

- 2) 渡邊由陽(成城大学), 竹森 重, 巽 甲直(茨城大学). 剣道動作に影響しない携帯型体温モニタ装置の開発: 体温測定の効果. 武道学研究 2008; 41(1): 17-23.

III. 学会発表

- 1) 渡邊由陽(成城大学), 巽 申直(茨城大学), 竹森 重. 加速度計を用いた剣道の対人的技能の動作解析. 日本武道学会第41回大会. 横浜, 8月. [武道学研究 2008; 41(別冊)]
- 2) 田中陽子(成城大学), 渡邊由陽(成城大学), 竹森 重. バドミントンシャトルコックの軌道予測に基づく身体運動能力: 加速度モニタを用いた軌道と速度別運動動作解析. 第63回日本体力医学会大会. 別府, 9月. [体力科学 2008; 57(6): 902]
- 3) 竹森 重, 川邊万佑子, 吉田志帆, 木村雅子. 脱水に伴う骨格筋と神経束組織内の水状態変化. 第125回成医会総会. 東京, 10月.
- 4) 竹森 重. MRIが拓いた医療と医学の世界. 2008 バリアンテクノロジーズジャパンリミテッド NMR ユーザーズミーティング. 東京, 10月.
- 5) Takemori S, Kimura M, Yamaguchi M, Ohno T. Contribution of water molecules in sarcomere structure of muscle. 日本生物物理学会第46回年会. 福岡, 12月. [生物物理 2008; 48(Suppl. 1): S17]
- 6) Kimura M, Takemori S, Yamaguchi M, Ohno T. Mechanism that links longitudinal strain in sarcomere of striated muscle to the submaximal activation level of actin-myosin interaction. 日本生物物理学会第46回年会. 福岡, 12月. [生物物理 2008; 48(Suppl. 1): S97]
- 7) Yamaguchi M, Otsuka Y, Ohto Y. Structural change of mutant troponin related to cardiomyopathy. 日本生物物理学会第46回年会. 福岡, 12月. [生物物理 2008; 48(Suppl. 1): S97]
- 8) 山口真紀, 木村雅子, 竹森 重, 大野哲生, 渡辺賢¹⁾, 湯本正寿¹⁾(東京医大), 八木直人(SPring-8/JASRI). トロポニン変異による家族性心筋症発症機序のシンクロトロン放射光回折による解明. 第26回PFシンポジウム. つくば, 3月.

V. その他

- 1) 馬詰良樹. 名取のスキンドファイバーと名取先生の思い出. 慈恵医大誌 2008; 123(5): 249-56.
- 2) 竹森 重. 名取禮二の挑戦: 名取がスキンドファイバー創製で乗り越えたもの. 慈恵医大誌 2008; 123(5): 271-88.

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 馨男	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. β アドレナリン受容体刺激下で α_1 アドレナリン受容体を刺激した時の心筋L型Ca²⁺電流の細胞内調節機構に関する研究

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、生理的条件下および病態時にノルエピネフリンによって同時に刺激され、心筋細胞機能を調節している。我々は、 α_{1A} アドレナリン受容体刺激によって活性化されるPKCやCaMKIIがL型Ca²⁺チャネルを活性化し、Ca²⁺流入量(Ca²⁺電流)を上昇させるメカニズムを報告してきた。しかし、心筋細胞における β 受容体刺激時のシグナルと α_1 受容体刺激時のシグナルのクロストークに関しては明らかにされていない。今年度は、 β 受容体が刺激されている時に α_1 受容体を刺激した時のL型Ca²⁺電流の変化を誘起する細胞内調節機構の研究を行った。 β 受容体刺激下で、 α_{1A} 受容体を刺激すると、Ca²⁺電流が抑制され、 α_{1A} 受容体単独刺激効果とは正反対であることが分かった。また、 α_{1A} 受容体刺激によって直接活性化されるチロシナーゼが、 β 受容体シグナルを受容体(あるいはG蛋白質)レベルで抑制し、Ca²⁺電流を減少することも明らかになった。

2. エンドセリン刺激による心筋L型Ca²⁺電流の細胞内調節機構に関する研究

エンドセリンは、21のアミノ酸から構成される強力な血管収縮作用を有する生理活性物質(ペプチド)である。近年、このペプチドは心筋細胞に対する直接効果を有することも明らかにされた。エンドセリンは細胞内一過性Ca²⁺濃度の上昇を介した陽性変力作用を示すことが報告されているが、その効

果発現の細胞内メカニズムは明らかでない。今回、我々はパッチクランプ法と生化学的手法を用いて、エンドセリンは、 ET_A 受容体を介して Gq, PKC, CaMKII を活性化し、L 型 Ca^{2+} 電流を上昇させることを明らかにした。この結果より、エンドセリンは、L 型 Ca^{2+} チャネルを介した細胞内への Ca^{2+} 流入量を上昇させ、細胞内一過性 Ca^{2+} 濃度の上昇を惹起し、陽性変力作用を示すことが示唆された。

3. β アドレナリン受容体刺激による筋小胞体 (SR) からの Ca^{2+} リーク量増加の細胞内調節機構に関する研究

心不全時の慢性的なカテコールアミン濃度上昇は、筋小胞体に存在する Ca^{2+} 放出チャネル、リアノジン受容体 (RyR) からの Ca^{2+} リーク量を増加させ、心筋収縮力の低下と不整脈を誘発することが示唆されている。 β アドレナリン受容体刺激による RyR からの Ca^{2+} リーク量増加のメカニズムは、PKA と CaMKII の活性化を介することが考えられているが、その詳細は明らかでない。今回我々は、サポニンでスキンド処理した多細胞標本を用いて、どちらの酵素活性が Ca^{2+} リーク量増加に関与しているのかを検討した。 β アドレナリン受容体刺激による RyR のリン酸化量は、RyR に存在する PKA あるいは CaMKII 特異的なリン酸化部位に対する抗体を用いて検出した。 β アドレナリン受容体刺激により PKA が活性化されると RyR の PKA 特異的リン酸化部位のリン酸化量が増大し、 Ca^{2+} リークも増加することが分かった。一方、CaMKII による RyR のリン酸化は、 Ca^{2+} リーク量に影響しないこともわかった。この結果により、 β アドレナリン受容体刺激下における筋小胞体からの Ca^{2+} リーク量増加には、少なくとも PKA の活性化が関与していることが明らかになった。

4. 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。スキンド標本を用いて、pCa- 張力関係を測定した結果 Ca^{2+} 感受性が低下していることが明らかになった。これが収縮不全の要因と考えられる。

5. 筋の単一サルコメアのイメージング

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ている。本研究では、SPOC の生理的役割を明らかにするため、ラットの単一細胞を用いて SPOC の波形解析を行った。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 に関して、スキンドファイバーで得られた結果とほぼ同様な結果を得た。さらに、無傷細胞を使って波形解析を試みたところ、刺激頻度が低い場合 (例えば、1 Hz)、収縮時のサルコメア長の shortening と relengthening は単純に細胞内 Ca^{2+} 濃度の変化に対応していた。しかし、刺激頻度を生理的なレベル (3-5Hz) に上げると、relengthening 速度の上昇とともに shortening/relengthening の位相が変化し、波形がスキンド細胞において見られる SPOC に類似していた。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。

II. 骨格筋の生理学に関する研究

1. 不動化にともなう骨格筋の易疲労性の変化

我々は、ラットの後肢を長期間 (6 週間) 不動化することによって、ヒラメ筋で巨大弾性タンパク質タイチンの発現が低下し、サルコメア構造が乱れ、発生張力が低下することを報告した。今年度は不動化によって易疲労性がどのように変化するかを、Triton X-100 処理した単一筋線維を用いて調べた。激しい運動後、骨格筋細胞内 pH が低下するとともに無機リン酸 (Pi) 濃度が上昇し、発生張力が低下することはよく知られている。そこで、対照筋と不動化筋で、最大発生張力に対する pH や Pi の影響を比較検討した。その結果、pH を 7.0 から 6.2 に低下させると、いずれの筋においても最大発生張力は低下したが、その程度は不動化筋で有意に大きかった。同様に、Pi の張力低下作用も不動化筋でより大きくなっていった。即ち、不動化によって易疲労性が促進されることが示された。これらの結果は、不動化によるサルコメア構造の乱れによってクロスブリッジの数が減少し、Pi や H^+ の張力低下作用が見かけ上大きくなることによると解釈することができる。

「点検・評価」

アドレナリン受容体刺激による心筋 Ca^{2+} チャネルの修飾メカニズム、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, 骨格筋の筋萎縮のメカニズムなどが研究主題として行われている。これらの研究は順調に進み, 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会を開き, 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, 医学科の基礎医科学 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・演習も担当してお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ら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。昨年に引き続いて草刈講師が米国留学中であるが, 教室員が一致協力して教育にあたっている。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Fukuda N, Granzier HL (Univ. of Arizona), Ishiwata S (Waseda Univ.), Kurihara S. Physiological functions of the giant elastic protein titin in mammalian striated muscle. *J Physiol Sci* 2008; 58(3): 151-9.
- 2) Tanaka H¹⁾, Suzuki H¹⁾, Ohtsuki I, Ojima T¹⁾ (Hokkaido Univ.). Structure-function relationships of molluscan troponin T revealed by limited proteolysis. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1784(7-8): 1037-42.
- 3) O-Uchi J, Sasaki H, Morimoto S, Kusakari Y, Shinji H, Obata T, Hongo K, Komukai K, Kurihara S. Interaction of alpha₁-adrenoceptor subtypes with different G proteins induces opposite effects on cardiac L-type Ca²⁺ channel. *Circ Res* 2008; 102(11): 1378-88.

II. 総説

- 1) 水野 樹¹⁾, 森田茂穂¹⁾(帝京大), 荒木淳一(岡山大), 大辻幹哉(東大), 花岡一雄(JR 東京総合病院), 栗原 敏. 心筋細胞内カルシウムトランジェントに対するハイブリッドロジスティック関数を用いたカーブフィット. *麻酔* 2009; 58(1): 67-76.
- 2) 福田紀男. 心臓の拍動メカニズム. *パリティ* 2008; 23(6): 44.
- 3) 水野 樹(帝京大), 有田英子¹⁾, 花岡一雄¹⁾(JR 東京

総合病院), 草刈洋一郎, 栗原 敏. 心筋細胞内カルシウムトランジェント下降相に対するハイブリッドロジスティック関数による適合を用いた新評価法. *麻酔* 2008; 57(4): 408-19.

- 4) 水野 樹¹⁾, 森田茂穂¹⁾(帝京大), 荒木淳一(岡山大), 大辻幹哉(東大), 花岡一雄(JR 東京総合病院), 栗原 敏. 等容性左室圧曲線および等尺性心筋張力曲線に対するハイブリッドロジスティック関数を用いたカーブフィット. *麻酔* 2008; 57(12): 1472-84.

III. 学会発表

- 1) O-Uchi J, Matavel A¹⁾, Lopes CMB¹⁾(Univ. of Rochester School of Medicine and Dentistry). IKs is activated by both Ca²⁺ dependent and independent isoforms of PKC. *Biophysical Society 53rd Annual Meeting*. Boston, Feb. [Biophys J 2009; 96 (Meeting Abstracts): 171a]
- 2) O-Uchi J, Komukai K, Morimoto S, Kawai M, Hongo K, Kurihara S. Cardiac Alpha_{1a}-adrenoceptor stimulation inhibits L-type Ca²⁺ current in the presence of beta-adrenoceptor stimulation through tyrosine kinase. *Biophysical Society 53rd Annual Meeting*. Boston, Feb. [Biophys J 2009; 96 (Meeting abstracts): 222a]
- 3) Fukuda N, Matsuba D, Terui T, O-Uchi J, Tanaka H¹⁾, Ojima T¹⁾(Hokkaido Univ.), Ohtsuki I, Ishiwata S (Waseda Univ.), Kurihara S. Protein kinase A-based modulation of Ca²⁺ sensitivity in skinned skeletal muscle fibers reconstituted with cardiac troponin. *Biophysical Society 53rd Annual Meeting*. Boston, Feb.
- 4) Terui T, Shimamoto Y¹⁾, Sodnomtseren M¹⁾, Yamane M¹⁾, Ohtsuki I, Ishiwata S¹⁾(Waseda Univ.), Kurihara S, Fukuda N. Role of thin filament cooperative activation in length-dependent activation in skinned porcine ventricular muscle. *Biophysical Society 53rd Annual Meeting*. Boston, Feb. [Biophys J 2009; 96 (Meeting Abstracts): 223a]
- 5) Terui T, Ohtsuki I, Ishiwata S (Waseda Univ.), Fukuda N, Kurihara S. Thin filament-based regulation of the Frank-Starling mechanism of the heart. 第25回国際心臓研究学会 (ISHR) 日本部会. 横浜, 12月.
- 6) Serizawa T¹⁾, O-Uchi J, Fukuda N, Kurihara S, Ishiwata S¹⁾(Waseda Univ.). Microscopic analysis of sarcomeric oscillations by quantum dots in skinned rat ventricular myocytes. 日本生物物理学会 第46回年会. 福岡, 12月. [生物物理 2008; 48

(Suppl. 1): S97]

- 7) O-Uchi J (Univ. of Rochester), Kurihara S. α_{1A} -adrenoceptor stimulation inhibits L-type Ca^{2+} current in the presence of β -adrenoceptor stimulation in rat ventricular myocytes. Upstate New York Cardiac Electrophysiology Society 18th Annual Meeting. New York, Oct.
- 8) Kurihara S, Fukuda N, Ohtsuki I, Terui T, Hongo K, Komukai K, Ishikawa T. Molecular basis for the Frank-Starling mechanism of the heart. 心臓循環器系調節機構の病態生理学に関する国際シンポジウム. 山形, 5月.
- 9) O-Uchi J, Hongo K, Morimoto S, Komukai K, Kawai M, Ohtsuki I, Morimoto S (Kyusyu Univ.), Kurihara S. Decreased Ca^{2+} affinity of thin filament is an important factor for the development of cardiac dysfunction in mouse model of dilated cardiomyopathy. Thick and Thin Filament Regulation in Striated Muscle. Madison, May.
- 10) Terui T, Sodnomtseren M¹⁾, Ishiwata S¹⁾ (¹Waseda Univ.), Ohtsuki I, Fukuda N, Kurihara S. Thin filament-based regulation of length dependent activation in skinned porcine ventricular muscle. 第31回心筋代謝研究会. 東京, 7月. [Exp Clin Cardiol 2008; 13(2): 101]

V. その他

- 1) 大内 仁. 心筋 α_1 アドレナリン受容体刺激による Ca^{2+} チャネルの制御メカニズムを解明. 日生理誌 2009; 71(3): 76.
- 2) 照井貴子. 心筋収縮系の再構築によるFrank-Starling機構の解明. 日生理誌 2009; 71(3): 75.
- 3) Ohtsuki I, Morimoto S (Kyushu Univ.). Troponin: Regulatory function and disorders. Biochem Biophys Res Commun 2008; 369(1): 62-73.
- 4) 福田紀男. 心筋収縮構造の再構築によるスターリングの心臓法則の分子メカニズムの解明. 財団法人循環器病研究振興財団研究助成業績報告集 2007(平成19)年度 2008; 77-84.

生 化 学 講 座

- 教授: 大川 清 がんの生化学, 病態医化学
 准教授: 高田 耕司 分子細胞生物学, 病態生化学
 准教授: 朝倉 正 がんの生化学, 病態医化学

教育・研究概要

I. がんの生化学

1. 2005年度より始まった厚生労働科学研究の一環として癌表面転移・浸潤マーカー抗原CD147の生物学, 治療学的研究がなされた. CD147はEMMPRINともいわれ早期より転移・浸潤を示す癌の表面マーカー糖蛋白質であり産婦人科山田恭輔, 生化学大川 清, 国立病院機構千葉東病院臨床センター城 謙輔により樹立されたマウス単クローン抗体 (MAb12C3) 産生 hybridoma 認識抗原である (Am J Clin Phathol, 1995; 103; 288-94)。その後, 本抗原の主機能が転移・浸潤における matrix metalloprotease (MMP) の inducer としての機能であり特に MMP2 に対しては強い誘導能を示すことを報告している. 我々は CD147 を癌標的分子とし, 新規開発高安全性の CD147 高親和性物質標識超音波造影剤 (マイクロ・ナノバブル以下バブルと略) を集積させ, 臨床で汎用の超音波診断法で高悪性度微小癌を超早期に画像化診断し, 同時に抗癌剤等包含標識バブルを微小癌に集積, 収束超音波利用で加療する技術も開発中である。

その結果

- 1) 早期癌でも高悪性度癌では CD147 は高発現し診断に有用だった。
- 2) 三次元ヒト培養肝臓癌モデルへの標識バブル投与で超音波造影剤 (MAb12C3 標識バブル) の特異的集積性, 抽出が可能となった。
- 3) バブル振動と組織非線形効果解析各シミュレーターの開発で従来比 2 倍以上の高い検出感度と, 空間分解能 1mm 以下の高解像度が得られた。

同時に進められた分子の性格付けの研究から CD147 分子は 2 つのイムノグロブリンドメインを有する 1 回膜貫通型の糖蛋白質で多種類の細胞に少量発現するが, 癌細胞表面に特に高発現していることが判明した. 昨年度は細胞表面に強発現していることを利用した癌細胞膜表面高発現 CD147 を標的とした癌化学療法の有効性を検討したが, 今年度は CD147 の発現抑制 [CD147 ノックダウン (KD)] 細