

成果報告書<概要>

施設・所属: University of California, San Diego 氏名: 有田 陽

1. 概要の構成は自由ですが、留学成果報告として広報資料に掲載されます点をご留意ください。
2. 研究目的、研究手法、研究成果など、一般の方にもわかりやすくしてください。
3. 3.A4 1ページでまとめてください。(図表・写真などの貼付を含む、日本語)

研究目的: 最近の研究で低酸素負荷により、マウスの心筋梗塞後の心筋細胞が増殖すると報告されている(Nakada Y. *et al. Nature* 2016)。その理由の一つとして Hif1 α の関与が示唆されている。Hif1 α は低酸素状態によって規定される転写因子である。通常酸素状態では Von Hippel Lindau(VHL)により分解されるが、低酸素状態では VHL が Hif1 α の分解に関与できず Hif1 α の target gene の発現が促される。以前、我々は胎仔心筋細胞において Hif1 α が低酸素状態での増殖に不可欠であることを報告した(Nuno C. *et al. Dev Cell* 2015)。そこで、Hif1 α が人工的に安定して発現すれば、通常酸素下で成熟心筋細胞でも分裂、増殖する可能性があるのではないかと考えた(右図)。

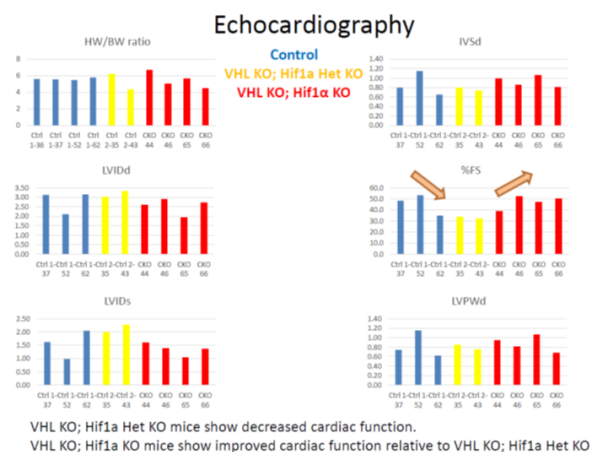
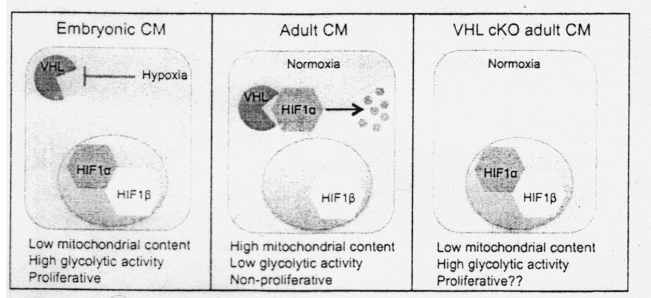
Mlc2v-Cre や α MHC-Cre を用いて心筋特異的に VHL をノックアウト(KO)したマウスは心機能が悪く、致命的であった(Lei L. *et al. Mol Cell Biol.* 2008)。VHL を KO し Hif1 α の発現増加させることは結果的に心拡大を呈し心不全となった。VHL KO マウスの心筋細胞は筋原線維の不整、ミトコンドリアの含有が少なく、解糖系の亢進を認めた。さらにこのフェノタイプは心筋特異的 Hif1 α によってレスキューされた。このことより VHL KO 心筋細胞はより未分化であり増殖する可能性がある。しかし、これらの報告では心筋細胞の増殖については検討されていなかった。

方法: Control マウスとして α MHC-MerCreMer; Hif1 α f/w; VHL f/w を作製、VHL KO; Hif1 α Het KO として α MHC-MerCreMer; Hif1 α f/w, VHL f/f を作製、VHL KO; Hif1 α KO マウスとして α MHC-MerCreMer; Hif1 α f/N, VHL f/f をそれぞれ作製した。さらに心筋細胞の増殖を可視化するために Obscurin-floxed LacZ-H2BGFP マウスと交配し、心筋細胞の核内で Cre が活性化すると核が緑色に発色するマウスを作製した。これらのマウスに 6-7 週目に Tamoxifen 1mg を 5 日間投与を行い 20 週目に EdU を 4 日間投与後に心臓を回収した。

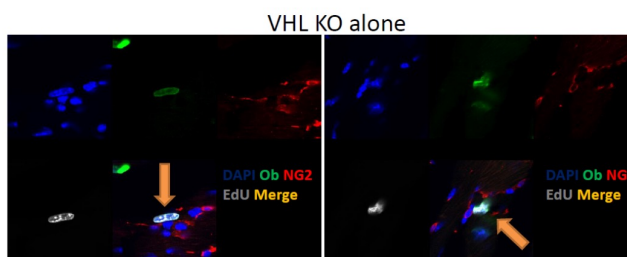
結果: VHL KO; Hif1 α Het KO マウスは心機能の低下をみとめた。VHL KO; Hif1 α KO マウスは心機能の低下は認めなかった。(右図)

次に EdU の取り込みを観察したが 3 系統のマウスともに取り込みを認めなかった。しかし、心筋特異的 VHL 単独ノックアウトマウス(α MHC-MerCreMer; VHL f/f)ではわずかに心筋細胞に EdU の取り込みをみとめた(右下図)。このことは成熟心筋細胞において Hif1 α の安定化により DNA 合成が増加し、細胞分裂が活性化されたことが示唆される。

今後の課題: 心筋特異的 VHL 単独ノックアウトマウスの心機能の評価をおこない、さらに 3 系統のマウスの数を増やし統計的有意差を得ることが必要である。



Assessing DNA synthesis in adult cardiomyocytes



A few CMs were labeled by EdU.