類オポッサムでは心筋細胞増殖が出生後1ヶ月以上継続し、心筋再生能が出生後少なくとも2週間維持されることを見出した。また既存データベースを利用した遺伝子発現解析と薬理的・遺伝学的介入により、オポッサム及びマウスの心筋細胞の細胞周期停止にAMPKシグナルが重要な役割を果たすことを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

われわれは出生後に心筋を再生する能力が失われる時期が異なる2種類の哺乳類動物、すなわちマウスとオポッサムとを比較することにより、これまでに明らかにされることがなかった進化的に保存されたシグナル伝達経路が心筋を再生する能力を制御していることを明らかにした。このシグナル伝達経路は新たな心疾患治療法のための標的になりうると思われる。

研究成果の概要（英文）：Early neonatal mammals can regenerate the myocardium through the proliferation of cardiomyocytes for only a short period of time after birth. We have shown that neonatal opossum continues cardiomyocyte proliferation for at least 2 weeks after birth. In addition, the opossum heart exhibited regenerative capacity in this period. We performed RNA sequencing and subsequent immunohistochemical, pharmacological and genetic analyses and demonstrated that the AMPK signaling is an evolutionary conserved signaling pathway that regulates cardiomyocyte cell cycle arrest 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 オポッサム

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

心疾患は全世界での死因の第一位を占め、現在最も重大な疾患の一つである。我々ヒトをはじめとした成体の哺乳類には、心筋梗塞等の心筋障害で失われた心筋細胞を再生させる能力がない。いっぽうで出生後数日に限れば、マウス、ラット、ウサギ、ブタなど多くの哺乳類に心筋再生能が備わっている。しかしこの心筋再生能は、出生後1週間以内に、心筋細胞の細胞分裂停止とともに喪失する。

われわれによるものを含む過去の研究により、マウスではこの新生児期の心筋細胞の細胞分裂停止は、子宮内環境から出生後の外環境に移行することをきっかけの一つとして起こることが明らかにされている (Puente and Kimura et al., Cell 2014; Cardoso, Lam, Savla et al., Nat Metab 2020)。われわれは、出生後に外環境下にあっても心筋細胞の細胞分裂を継続する哺乳類種が存在すれば、そのメカニズムを明らかにし応用することで、成体の哺乳類でも心筋細胞の細胞分裂、そして心筋再生を誘導できるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

有袋類は一般に発達した胎盤を形成せず、他種哺乳類と比較して非常に短い妊娠期間ののちに未熟な状態で出生するという特徴を持つ。そのため有袋類は出生後も器官形成を継続することが知られている。われわれは有袋類は出生後も心筋細胞が増殖を続け、心筋再生能を持ち続けるのではないかと考えた。そこで有袋類であるハイイロジネズミオポッサムを用いて、心筋細胞が出生後の増殖を止める時期を比較し、その時期に起こる細胞周期停止のメカニズムをオポッサムとマウスとの種間比較で明らかにすることを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

オポッサムは14日間の妊娠期間を経て出生し、その時期はマウス胚ではE11.5~E13.5に相当すると考えられている。この時期から2ヶ月齢に至るまで、出生後の各発達段階において心臓組織を回収し、免疫組織化学により心筋細胞マーカーと細胞分裂マーカーを共染色することによって、心筋細胞の細胞分裂を定量した。その結果をマウス新生仔のそれと比較し、出生後の心筋細胞分裂制御の種間比較を行った。

続いてオポッサム新生仔の心筋再生能を明らかにするため、出生後2週間および一ヶ月のオポッサム新生仔に対して心尖部切除および心筋梗塞導入を行い、その後一ヶ月にわたって心エコーにより心機能の変化を記録し、さらに障害後一ヶ月の時点で心臓組織を回収し、組織学的解析により線維化の定量を行った。さらに障害後の各時期において心臓組織を回収し、心筋細胞の増殖の変化を定量した。

さらに、哺乳類における出生後の心筋細胞の細胞周期停止の分子メカニズムを明らかにするため、比較トランスクリプトーム解析を行った。オポッサムとマウスの各発生・発達段階における心臓のトランスクリプトームデータが公開されており、このデータセットを用いてオポッサム心臓のトランスクリプトームデータからKEGGパスウェイ解析を行った。

以上の結果を受け、出生後のオポッサムの心臓において変化していたシグナル伝達系について、その機能を解析するため、オポッサム新生仔に対しては薬理的にそのシグナル伝達系に介入し、心筋細胞増殖の変化を検討した。またそのシグナル伝達系の種間保存性を比較検討するため、マウス新生仔に対しても同様のシグナル伝達系に対し薬理的介入を行い、心筋細胞増殖の変化を検討するとともに、出生後一週間で心筋梗塞を導入し、心筋再生能の変化を検討した。さらにマウスに対してはコンディショナルノックアウトマウスを作成し、出生後の心筋細胞において特異的にそのシグナル伝達系の阻害を行い、心筋細胞増殖の変化を検討した。

4. 研究成果

出生後の心臓における心筋細胞増殖の解析により、有袋類のオポッサムが出生後少なくとも2週間にわたって心筋細胞増殖を継続していることが明らかになった。さらにこの時期までは心筋

再生能を維持していることが明らかとなった。これは、これまで調べられた哺乳類の中で、出生後に心筋再生能を維持している期間としては最も長い期間である。さらに、オポッサム心臓のトランスクリプトームデータ解析から、AMPK シグナルが心筋細胞増殖停止の時期に活性化していることが明らかになった。この結果をもとにマウスおよびオポッサムにおいて遺伝学的、薬理的介入を行い、出生後の心筋細胞における AMPK シグナルの活性化が、哺乳類において保存された心筋細胞増殖の停止の分子メカニズムであることを明らかにした (Nishiyama et al., Circulation 2022)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

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 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 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 Kozue, 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 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 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 & 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 Kawakami Satoshi、Yoshitane Hikari、Morimura Taiki、Kimura Wataru、Fukada Yoshitaka	4. 巻 -
2. 論文標題 Diurnal shift of mouse activity by the deficiency of an ageing-related gene Lmna	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	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) 10.1093/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16件 (うち招待講演 12件 / うち国際学会 6件)

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」 (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

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（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 坂口 あかね、木村 航
2. 発表標題 BITC induces cardiomyocyte proliferation and heart regeneration
3. 学会等名 第3回 日独合同若手ミーティング 「幹細胞・発生・再生 - 新たな組織形成」（国際学会）
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 cardiomyocyte proliferation and heart regeneration
3. 学会等名 第38回国際心臓研究学会日本部会総会（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 坂口 あかね、木村 航
2. 発表標題 ベンジルイソチオシアネートの投与は心筋細胞の分裂を誘導し、幼若期の心臓再生を可能にする
3. 学会等名 第20回日本心臓血管発生研究会
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)
4. 発表年 2022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

〔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	清成 寛 (Kiyonari Hiroshi) (40721048)	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 (82401)	
研究分担者	魚崎 英毅 (Uosaki Hideki) (90740803)	自治医科大学・医学部・准教授 (32202)	

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