

距離走における四肢の動き. 第62回日本体力医学会. 秋田, 9月. [体力科学 2007; 56(6): 810]

- 3) Yamaguchi M, Otsuka Y. Structural change of mutant troponin related to cardiomyopathy. 日本生物物理学会第45回年会. 横浜, 12月. [生物物理 2007; 47(Suppl): S61]
- 4) Aoki H, Kimura M, Takemori S. Water retaining ability of skinned skeletal muscle as a gel: effects of ionic strength and ion species. 日本生物物理学会第45回年会. 横浜, 12月. [生物物理 2007; 47(Suppl): S60]
- 5) Kimura M, Aoki H, Takemori S. The effects of trehalose on the contractility of mechanically skinned fibers of frog skeletal muscle. 日本生物物理学会第45回年会. 横浜, 12月. [生物物理 2007; 47(Suppl): S61]
- 6) Ohno T. Measurement of the myofibril suspension. 第85回日本生理学会大会. 東京, 3月. [J Physiol Sci 2008; 58(Suppl): S65]
- 7) Yamaguchi M, Otsuka Y. Molecular dynamics of troponin mutant related to cardiomyopathy. 第85回日本生理学会大会. 東京, 3月. [J Physiol Sci 2008; 58(Suppl): S66]
- 8) Watanabe M (Tokyo Med Univ), Yagi N (2 SPring-8/JASRI), Takemori S, Yamaguchi M, Kimura M, Ishida Y (Bunkyo Gakuin Univ). An X-ray diffraction study on skinned smooth muscles from guinea pig teania caeci. 第85回日本生理学会大会. 東京, 3月. [J Physiol Sci 2008; 58(Suppl): S65]
- 9) Takemori S, Kimura M, Tanaka H (Shin-Shibamata Clinic), Asai R¹⁾, Yoneyama M¹⁾, Inoue Y¹⁾(¹Ochanomizu Surugadai Clinic). Activity of water in skeletal muscle. 第85回日本生理学会大会. 東京, 3月. [J Physiol Sci 2008; 58(Suppl): S65]
- 10) Kimura M, Takemori S, Tanaka H (Shin-Shibamata Clinic), Asai R¹⁾, Yoneyama M¹⁾, Inoue Y¹⁾(¹Ochanomizu Surugadai Clinic). Water classification by MRI analysis and histological and cellular physiological feature. 第85回日本生理学会大会. 東京, 3月. [J Physiol Sci 2008; 58(Suppl): S213]

細胞生理学講座

| | | |
|-------|---|-------------------------|
| 教授: | 栗原 敏 | 心筋の興奮収縮連関 体力医学 |
| 客員教授: | 大槻 磐男 | トロポニンによる心筋の 収縮制御 |
| 客員教授: | 小西 真人 | Mg ²⁺ の輸送 |
| 講師: | 須田 憲男 | 骨格筋・心筋の興奮収縮 連関 |
| 講師: | 草刈洋一郎 <small>(米国, ハーバード大学に留学中)</small> | 心筋の興奮収縮連関 |
| 講師: | 福田 紀男 | 心筋・骨格筋の収縮制御 の分子メカニズム |

教育・研究概要

I. 心筋の興奮収縮連関に関する研究

1) α_1 アドレナリン受容体のサブタイプによる L型Ca²⁺電流の調節に関する研究

α_1 アドレナリン受容体は、 β アドレナリン受容体と共に、生理学的条件下および病態時にアゴニストによって刺激され、心筋細胞機能を調節している。我々は、 α_1 アドレナリン受容体刺激によって惹起される細胞内情報伝達系は、受容体サブタイプと受容体に結合しているGタンパク質のレベルで大きく2つの経路に分かれることを初めて示した。生理学的、薬理的、および生化学的方法によって検討した結果、 α_{1A} と α_{1B} 受容体サブタイプはそれぞれ異なるGタンパク質、 $G_{q/11}$ と G_o に結合していることが明らかになった。 α_{1A} 受容体刺激は、 $G_{q/11}$ を介してCa²⁺電流を増加させ、 α_{1B} 受容体刺激は、百日咳毒素感受性Gタンパク質である G_o を介して直接、L型Ca²⁺チャンネル活性を抑制する作用を示すことが明らかになった。我々が報告した α_1 アドレナリン受容体刺激における、新規の百日咳毒素感受性シグナルは、 β_2 アドレナリン受容体シグナルと同様に、細胞のCa²⁺オーバーロードに対して心筋保護的に作用することが示唆された。

2) マウス心室筋の筋小胞体(SR)によるCa²⁺ハンドリングのメカニズムに関する研究

筋小胞体は細胞内Ca²⁺調節の主役である。筋小胞体はCa²⁺取り込みとともにCa²⁺放出チャネルからCa²⁺を放出する。昨年までは、Ca²⁺ポンプ蛋白の機能とCa²⁺放出チャネルからのCa²⁺リークの関係調べ、筋小胞体のCa²⁺取り込み量、Ca²⁺取り込み速度は、Ca²⁺リークに大きな影響を与えないことが明らかになった。本年はCa²⁺放出チャネルを

PKA でリン酸化したときの Ca^{2+} リークの変化を検討した。 Ca^{2+} 放出チャネルを PKA でリン酸化すると、 Ca^{2+} 取り込み直後にはリークの著変は見られないが、2-3 分後にリークが増えた。しかし、定常状態における、筋小胞体の Ca^{2+} 含有量に変化は見られなかった。今後、 Ca^{2+} 放出チャネルのリン酸化と Ca^{2+} リークの定量的関係を検討する。

3) Frank-Starling の心臓の法則の分子メカニズムに関する研究

Frank-Starling の心臓の法則は、摘出心筋レベルにおいて活性張力が筋長とともに増大するという“筋長効果”に置き換えて考えることができる。その分子メカニズムをトロポニンに焦点を当てて検討した。我々はスキンド標本を用いて、ブタ心筋のトロポニンをウサギ骨格筋トロポニンと入れ替えることによって、トロポニンに依存した細いフィラメントレベルにおける筋長効果のメカニズムを調べた。心筋トロポニンを骨格筋トロポニンと入れ替えると、筋長効果は心筋コントロール群に比べて減弱し、骨格筋における筋長効果とほぼ同様の効果が観察された。従って、筋長効果は細いフィラメントのレベルで調節されていることが示唆された。次に、クロスブリッジのうち力発生クロスブリッジを増やす MgADP 濃度をあげると筋長効果は小さくなり、力発生クロスブリッジを抑制するリン酸濃度を上げると筋長効果は大きくなった。これらの結果より、 Ca^{2+} 感受性が高いと筋長効果は小さくなり、その逆も成り立つことが示唆された。

4) 心筋の自発的振動現象に関する研究

細胞膜を除去した心筋スキンドファイバーは、中間活性化条件において自発的振動現象 (SPOC) を示す。SPOC には二つのタイプがある。一つは低濃度の Ca^{2+} 存在下で生じる Ca^{2+} -SPOC であり、他の一つは ADP と無機リン酸共存下で生じる ADP-SPOC である。我々は、SPOC 中のサルコメアの振動周期が、各種動物の静止時の心拍数と正の相関を示すことを報告した。本研究では、SPOC の生理的役割を明らかにするため、興奮収縮連関のユニットとなっている単一心筋細胞を用いて SPOC の波形解析を行った。すなわち、蛍光物質である量子ドットに α アクチニン抗体を結合させ、単離心筋細胞の Z 線の動きを、単一サルコメア (sarcomere) のレベルでイメージングした。サルコメア長を変化させて振動周期と振幅の解析を行ったところ、 Ca^{2+} -SPOC および ADP-SPOC について、スキンドファイバーで得られた結果とほぼ同じ結果を得た。これらの結果は、サルコメアの自励振動特性が心拍調節に関与

している可能性を示唆する。

5) 拡張型心筋症に関する研究

九州大学大学院との共同研究で、変異トロポニン をノックインした拡張型心筋症モデルマウスの研究を進めている。心室の拡張などをエコーで確認した。また、 Ca^{2+} 感受性の低下を認め、これが収縮不全の要因と考えている。

II. ヒト副甲状腺の Ca^{2+} シグナルに関する研究

本学の腎臓高血圧内科との共同研究として進行中のプロジェクトである。 Ca^{2+} 感受性蛍光色素を負荷したヒト培養副甲状腺細胞を共焦点レーザー顕微鏡下に 150 mM K^+ 溶液 (1.5 mM Ca^{2+}) で 30 秒以上脱分極した後では、 150 mM K^+ または 3.0 mM Ca^{2+} 溶液を投与しても蛍光強度の一過性の上昇 (Ca^{2+} 流入) が観察されなかった。この結果は持続する脱分極で不活性化される Ca^{2+} 流入経路の存在を示唆する (論文投稿中)。

昨年まで、標準の DMEM 液 ($1.8 \text{ mM [Ca}^{2+}]$) を副甲状腺細胞の培養に用いていたので、生理的な遊離 Ca^{2+} 濃度である $1.2 \text{ mM [Ca}^{2+}]$ より低濃度で培養した場合の電位依存性 Ca^{2+} 流入活性について検討した。試験液 $1.5 \text{ mM [Ca}^{2+}]$ 。中で 150 mM K^+ 溶液の投与により誘起される蛍光強度の一過性増加 (Ca^{2+} 流入) の程度は $1.8 > 1.2 > 0.9 \text{ mM [Ca}^{2+}]$ 。となり、 $1.8 \text{ mM [Ca}^{2+}]$ と $0.9 \text{ mM [Ca}^{2+}]$ との間で統計学的に有意差を認めた ($p < 0.001$)。この結果は、血清 Ca^{2+} 濃度の上昇により電位依存性 Ca^{2+} チャネルの発現量が増え、副甲状腺ホルモンの分泌が抑制されるという負のフィードバック機構の存在を示唆する。様々な脱分極パルスにより流入する Ca^{2+} の全電荷量と蛍光強度の相関についてさらに検討する予定である。

「点検・評価」

研究としては心筋の興奮収縮連関、筋長効果の分子メカニズム、自励振動現象のメカニズム、拡張型心筋症モデルマウス心筋の特性、ヒト培養副甲状腺細胞における Ca^{2+} 流入機構のメカニズムの解明が行われている。心筋に関する研究は順調に進み、海外英文誌に論文が発表されつつある。毎週、金曜日の午前中に教室を開き、研究の進捗状況を発表することにしており、大学院の単位として認めている。

細胞生理学講座が担当している教育は、医学部の基礎医科学 II、症候学演習、臨床疫学 I、生理学実習、看護学科の講義、看護専門学校 (慈恵看護専門学校、青戸看護専門学校、第三看護専門学校) の講義など

である。また、英文論文抄読演習や情報科学の講義・演習もあり多忙を極めている。

生理学実習は宇宙航空医学研究室の須藤正道准教授、豊島裕子講師と、臨床検査医学講座の鈴木政登教授の協力を得て行われている。また、大学院生がティーチングアシスタントとして協力している。草刈講師が留学中であるが、教室員が一致協力して教育にあっている。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Yumoto F, Nagata K¹⁾, Miyauchi Y¹⁾, Ojima T²⁾, Tanaka H²⁾, Nishita K²⁾(²Hokkaido University), Ohtsuki I, Tanokura M¹⁾(¹Tokyo University). Crystallization and preliminary X-ray analysis of the Ca²⁺-bound C-terminal lobe of troponin C in complex with a troponin I-derived peptide fragment from Akazara scallop. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun* 2007; 63(Pt 6): 535-7.
- 2) Udaka J, Ohmori S¹⁾, Terui T, Ohtsuki I, Ishiwata S¹⁾(¹Waseda University), Kurihara S, Fukuda N. Disuse-induced preferential loss of the giant protein titin depresses muscle performance via abnormal sarcomeric organization. *J Gen Physiol* 2008; 131(1): 33-41.
- 3) Terui T, Sodnomtseren M¹⁾, Matsuba D, Udaka J, Ishiwata S¹⁾(¹Waseda University), Ohtsuki I, Kurihara S, Fukuda N. Troponin and titin coordinately regulate length-dependent activation in skinned porcine ventricular muscle. *J Gen Physiol* 2008; 131(3): 275-83.
- 4) Mizuno J¹⁾, Otsuji M¹⁾, Arita H, Hanaoka K¹⁾(¹Tokyo University), Morita S (Teikyo University), Akins R (Alfred I. duPont Hospital for Children), Hirano S, Kusakari Y, Kurihara S. Characterization of intracellular Ca²⁺ transient by the hybrid logistic function in aequorin-injected rabbit and mouse papillary muscles. *J Physiol Sci* 2007; 57(6): 349-59.

II. 総説

- 1) Fukuda N, O-Uchi J, Kurihara S. Neuronal NO Synthase-Derived NO: A Novel Relaxing Factor in Myocardium? *Circ Res* 2008; 102(2): 148-50.

III. 学会発表

- 1) Morimoto S, Kawai M, Komukai K, Hongo K, Sasaki H, Kurihara S. Modulation of Ca²⁺ uptake rate in SR does not affect Ca²⁺ content and Ca²⁺ leakage in saponin-treated mouse myocardium. XIX World Congress of the ISHR (International Society for Heart Research). Bologna, June. [*J Mol Cell Cardiol* 2007; 42(Suppl): S40]
- 2) Morimoto S, Kawai M, Komukai K, Hongo K, Sasaki H, Kurihara S. Modulation of Ca²⁺ uptake rate in SR does not affect Ca²⁺ content and Ca²⁺ leakage in saponin-treated mouse myocardium. The 19th World Congress of the International Society for Heart Research. Bologna, June. [*J Mol Cell Cardiol* 2007; 42(Suppl): S40]
- 3) Morimoto S, Kurihara S. Overexpression of sarcolipin does not affect Ca²⁺ leakage at a steady state in saponin-treated mouse myocardium. 第30回心筋代謝研究会. 京都, 7月. [*Exp Clin Cardiol* 2007; 12(2): 104]
- 4) Morimoto S, Kawai M, O-Uchi J, Komukai K, Hongo K, Takeda T¹⁾, Otsu K¹⁾(¹Osaka University School of Medicine), Kurihara S. Ca²⁺ content and Ca²⁺ leakage at a steady state are not influenced by genetic modulation of Ca²⁺ uptake rate in SR. The 11th Scientific Meeting of the Japanese Heart Failure Society (第11回日本心不全学会学術集会). Chiba, Sept. [*J Card Fail* 2007; 13(6 Suppl.1): S29]
- 5) 宇高 潤, 福田紀男, 大槻啓男, 丸毛啓史, 栗原 敏. 長期不動化によるラットヒラメ筋の構造変化が収縮特性にもたらす影響. 第22回日本整形外科学会基礎学術集会. 浜松, 10月. [*J Jpn Orthop Assoc* 2007; 81(8): S975]
- 6) Udaka J, Kurihara S, Fukuda N. Disuse-induced changes in fatigability in rat soleus muscle. Biophysical Society 52nd Annual Meeting. Long Beach, Feb. [*Biophys J* 2008; 94 (Meeting Abstracts): 132]
- 7) Terui T, Sodnomtseren M¹⁾, Matsuba D, Udaka J, Ishiwata S¹⁾(¹Waseda University), Ohtsuki I, Kurihara S, Fukuda N. Effects of Troponin exchange on length-dependent activation in skinned porcine ventricular muscle. Biophysical Society 52nd Annual Meeting. Long Beach, Feb. [*Biophys J* 2008; 94(Meeting Abstracts): 289]
- 8) Matsuba D, Tanaka H¹⁾, Terui T, Ojima T¹⁾(¹Hokkaido University), Ohtsuki I, Ishiwata S (Waseda University), Kurihara S, Fukuda N. Protein kinase A decreases Ca²⁺ sensitivity of force

- in skeletal muscle after reconstitution with cardiac troponin. Biophysical Society 52nd Annual Meeting. Long Beach, Feb. [Biophys J 2008 ; 94 (Meeting Abstracts) : 295]
- 9) O-Uchi J, Komukai K, Morimoto S, Kawai M, Sasaki H, Hongo K, Kurihara S. Inhibitory effect of $\alpha 1$ -adrenoceptor stimulation on cardiac L-type Ca^{2+} current in the presence of β -adrenoceptor agonist in rat ventricular myocytes. Biophysical Society 52nd Annual Meeting. Long Beach, Feb.
- 10) O-Uchi J, Komukai K, Morimoto S, Kawai M, Hongo K, Sasaki H, Kurihara S. Role of $\alpha 1$ -adrenoceptor stimulation on cardiac L-type Ca^{2+} current in the presence of β -adrenoceptor stimulation in rat ventricular myocytes. Biophysical Society 52nd Annual Meeting. Long Beach, Feb. [Biophys J 2008 ; late abstract : 102a]
- 11) O-Uchi J, Kurihara S. CaMKII: an important modulator of cardiac L-type Ca^{2+} channels in $\alpha 1$ -adrenoceptor stimulation. 第 85 回日本生理学会大会, 東京, 3 月. [J Physiol Sci 2008 ; 58 (Suppl.) : S45]
- 12) Terui T, Sodnomtseren M¹⁾, Ishiwata S¹⁾(¹早大), Ohtsuki I, Fukuda N, Kurihara S. Troponin regulates length-dependent activation in skinned porcine ventricular muscle. 第 85 回日本生理学会大会, 東京, 3 月. [J Physiol Sci 2008 ; 58 (Suppl.) : S67]
- 13) Udaka J, Fukuda N, Kurihara S. Changes in fatigability in rat soleus muscle after long-term immobilization. 第 85 回日本生理学会大会, 東京, 3 月. [J Physiol Sci 2008 ; 58 (Suppl.) : S68]
- 14) Morimoto S, O-Uchi J, Kawai M, Komukai K, Hongo K, Sasaki H, Kurihara S. β -adrenoceptor stimulation accelerates Ca^{2+} turnover through PKA-dependent phosphorylation in saponin-treated mouse myocardium. 第 85 回日本生理学会大会, 東京, 3 月. [J Physiol Sci 2008 ; 58 (Suppl.) : S179]
- 15) O-Uchi J, Komukai K, Morimoto S, Kawai M, Hongo K, Kurihara S. Cardiac $\alpha 1$ -adrenoceptor stimulation inhibits L-type Ca^{2+} current in the presence of β -adrenoceptor stimulation. 第 85 回日本生理学会大会, 東京, 3 月. [J Physiol Sci 2008 ; 58 (Suppl.) : S180]
- 16) O-Uchi J, Kurihara S. CaMKII: an important modulator of cardiac L-type Ca^{2+} channels in $\alpha 1$ -adrenoceptor stimulation. 第 85 回日本生理学会大会, 東京, 3 月. [J Physiol Sci 2008 ; 58 (Suppl.) : S45]
- 17) Morimoto S, O-Uchi J, Kawai M, Komukai K, Hongo K, Sasaki H, Kurihara S. β -adrenoceptor stimulation accelerates Ca^{2+} turnover through PKA-dependent phosphorylation in saponin-treated mouse myocardium. 第 85 回日本生理学会, 東京, 3 月. [J Physiol Sci 2008 ; 58 (Suppl.) : S179]
- 18) O-Uchi J, Komukai K, Morimoto S, Kawai M, Hongo K, Kurihara S. Cardiac $\alpha 1$ -adrenoceptor stimulation inhibits L-type Ca^{2+} current in the presence of β -adrenoceptor stimulation. 第 85 回日本生理学会, 東京, 3 月. [J Physiol Sci 2008 ; 58 (Suppl.) : S180]