

綜 説

新生児マウス心臓の機能的発達における サイトカイン受容体 gp130の役割

川岸裕幸^{1)2)*} 山田充彦²⁾

- 1) 信州大学先鋭領域融合研究群バイオメディカル研究所バイオテクノロジー部門
2) 信州大学医学部分子薬理学教室

Role of Cytokine Receptor gp130 in Functional Development of the Neonatal Mouse Heart

Hiroyuki KAWAGISHI^{1)2)*} and Mitsuhiro YAMADA²⁾

- 1) *Department of Biotechnology, Institute for Biomedical Sciences, Shinshu University*
2) *Department of Molecular Pharmacology, Shinshu University School of Medicine*

Key words: cardiomyocyte, postnatal proliferation, gp130, cardiac development, ligand-specific actions
心筋細胞, 出生後分裂増殖, gp130, 心臓発達, リガンド特異的作用

I はじめに

心疾患は世界各国における主要な死因のひとつであり, それに関連した医療費の増大は深刻な社会問題となっている¹⁾⁻³⁾。心不全は, 心臓のポンプ機能が低下することにより末梢組織の循環不全が生じる致死的な症候群であり, 小児期では先天性心疾患や心筋症, 成人では心筋梗塞や高血圧などを病因として生じる⁴⁾⁵⁾。近年ではその低下した心筋の収縮力を補うために, iPS細胞による心筋再生医療が注目されている⁶⁾。しかし, iPS細胞から分化誘導された心筋細胞はこれまでにさまざまな改善がされているものの⁷⁾, いまだ成人と同様の表現型を示すに至っていない。その原因のひとつとして, 心筋細胞の表現型変化を制御する分子メカニズムについての知見が乏しいことが挙げられる。本稿では, 筆者らが発見した, 発達期マウスの心筋細胞の表現型変化における glycoprotein-130 (gp130) 受容体の作用と, その変化による心臓の機能的発達への影響について紹介する。

II 哺乳動物の心筋細胞

心筋細胞は, 心臓を構成する主要な細胞であり, 成人では心臓の体積の約7割を占める。心筋細胞はその細胞膜に Na^+ や Ca^{2+} , K^+ などを通す複数のイオンチャネルを有し, 非興奮状態では細胞内は細胞外に対し負に帯電している (静止膜電位)。洞房結節にあるペースメーカー細胞から活動電位が伝播すると, 心房や心室の心筋細胞の膜電位が脱分極し Na^+ チャネルが開口する。すると急速な Na^+ イオンの細胞内流入が生じることで細胞はさらに急速に脱分極する。すると, 膜電位依存性 Ca^{2+} チャネルが開口し, Ca^{2+} イオンが流入する。細胞外からの Ca^{2+} イオンの流入は, 筋小胞体内に多量に蓄えられている Ca^{2+} の細胞質内放出を誘導する。多量の Ca^{2+} イオンと結合した筋繊維が収縮することで, 細胞全体が収縮する。このような一連の作用は興奮収縮連関と呼ばれ, 心臓の収縮に極めて重要なはたらきをしている (図1)⁸⁾。

ヒトやマウスなど哺乳動物の心筋細胞は, 出生後にさまざまな表現型が変化することが知られている⁹⁾¹⁰⁾。心筋細胞は, 出生後個体の発達とともに肥大し, 桿状 (Rod shape) になる。このとき, 細胞の Ca^{2+} 代謝に重要な細胞膜陥入構造である T管が形成される¹¹⁾¹²⁾。さらに, 筋小胞体の成熟, 細胞膜のイオンチャネルの発現や活性変化が生じることによって, 興奮収縮連関

* Corresponding author: 川岸裕幸 〒390-8621
松本市旭3-1-1 信州大学先鋭領域融合研究群
バイオメディカル研究所バイオテクノロジー部門
E-mail: kawa13@shinshu-u.ac.jp

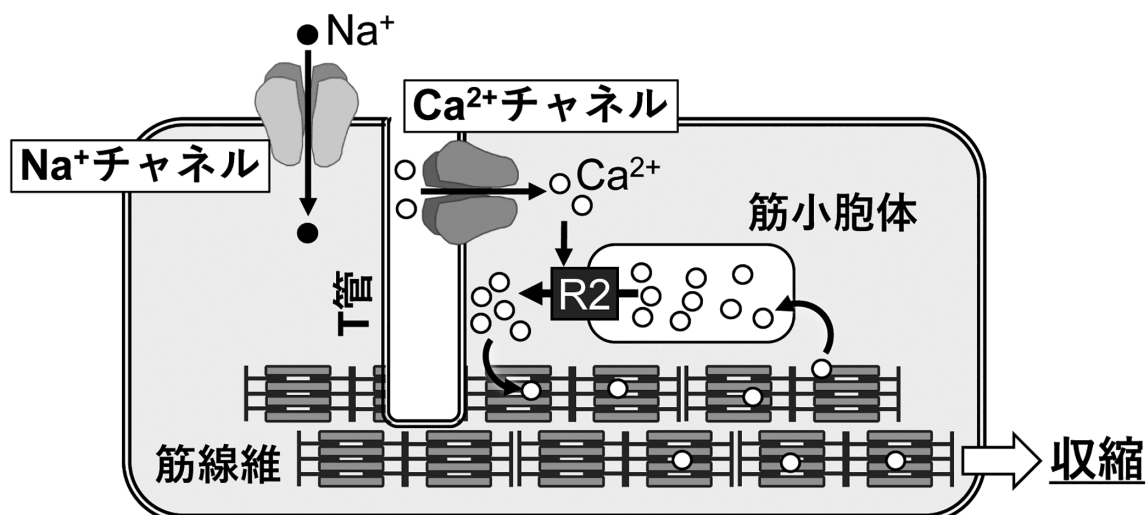


図1 心筋細胞の興奮収縮連関

心筋細胞が脱分極すると、細胞膜のL型Ca²⁺チャネルを介して流入したCa²⁺によって、筋小胞体からリアノジン受容体(R2)を介した多量のCa²⁺放出が誘導される。筋繊維にCa²⁺が結合することで心筋細胞は収縮する。

が機能的に発達する。また筋繊維を構成する Myosin-heavy chain タンパク質 (Myh) や Troponin タンパク質 (Troponin T (TnT), Troponin I) のサブタイプや発現が変化し、サルコメア合成が亢進する¹³⁾¹⁴⁾。細胞のエネルギー代謝に重要な細胞内小器官であるミトコンドリアの性状も変化し、細胞のエネルギー源である ATP の生合成がグルコースから脂肪酸依存的に替わることが知られている¹⁵⁾。このような心筋細胞のさまざまな表現型変化は、心臓が出生後の子宮外環境に適応するための強靱な収縮力を得るために必要であると考えられており、マウスでは出生後1か月程度で完了する。

Ⅲ 出生後に生じる心筋細胞の分裂増殖

出生後の哺乳動物の心筋細胞は、長らく非分裂細胞であるとされていたが、近年、出生直後の短い間に限られるものの、分裂増殖することが判明している¹⁶⁾¹⁷⁾。この期間におけるマウスにおけるその分裂頻度は最大でも心筋細胞全体の10%弱であり、出生後10日程度で分裂能はほとんど消失する¹⁸⁾。この一時的な分裂増殖は、複数の転写因子^{19)~21)}やマイクロRNA (miRNA)²²⁾によって、細胞周期や分裂増殖に関する遺伝子の発現が調節されることによって制御されている²³⁾。Platelet-derived growth factor (PDGF) や Neureglin-1などの成長因子がそれぞれの受容体に作用し細胞内シグナル伝達経路を調節することで、出生後の心筋細胞の分裂増殖を制御していることも報告されている²⁴⁾²⁵⁾。ま

た、心筋細胞の分裂増殖と肥大化は密接に関係した表現型変化であり、細胞周期促進因子の発現低下や抑制因子の発現上昇などが起こることで分裂増殖が停止し、肥大化に切り替わるとされている。この際、マウスの心筋細胞では核分裂が生じるが細胞質分裂は起こらない状態で細胞分裂が停止し、細胞の多核化が生じる。このことが、心筋細胞の分裂増殖が停止するメカニズムのひとつであると考えられている²⁶⁾。なお、ヒトの心筋細胞は約75%が単核であるものの染色体の倍加は生じていることから、核分裂の前に細胞分裂が停止することが示されている²⁷⁾²⁸⁾。

出生後に生じる心筋細胞の分裂増殖が、生体にとってどのような意義があるかについては、損傷した心臓(心筋)を回復する「心臓再生」があげられる。2011年、新生児マウスの心臓を一部損傷させても、心筋細胞の分裂増殖やマクロファージの遊走を誘導することで、機能的、形態的な心筋再生が生じることが報告された²⁹⁾³⁰⁾。マウスでは出生7日目程度まで見られ、心臓再生を誘導する細胞シグナル伝達経路として Sonic hedgehog シグナルや PDGF シグナルなどが明らかになっている²⁴⁾³¹⁾。このように、心筋細胞の出生後分裂増殖の病態生理学的な機能については報告されているものの、一方で心臓の発達や恒常性維持などの生理現象においてどのような役割を有しているかについてはほとんどわかっていない。

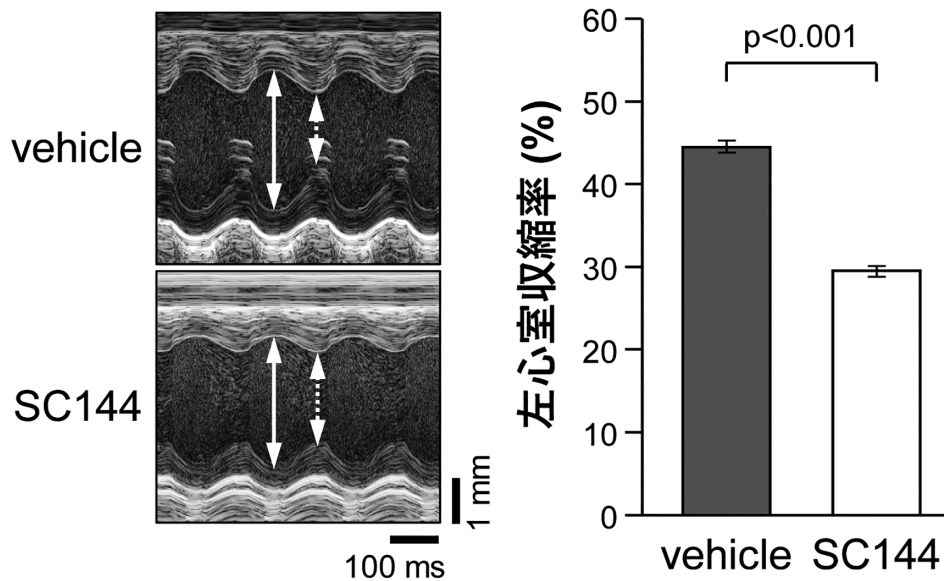


図2 gp130阻害薬 SC144を継続投与すると、左心室の収縮不全が生じる

出生後1日目～20日目まで vehicle, または SC144 (20 mg/kg 体重) を連日皮下投与した。20日目に心エコーを行い、左心室の収縮能について調べたところ、SC144投与群では左心室収縮率が有意に低下していた。心エコー像内の両矢印はそれぞれ、実線は拡張期、破線は収縮期を示す。

IV サイトカイン受容体 gp130

サイトカイン受容体 gp130は、さまざまな細胞の細胞膜に存在し、複数のシグナル伝達経路を介して、細胞の分裂増殖や分化を調節している³²⁾。そのリガンドは Interleukin-6 (IL-6) をはじめ、IL-11, Cardiotrophin-1 (CT-1), Leukemia inhibitory factor (LIF), Oncostatin M (OSM), Ciliary neurotrophic factor (CNTF) などの分子がこれまでに同定されている³³⁾。Gp130の機能については免疫細胞や癌細胞に関する報告が多いが、近年心筋細胞における機能も明らかになってきている。CT-1は、胚性幹細胞 (ES 細胞) から心筋細胞への分化誘導を促進する³⁴⁾。また CT-1は新生児ラット心筋細胞の肥大化を促し、その収縮力の増大を誘導することも報告されている³⁵⁾。LIF は、心筋細胞の興奮収縮連関に重要な L 型 Ca^{2+} チャンネルの活性化を誘導することが明らかになっている³⁶⁾。さらに、いくつかのリガンドは心筋細胞の分裂増殖についてもその関与が報告されている。ゼブラフィッシュは、その発達段階にかかわらず、心臓再生能を有していることが知られている。ゼブラフィッシュモデルにおいて、CNTF や IL-11が心筋細胞の分裂増殖を促し、心臓再生を正に制御することが示された³⁷⁾³⁸⁾。また最近、マウスにおいて、マクロファージから分泌される OSM が、心筋細胞の gp130に作用し、その分裂増殖

を亢進することが報告された³⁹⁾。このように、心筋細胞の gp130の機能は多岐にわたっていることが示されているが、それぞれのリガンドによって異なる細胞表現型が誘導されるメカニズムは不明であり、またその表現型変化が心臓の発達においてどのような意義を有しているかについてはほとんどわかっていない。

V gp130受容体の機能阻害による発達期の心臓への影響

マウスの心筋細胞の表現型変化は、離乳期 (出生 20～30日程度) までにほとんど完了する。そこでこの時期のマウスの心臓において、gp130がどのような役割をもっているかについて検討するために、出生1日目 (postnatal day 1, P1)～20日目まで、マウスに gp130特異的阻害薬 SC144を連日皮下投与した。P20で小動物用超音波高解像度イメージングシステムを用いて心エコー測定を行ったところ、SC144投与マウスの左心室収縮率が有意に低下していることがわかった (図2)。続いて、SC144投与による心機能の低下が、心筋細胞の gp130の抑制によるものであるかを検証するために、アデノ随伴ウイルス (AAV) を用いた組織特異的遺伝子改変マウスの作製を行った (CASA AV システム) (図3)⁴⁰⁾⁴¹⁾。本モデルは、CRISPR-Cas9系による遺伝子ノックアウトを誘導するものである。CRISPR-Cas9系とは、ガイド RNA (gRNA) という

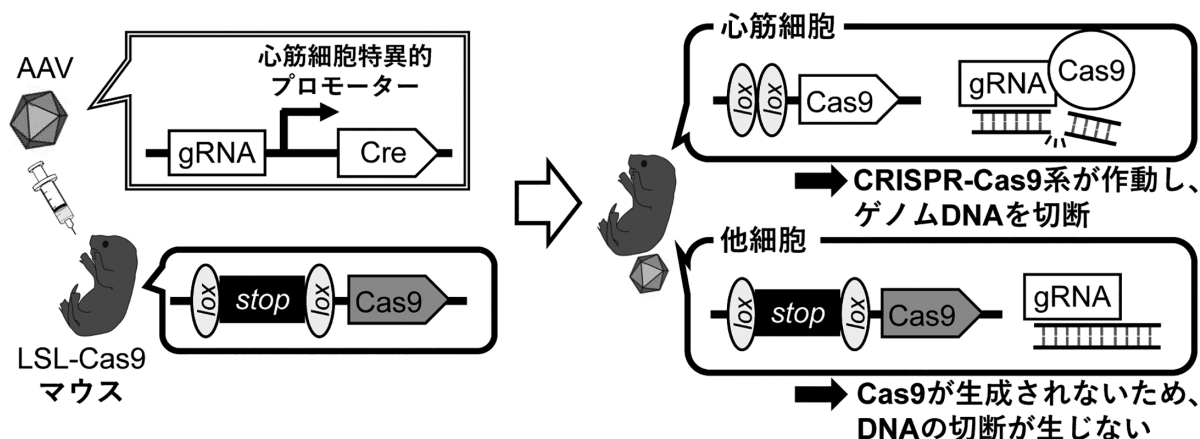


図3 CASA AAV システムによる遺伝子改変マウスの作製

特定の遺伝子配列を認識する gRNA と心筋細胞特異的に発現する Cre を有する AAV を、LSL-Cas9マウスに皮下注射する。するとこの遺伝子改変マウスの心筋細胞では Cre が lox 配列間を切除することにより、Cas9 が生成される。gRNA と Cas9 が細胞内に存在することで、ゲノム DNA 上の標的遺伝子配列を切断する (CRISPR-Cas9 系)。一方、心筋細胞以外では Cre が生成されないため、CRISPR-Cas9 系は作動しない。AAV: アデノ随伴ウイルス, gRNA: ガイド RNA, Cre: Cre リコンビナーゼ, Cas9: CRISPR-associated protein 9。

短鎖 RNA がゲノム DNA 上の標的遺伝子配列を認識し、その認識部位を DNA 切断酵素 Caspase が切断することで、遺伝子のノックアウトを誘導する遺伝子改変技術である⁴⁰⁾。gp130 遺伝子配列を認識する gRNA と、cardiac TnT プロモーターによる駆動によって心筋細胞特異的に発現する Cre リコンビナーゼ (DNA 組み換え酵素) を AAV に組み込み、P1 の B6J.129 (B6N)-Gt (ROSA) 26Sor^{tm1 (CAG-cas9⁺-EGFP) Fezh / J} (LSL-Cas9, Jackson Laboratories STOCK No. 026175) マウスに皮下注射することで、心筋細胞特異的な gp130 ノックアウトマウス (CM-Δ gp130) を作出した。CM-Δ gp130 マウスは、コントロールマウスと比べ、外観に異常は見られず、体重および心臓や主要臓器の重量についても差は認められなかった。しかし P20 の CM-Δ gp130 マウスの心エコー解析を行ったところ、SC144 投与マウスと同様に左心室収縮率が有意に低下していた (図 4 A)。また、病理組織学解析の結果、CM-Δ gp130 の右心室壁には変化が見られなかったが、左心室壁は薄くなっていた (図 4 B)。これらの結果から、離乳期までのマウス心臓の機能的発達に、心筋細胞の gp130 が必要であることが判明した。

VI gp130 受容体は心筋細胞の肥大や分裂増殖に必要な

Gp130 の抑制による左心室収縮率の低下が、どのようなメカニズムによって生じるかを明らかにするため

に、心室筋細胞の表現型について解析を行った。コントロールマウス、CM-Δ gp130 マウスからそれぞれ心室筋細胞を急性単離し⁴²⁾、興奮収縮連関や収縮タンパク質、ミトコンドリアの形状について解析を行ったが、これらの表現型には有意な差を認めなかった。次に、CM-Δ gp130 マウスの左心室壁が薄くなっていたことから、心室筋細胞のサイズや数について調査を行った。P20 のマウスから単離したそれぞれの心室筋細胞のサイズを比較したところ、CM-Δ gp130 マウスの心室筋細胞が小さいことが判明した。続いて、マウス心室内の心筋細胞の分裂度を解析するために、分裂増殖した細胞を標識する 5-ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU) を用いた組織免疫染色を行った。その結果、CM-Δ gp130 マウスの心臓では、左心室の心筋細胞の分裂増殖頻度がほぼ半減していた (図 4 C)。この分裂増殖の低下が、実際に左心室内の心筋細胞の数に影響するかについて検討を行った。二次元画像情報を基にして三次元構造を推定する Stereology 解析を用いて⁴³⁾、コントロールマウス、CM-Δ gp130 マウスの左心室内の総心筋細胞数を定量した結果、CM-Δ gp130 マウスにおいてその数が有意に減少していることがわかった (図 4 D)。これらの結果は、CM-Δ gp130 マウスでは発達段階における心室筋細胞の肥大や分裂増殖が阻害されることにより左心筋壁厚が低下し、心臓の収縮力低下の原因となったことを強く示唆した。

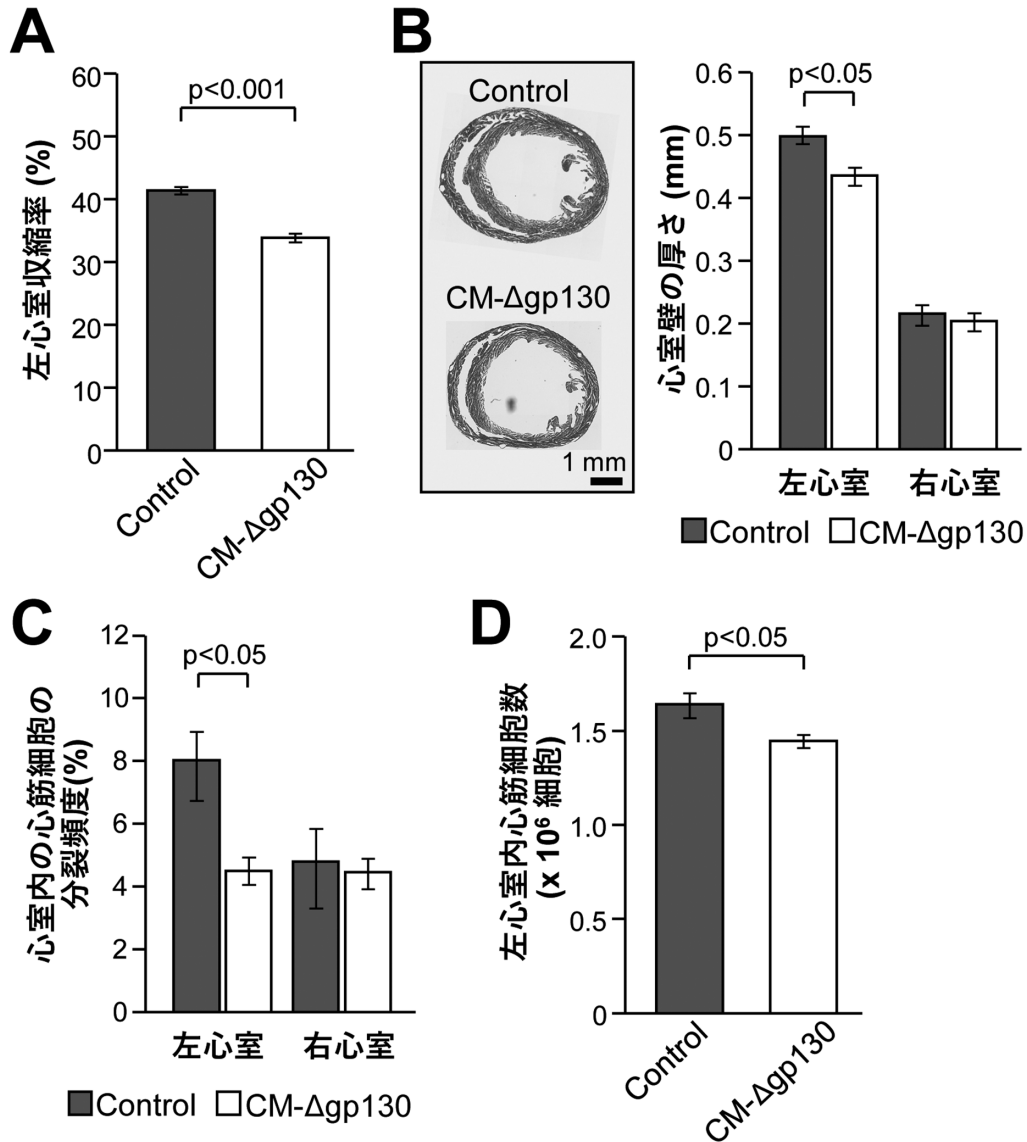


図4 心臓特異的 gp130ノックアウトマウスでは左心室の心筋細胞数が減少しており、左心室の収縮不全が認められた
 A: P20の CM-Δ gp130マウスでは左心室収縮率の有意な低下が認められた。
 B: 左: P20の心臓の横断切片図。右: それぞれのマウスの心室筋層の厚さを測定した。P20の CM-Δ gp130マウスでは、コントロールマウスに比べ、左心室筋が薄くなっていた。右心室では両群に有意な差を認めなかった。
 C: 分裂細胞を標識する EdU を P4マウスに投与し、24時間後に心室筋内の心筋細胞の分裂増殖について定量した。CM-Δ gp130マウスは、左心室の心筋細胞の分裂頻度が半減していた。
 D: Stereology 解析により、P20の両群マウスの左心室内の心筋細胞総数を推定した。CM-Δ gp130マウスは、コントロールマウスに比べ、左心室内の心筋細胞総数が有意に少なかった。

VII IL-6/gp130/JAK-STAT 経路は心筋細胞の分裂増殖を正に制御する

前述のように、gp130には複数のリガンド分子が作用することが知られている。そこで、新生児マウスの単離心室筋細胞において、どの分子が分裂増殖を誘導するかについて検討を行った。その結果、IL-6が強く心室筋細胞の分裂増殖を誘導した(図5A)。続いて、

IL-6が刺激する gp130の下流シグナル経路について解析を行った。Gp130の下流にあるシグナル伝達経路として、JAK-STAT 経路、MARK 経路、PI3k-Akt 経路などが知られている。IL-6を添加することで、これらの経路のうち JAK-STAT 経路のみが有意に活性化された。さらに、マウス生体における心筋細胞の IL-6/gp130経路の作用についてより詳細な解析を行った。各日齢のマウスにおいて、心臓の IL-6タンパク質の

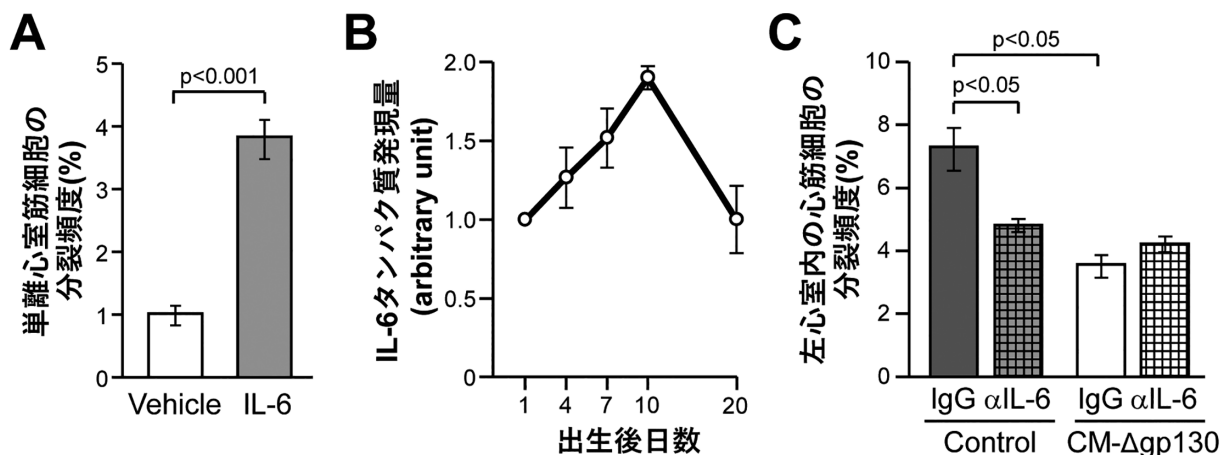


図5 出生後の心筋細胞分裂増殖にIL-6/gp130シグナル系が重要である

- A: 新生児マウス単離心室筋細胞をIL-6 (10ng/mL) で48時間処理することで、分裂増殖が有意に亢進した。
 B: 各日齢のマウス左心室筋からタンパク質を調製し、ImmunoblottingにてIL-6タンパク質の発現量を解析した。出生後10日目までIL-6発現量の上昇が見られ、20日の時点で消失した。
 C: コントロールマウス、CM- Δ gp130マウスに、コントロールIgGおよびIL-6抗体 (α IL-6, 1.5 mg/kg 体重) をP1, P3の時点で腹腔内投与した後、P5に左心室の心筋細胞の分裂増殖を解析した。コントロールマウスでのみ、 α IL-6投与による分裂増殖阻害が確認された。

発現レベルを調べたところ、日齢と共にその発現量が増大した。この上昇は一過性のものであり、心筋細胞の出生後分裂がほぼ停止したP20においてはIL-6の発現は低かった(図5B)。次に、生体内での心筋細胞の分裂増殖におけるIL-6の機能について検討した。P1~P4のコントロールマウス、CM- Δ gp130マウスにIL-6中和抗体を投与することでIL-6のはたらきを阻害し、心筋細胞の分裂増殖がどのように変化するかについて評価を行った。その結果、IL-6中和抗体の投与によって、左心室の心筋細胞分裂が有意に抑制された。この作用はコントロールマウスでのみ確認され、心筋細胞のgp130がロックアウトされているCM- Δ gp130マウスでは見られなかった(図5C)。以上の結果から、IL-6によるgp130/JAK-STAT経路の活性化が、マウス心筋細胞の出生後分裂増殖を正に制御していることが明らかとなった。

VIII gp130受容体のリガンドは、それぞれ異なった心筋細胞の表現型を誘導する

単離心室筋細胞を用いた検討から、IL-6以外のリガンドも心筋細胞の表現型に影響を及ぼすことが判明した(図6)。IL-6に加え、CNTFを添加することでも心室筋細胞の分裂増殖が誘導された。一方、IL-11やCT-1, LIFを添加すると、細胞の肥大化やサルコメア合成が促進された。OSMは、心室筋細胞の分裂増殖およびサルコメア合成の両方を亢進した。これらの結果は、各リガンドが心室筋細胞のgp130を介してそれぞれ異なる表現型を誘導することを示している。Gp130の下流シグナル経路についても同様で、添加するリガンド分子によって活性化されるシグナル経路が異なることが明らかになった。その傾向として、IL-6とCNTFはJAK-STAT経路のみを活性化し分裂増殖を、IL-11, CT-1, LIFはJAK-STAT経路に加えMAPK経路も活性化することで細胞の形態的変化を誘導することが示された。興味深いことに、心室筋細胞の分裂増殖とサルコメア合成を促進したOSMは、解析した三種類のシグナル経路すべてを活性化した。以上の結果は、gp130の各リガンドは受容体に作用することでそれぞれ異なるシグナル経路を活性化し、その経路によって心筋細胞に異なる表現型変化を誘導することを示している。すなわち、それぞれのリガンドはgp130受容体を介したシグナル経路に対する「バイアス性」を有しており、出生後の心筋細胞の分裂増殖や肥大化を制御していることが明らかになった。

IX おわりに

この時期の心臓の機能的な発達は、哺乳動物が出生後の子宮外環境に適応するために必要な生理現象である。今回筆者らは、発達期のマウス心臓におけるgp130受容体の生理的意義について研究を行った。心

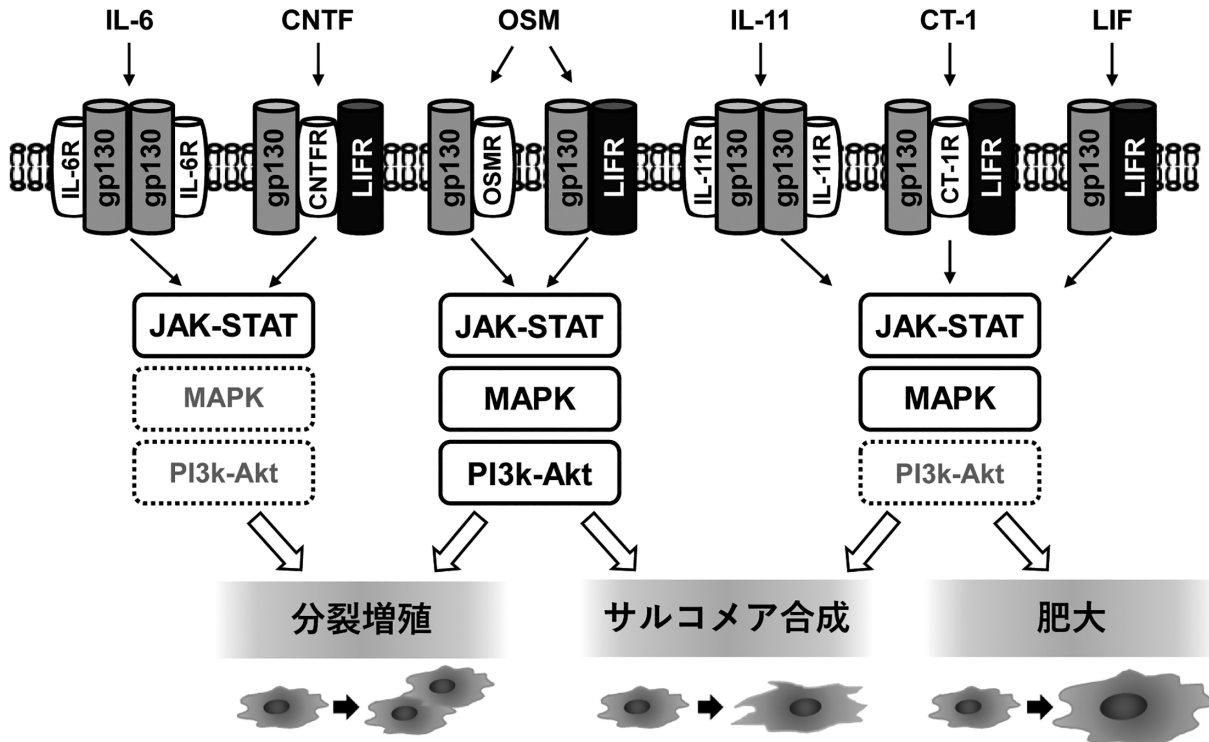


図6 gp130を介したリガンド特異的シグナル伝達経路と心筋細胞への作用
 IL-6R: IL-6 receptor, CNTFR: CNTF receptor, LIFR: LIF receptor,
 IL-11R: IL-11 receptor, CT-1R: CT-1 receptor。

筋細胞特異的に gp130を阻害すると、左心室の心筋細胞サイズや数の減少、左心室筋の薄化、左心室収縮能不全が引き起こされた。特に IL-6によって gp130を介した心筋細胞の分裂増殖が強く誘導され、その作用は JAK-STAT 経路の活性化によるものであった。さらに、gp130に作用する他のリガンドは心筋細胞の肥大化やサルコメア合成の促進を誘導した。したがって、gp130受容体を介したシグナル伝達は、マウス心筋細胞の出生後に生じる分裂増殖や肥大化といった変化を制御しており、心臓の機能的発達に極めて重要であることが明らかとなった⁴⁴⁾⁴⁵⁾。

ヒトやマウスの胎生期～乳児期に生じる心筋細胞の表現型変化を制御している分子メカニズムについて理解することは、iPS細胞による心筋再生の分野において重要な知見となると考えられる。iPS細胞由来心筋細胞の成人型への分化や、異常な分裂増殖を抑えることで癌細胞化の抑制などが可能になり、心筋再生医療のさらなる進捗が期待できる。またヒトの心筋細胞も、マウスと同様に、出生後に一定回数分裂増殖することが報告されている⁴⁶⁾。近年、Developmental Origins of

Health and Disease (DOHaD) という概念が定着しつつあり、これは胎児期～幼少期の環境が、成長後の慢性疾患リスクに影響を与えるというものである⁴⁷⁾⁴⁸⁾。ヒトでは、左心室の心筋細胞総数が出生後も増加し続け、20歳までに0歳児の約4倍に達する。また心筋細胞の大きさは同様に約20倍になることが報告されており、これらの異常は将来の心疾患の原因となる可能性が推測される⁴⁹⁾。実際に、筆者らの研究により、マウスの心筋細胞の分裂増殖や肥大化を抑制することにより、成長後の心臓の収縮不全が生じた。発達期の心筋細胞の表現型変化とその影響について理解を深めることにより、幼少期の病歴や治療歴、低酸素などの環境曝露経験から将来の心疾患リスクを予想することが期待でき、心臓における DOHaD に対するより高度なマネジメントが可能になると考えられる。心筋再生医療の分野とともに、今後は、臨床現場と基礎研究により得られた知見を融合させ、健康寿命のさらなる増進に貢献できるようなトランスレーショナルリサーチの展開を期待したい。

文 献

- 1) Cardiovascular diseases (CVDs). World Health Organisation (WHO). [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)). Accessed August 22, 2022
- 2) Heidenreich PA, Fonarow GC, Opsha Y, et al: Economic Issues in Heart Failure in the United States. *J Card Fail* 28: 453-466, 2022
- 3) Kodera S, Kiyosue A, Ando J, et al: Cost-effectiveness analysis of cardiovascular disease treatment in Japan. *Int Heart J* 58: 847-852, 2017
- 4) McMurray JJV, Pfeffer MA: Heart failure. *Lancet* 365: 1877-1889, 2005
- 5) Hinton RB, Ware SM: Heart Failure in Pediatric Patients with Congenital Heart Disease. *Circ Res* 120: 978-994, 2017
- 6) Yoshida Y, Yamanaka S: Induced Pluripotent Stem Cells 10 Years Later. *Circ Res* 120: 1958-1968, 2017
- 7) Yamakawa H: Heart regeneration for clinical application update 2016: from induced pluripotent stem cells to direct cardiac reprogramming. *Inflamm. Regen* 36: 2016
- 8) Bers DM: Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature* 415: 198-205, 2002
- 9) Guo Y, Pu WT: Cardiomyocyte maturation: New phase in development. *Circ Res* 1086-1106, 2020
- 10) Karbassi E, Fenix A, Marchiano S, et al: Cardiomyocyte maturation: advances in knowledge and implications for regenerative medicine. *Nat Rev Cardiol* 17: 341-359, 2020
- 11) Ziman AP, Gómez-Viquez NL, Bloch RJ, Lederer WJ: Excitation-contraction coupling changes during postnatal cardiac development. *J Mol Cell Cardiol* 48: 379-386, 2010
- 12) Hoshino S, Omatsu-Kanbe M, Nakagawa M, Matsuura H: Postnatal developmental decline in IK1 in mouse ventricular myocytes isolated by the Langendorff perfusion method: comparison with the chunk method. *Pflugers Arch* 463: 649-668, 2012
- 13) Reiser PJ, Portman MA, Ning XH, Moravec CS: Human cardiac myosin heavy chain isoforms in fetal and failing adult atria and ventricles. *Am J Physiol Hear Circ Physiol* 280: 2001
- 14) Siedner S, Krüger M, Schroeter M, et al: Developmental changes in contractility and sarcomeric proteins from the early embryonic to the adult stage in the mouse heart. *J Physiol* 548: 493-505 2003
- 15) Makinde AO, Kantor PF, Lopaschuk GD: Maturation of fatty acid and carbohydrate metabolism in the newborn heart. *Mol Cell Biochem* 188: 49-56, 1998
- 16) Foglia MJ, Poss KD: Building and re-building the heart by cardiomyocyte proliferation. *Dev* 143: 729-740, 2016
- 17) Senyo SE, Steinhauser ML, Pizzimenti CL, et al: Mammalian heart renewal by pre-existing cardiomyocytes. *Nature* 493: 433-436, 2013
- 18) Alkass K, Panula J, Westman M, Wu T Di, Guerquin-Kern JL, Bergmann O: No Evidence for Cardiomyocyte Number Expansion in Preadolescent Mice. *Cell* 163: 1026-1036, 2015
- 19) Mahmoud AI, Kocabas F, Muralidhar SA, et al: Meis1 regulates postnatal cardiomyocyte cell cycle arrest. *Nature* 497: 249-253, 2013
- 20) Liu R, Jagannathan R, Li F, et al: Tead1 is required for perinatal cardiomyocyte proliferation. *PLoS One* 14: 2019
- 21) Heallen T, Zhang M, Wang J, et al: Hippo pathway inhibits wnt signaling to restrain cardiomyocyte proliferation and heart size. *Science* 332: 458-461, 2011
- 22) Eulalio A, Mano M, Ferro MD, et al: Functional screening identifies miRNAs inducing cardiac regeneration. *Nature* 492: 376-381, 2012
- 23) Mohamed TMA, Ang YS, Radzinsky E, et al: Regulation of Cell Cycle to Stimulate Adult Cardiomyocyte Proliferation and Cardiac Regeneration. *Cell* 173: 104-116.e12, 2018
- 24) Yue Z, Chen J, Lian H, et al: PDGFR- β Signaling Regulates Cardiomyocyte Proliferation and Myocardial Regeneration.

Cell Rep 28 : 966–978.e4, 2019

- 25) D'Uva G, Aharonov A, Lauriola M, et al: ERBB2 triggers mammalian heart regeneration by promoting cardiomyocyte dedifferentiation and proliferation. *Nat Cell Biol* 17 : 627–638, 2015
- 26) Li F, Wang X, Capasso JM, Gerdes AM : Rapid transition of cardiac myocytes from hyperplasia to hypertrophy during postnatal development. *J Mol Cell Cardiol* 28 : 1737–1746, 1996
- 27) Brodsky VY, Arefyeva AM, Gvasava IG, Sarkisov DS, Panova NW : Polyploidy in cardiac myocytes of normal and hypertrophic human hearts; range of values. *Virchows Arch* 424 : 429–435, 1994
- 28) Olivetti G, Cigola E, Maestri R, et al : Aging, cardiac hypertrophy and ischemic cardiomyopathy do not affect the proportion of mononucleated and multinucleated myocytes in the human heart. *J Mol Cell Cardiol* 28 : 1463–1477, 1996
- 29) Porrello ER, Mahmoud AI, Simpson E, et al : Transient Regenerative Potential of the Neonatal Mouse Heart. *Science* 331 : 1078–1080, 2011
- 30) Aurora AB, Porrello ER, Tan W, et al : Macrophages are required for neonatal heart regeneration. *J Clin Invest* 124 : 1382–1392, 2014
- 31) Kawagishi H, Xiong J, Rovira II, et al : Sonic hedgehog signaling regulates the mammalian cardiac regenerative response. *J Mol Cell Cardiol* 123 : 180–184, 2018
- 32) Fischer P, Hilfiker-Kleiner D : Survival pathways in hypertrophy and heart failure : The gp130-STAT3 axis. *Basic Res Cardiol* 102 : 279–297, 2007
- 33) Xu S, Neamati N : Gp130 : A promising drug target for cancer therapy. *Expert Opin Ther Targets* 17 : 1303–1328, 2013
- 34) Mascheck L, Sharifpanah F, Tsang SY, Wartenberg M, Sauer H : Stimulation of cardiomyogenesis from mouse embryonic stem cells by nuclear translocation of cardiotrophin-1. *Int J Cardiol* 193 : 23–33, 2015
- 35) Pennica D, King KL, Shaw KJ, et al : Expression cloning of cardiotrophin 1, a cytokine that induces cardiac myocyte hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci* 92 : 1142–1146, 1995
- 36) Takahashi E, Fukuda K, Miyoshi S, et al : Leukemia inhibitory factor activates cardiac L-type Ca²⁺ channels via phosphorylation of serine 1829 in the rabbit Cav1.2 subunit. *Circ Res* 94 : 1242–1248, 2004
- 37) Bise T, de Preux Charles AS, Jaźwińska A : Ciliary neurotrophic factor stimulates cardioprotection and the proliferative activity in the adult zebrafish heart. *NPJ Regen Med* 4 : 2019
- 38) Fang Y, Gupta V, Karra R, Holdway JE, Kikuchi K, Poss KD : Translational profiling of cardiomyocytes identifies an early Jak1/Stat3 injury response required for zebrafish heart regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110 : 13416–13421, 2013
- 39) Li Y, Feng J, Song S, et al : Gp130 Controls Cardiomyocyte Proliferation and Heart Regeneration. *Circulation* 967–982, 2020
- 40) Platt RJ, Chen S, Zhou Y, et al : CRISPR-Cas9 knockin mice for genome editing and cancer modeling. *Cell* 159 : 440–455, 2014
- 41) Guo Y, Vandusen NJ, Zhang L, et al : Analysis of Cardiac Myocyte Maturation Using CASA AV, a Platform for Rapid Dissection of Cardiac Myocyte Gene Function in Vivo. *Circ Res* 120 : 1874–1888, 2017
- 42) Omatsu-Kanbe M, Yoshioka K, Fukunaga R, Sagawa H, Matsuura H : A simple antegrade perfusion method for isolating viable single cardiomyocytes from neonatal to aged mice. *Physiol Rep* 6 : e13688, 2018
- 43) Sampaio-Pinto V, Silva ED, Laundos TL, da Costa Martins P, Pinto-do-Ó P, Nascimento DS : Stereological estimation of cardiomyocyte number and proliferation. *Methods* 190 : 55–62, 2021
- 44) Kawagishi H, Nakada T, Numaga-Tomita T, et al : Cytokine receptor gp130 promotes postnatal proliferation of cardiomyocytes required for the normal functional development of the heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 323 : H103–H120, 2022
- 45) Obana M, Maeda M, Fujio Y : Glycoprotein 130 orchestrates signal transduction network to promote cardiomyocyte

proliferation for normal growth. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 323: H125-H127, 2022

- 46) Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S, et al: Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science* 324: 98-102, 2009
- 47) Barker DJ, Osmond C: Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet* 327: 1077-1081, 1986
- 48) 池住洋平: 低出生体重児と臓器障害 (DOHaD 説). *日内会誌* 107: 1385-1390, 2018
- 49) Mollova M, Bersell K, Walsh S, et al: Cardiomyocyte proliferation contributes to heart growth in young humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 1446-1451, 2013

(R 4. 8. 26 受稿)
