

**【目的】** 哺乳類の成体の心臓は損傷を受けた心筋を再生する能力を持たない。近年、胎仔期および新生仔期のマウスに心臓再生能があり、しかしそれは生後一週間以内に失われることが報告された。哺乳類の心筋細胞は、出生後に嫌氣的解糖系からミトコンドリア好気呼吸へとエネルギー代謝が大きく転換する。この代謝の切り替わりは生後一週間以内に起こり、かつ前述のように ROS の産生および DNA 酸化損傷を含む酸化ストレスの蓄積を伴っている。我々はミトコンドリア由来の ROS を除去することで心筋細胞が増殖可能である時期、および心筋が再生能を維持している時期が出生後に延長することを見出した。これらの知見から、我々は DNA 損傷応答経路の心筋細胞の細胞周期制御機構を明らかにすることを目的として本研究を行った。

**【方法】** 新生児及び成体マウスを用いて、DNA 損傷応答経路活性化の検出と阻害を、それぞれウェスタンブロット・免疫組織染色、および低分子阻害剤のインジェクションにより行った。さらに心筋細胞の細胞周期について、免疫組織染色を用いて解析した。

**【結果】** 生化学的解析により、マウス生後心筋において出生後一週間以内に ROS 産生が増加していた。それに伴い、心筋細胞において核 DNA 酸化損傷および DNA 損傷応答が同期間中に増加していた。これらの結果は、マウス新生児心臓でのミトコンドリア好気呼吸の増加に伴う ROS の蓄積が DNA 酸化損傷および DNA 損傷応答を活性化していることを示唆するものであった。続いて、マウス新生児で DNA 損傷応答のエフェクターキナーゼである Wee1 タンパク量を検討したところ、P1 から P7 にかけて心筋内で増加していた。また Wee1 阻害剤である MK-1775 を P0 から二週間皮下投与したところ、心筋細胞の細胞分裂の増加が観察された。以上の結果は、生後の心筋細胞において好気呼吸の増加に伴う ROS レベルの上昇が DNA 損傷応答経路を介して細胞周期停止を誘導するという仮説を強く支持するものであった。続いて、ミトコンドリア代謝を抑制することによって成体の心筋細胞の細胞周期を制御できるかどうかを検討するため、成体マウスを 2 週間の間 7%酸素濃度下に置いた。するとミトコンドリアにおけるクレブス回路および脂肪酸  $\beta$  酸化に関わる酵素群の減少が見られた。さらに、低酸素状態の心臓において、コントロールの心臓と比較して ROS レベルの低下と、DNA 酸化損傷および DNA 損傷応答経路の両者が抑制されていること、そして心筋細胞の細胞増殖が増加していることを見出した。低酸素暴露による心筋細胞増殖の増加は、酸化 DNA 損傷の減少が直接の原因であることが強く示唆された。

DNA 損傷応答経路による出生後の心筋細胞の細胞周期停止

