

細胞生理学講座

教授：南沢 享 循環生理・病態学
 准教授：福田 紀男 筋生理学
 講師：草刈洋一郎 筋病態学

教育・研究概要

I. 教育概要

2015年度に本講座は以下の課目を担当した。

医学科：基礎医科学Ⅱ（循環器ユニット・泌尿器ユニット）、機能系実習（生理学実習）、症候学演習、感染・免疫チュートリアル、研究室配属、英語論文抄読演習、選択実習

看護学科：解剖生理学Ⅲ

看護専門学校（慈恵看護専門学校）：解剖生理学講義

II. 研究概要

1. 大血管の発生と機能獲得・維持の機序解明

1) 動脈管閉鎖機序の解明

動脈管は、肺動脈と大動脈を連結し、血液をバイパスする胎生期特有の大血管であり、生後に閉鎖する。我々は、動脈管が生後に閉鎖する分子機序、特に血管の構造変化により生じる閉鎖機序を、ラット胎仔、ニワトリ胚、そしてヒト標本を用いて検討した。

感染が動脈管の閉鎖を遅延する分子機序に、iNOSが関与していることをラット胎仔動脈管を使って解明した。鳥類の動脈管の血管構造は、哺乳類と異なる。また、鳥類では、左右に2本の動脈管が存在する。現在、哺乳類と異なる形態を持つ鳥類動脈管の閉鎖に関わる因子を検討中である。

2) 大動脈縮窄症の発症機序の解明

大動脈縮窄症は、動脈管が連結する下行大動脈付近に狭窄をきたす疾患である。狭窄した大動脈を切除し、断端を吻合した後、再び吻合部が狭窄しうる。再狭窄の原因として、連結している動脈管組織の関与が示唆されていた。我々は、動脈管細胞が、狭窄した大動脈部分に迷入していることを明らかにした。今後、動脈管細胞の迷入により大動脈が狭窄していく分子機序を検討中である。本研究は、兵庫県立こども病院心臓血管外科、本学心臓外科との共同研究の成果である。

2. 心筋筋小胞体機能の制御機構の解明

心機能を維持する上で、心筋筋小胞体を介した

Ca²⁺調節は中心的な役割を担う。我々は心筋筋小胞体 Ca²⁺再取り込みを制御する筋小胞体 Ca²⁺-AT-Pase (SERCA2) 活性調節機構を調べることによって、心不全等の病態解明・治療応用を目指している。2015年度は筋小胞体内にあって、phospholamban 相同性があり、SERCA2の抑制作用をもつ sarcolipin ノックアウトマウスを使って、心機能に及ぼす影響を検討した。その結果、sarcolipin のひとつのアレルだけが欠損したヘテロ欠損マウスでは心機能に影響を及ぼさないことを明らかにした。本研究は早稲田大学合田研究室との共同研究の成果である。

3. 心筋代謝制御機構の解明

心筋はエネルギー代謝の盛んな臓器のひとつであり、他の臓器と異なり70~90%のエネルギー代謝は脂肪酸に依存している。心不全になると脂肪酸代謝が低下し、糖代謝が亢進する機序に関しては詳しく調べられていなかった。そこで我々はモノクロタリン負荷による肺高血圧モデルラットを使い、心磁図変化、心電図変化、心エコー所見を経時的に調べた。その結果、心肥大マーカーや心機能が変化する前から、既に心磁図に変化が生じていることが判明した。本研究は早稲田大学石山研究室との共同研究の成果である。一方で代謝改善ついでの実験も行った。本学の学祖・高木兼寛はビタミンB₁を添加した海軍兵食改善により脚気を根絶したことで知られている。我々は心臓の虚血再灌流障害時におけるビタミンB₁の効果を検討した。ビタミンB₁ (thiamine pyrophosphate: TPP) を前投与した心臓では、虚血再灌流後の心収縮力が有意に高かった。このことはビタミンB₁は虚血再灌流時における心筋保護効果を持つことを示唆する。今後さらにエネルギー代謝の変化を起こす因子を詳細に解明する予定である。

4. 心臓リモデリング・線維化を促す病態解明

病態心筋において、心筋線維化は心臓の電氣的興奮や収縮に大きな影響を及ぼすことが知られている。これまでの研究で、肺動脈絞扼術による圧負荷右室肥大乳頭筋モデルにて、圧負荷の程度によって、心筋線維化の進展が非常に明瞭に分かれることが判明していた。そこで心筋線維化の有無で網羅的遺伝子解析を行ったところ、FGF23という増殖因子が線維化群で非常に発現が亢進していることが判明した。成獣心臓から得た心筋細胞と線維芽細胞を培養した実験で、FGF23は心筋細胞に有意に存在していることが判明した。線維芽細胞にFGF23を添加してもαSMAのmRNAレベルは増加しなかったが、

TGF- β とFGF23を同時投与するとTGF- β 単独投与よりも α SMAのmRNAレベルが増大した。今後、FGF23が線維化決定因子・バイオマーカーとなり得るのか、また線維化への役割に関して詳細に検討することを目指している。本研究は本学小児科循環器グループとの共同研究の成果である。

5. サルコメア収縮機構の解明

1) 幼若心筋細胞におけるサルコメア長ナノ計測
心筋の発生張力はサルコメア長に依存して大きく変化する。このため、心筋細胞内においてサルコメア長を高空間・時間分解能で計測する技術を確認することは非常に重要である。本研究において我々は、ラットの幼若心筋細胞のZ線(α アクチニン)にAcGFPを発現させ、興奮収縮連関におけるサルコメアの運動をnmの精度で計測することのできる実験系を構築した。個々のサルコメア長を計測すると、ゆっくりとした収縮の後に素早い伸展が生じるという鋸波状であることが明らかとなった。各鋸波形には時間的なずれが生じ、そのために平滑化されてスムーズな収縮、伸展の波形が得られることが分かった。本研究において開発した幼若心筋細胞の実験系は、心筋興奮収縮連関の解析に幅広く応用可能であると考えられる。本研究は早稲田大学石渡研究室との共同研究の成果である。

2) マウス心臓における単一サルコメアのin vivoリアルタイムイメージング

心臓のポンプ機能は、心筋細胞のサルコメア長が100nm程度変化しただけでも大きく変化する(Frank-Starling機構)。本研究において我々は、生体におけるマウス左心室の心筋細胞においてサルコメアの収縮動態をリアルタイムイメージングできる技術を開発することを試みた。その結果、サルコメア動態を、心電図・心臓内圧と同時に計測することに成功した。静止時心筋細胞中のサルコメア長には正規分布にしたがったバラツキがあり、拍動時、(1)サルコメア長はその正規分布の短い領域において変動していること、(2)左心室内圧とサルコメア長の間には直線的な比例関係が存在することが明らかになった。我々が開発したin vivoナノ計測技術は、従来の研究では不可能であった分子、細胞、臓器・個体の階層をつなぐものであり、正常心筋のみならず病態心筋の機能解析にも有用であると期待される。本研究は早稲田大学石渡研究室との共同研究の成果である。

「点検・評価」

1. 教育

医学科・基礎医学Ⅱ(循環器ユニット・泌尿器ユニット)及び看護学科・解剖生理学Ⅲにおいて、2014年の方針を踏襲した。基礎医学Ⅱにおいては、学生に基本医学英語に早期になじんでもらうことを意図して、講義資料や試験に英語をさらに積極的に取り入れた。試験問題への英語の導入については導入3年目で定着したと考えられた。また、クリッカーの使用は、学生との双方向的な講義において有意義であるが、講義資料の作成はやや労力を要することやPCのOSが限定されるため、利用方法の改善を進めてゆくことが望まれる。2015年度もe-learningを利用して、試験対策の練習問題を行い、学生からは一定の評価を得た。

2015年は実習書を作成し、学生への利便性を増した。また、心電図実習において、演習問題を多く取り入れた形式に変更し、学生からは好評であった。

研究室配属は宇宙航空医学研究室との合同指導を取り入れ、7名の学生を指導した。昨年度同様に6週間で個々の学生に研究テーマを持たせて取り組ませるとともに、7名全員の学生に対し、配属開始と終了時に研究プレゼンテーションを行わせた。

2. 研究

上述した研究テーマは、各教員が自ら発案し、小規模な研究グループを形成して、独自性を保ちつつ、研究を推進している。動脈管研究では臨床現場との共同研究に発展してきている。

教室としてより高いレベルの研究を行うためには、各研究グループが相互連携を図って、協力的・補完的に研究活動を行うこと、本講座以外の本学研究グループ、特に臨床系研究グループとの共同研究を進めることが必要不可欠である。そのためのひとつの方策として、学外研究機関との共同研究を活性化させるため、本講座主催の「心血管研究の最前線セミナー」を継続しており、2015年度には3回開催を果たすことが出来た。

2015年度においても各教員が文科省科研費などの獲得・継続によって、資金面では比較的安定した研究活動を行うことが出来た。しかし、さらなる研究発展のため、大型研究費の獲得を目指してゆく必要がある。

研究活動の成果として、2015年は原著英文論文3編、著書2編、学会報告約25編を発信することが出来た。しかし、原著英文論文数が2014年に比べ激減したこと、原著論文をより高いレベルの雑誌に掲載してゆく必要があることなど、教員・大学院生のより一層の奮起が必要である。

3. その他の学内活動

医学教育の啓蒙（アウトリーチ）活動においては、2014年に引き続き「働き者の心臓を見て、触って、聴いて、知りつくそう」というテーマで文部科学省事業「ひらめき☆ときめきサイエンス」を開催した。細胞生理・第二生理学教室創設から70周年を迎え、記念講演会と祝賀会を開催した。多数のOBの先生に参集して頂き、80周年に向けて教職員一同決意を新たにする機会となった。南沢は市民公開シンポジウム「医師と共に考える「いのちの授業」」を主催し、青少年に対する「いのち」に関わる啓蒙活動について、学内外の識者と共に考える場を提供した。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Kawakami S (Waseda Univ), Minamisawa S. Oxygenation decreases elastin secretion from rat ductus arteriosus smooth muscle cells. *Pediatr Int* 2015; 57(4): 541-5.
- 2) Yasuda S¹⁾, Higano S¹⁾, Ishiyama A¹⁾ (¹Waseda Univ), Ono Y (Meiji Univ), Kajimura I, Minamisawa S. Magnetocardiograms early detection of pulmonary arterial hypertension using inverse problem analysis in rat model. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2015; 2015; 4475-8.
- 3) Kajimura I, Akaike T, Minamisawa S. Lipopolysaccharide delays closure of the rat ductus arteriosus by induction of inducible nitric oxide synthase but not prostaglandin E₂. *Circ J* 2016; 80(3): 703-11.
- 4) Kobirumaki-Shimozawa F, Oyama K, Shimozawa T¹⁾, Mizuno A¹⁾, Ohki T¹⁾, Terui T, Minamisawa S, Ishiwata S¹⁾ (¹Waseda Univ), Fukuda N. Nano-imaging of the beating mouse heart in vivo: importance of sarcomere dynamics, as opposed to sarcomere length per se, in the regulation of cardiac function. *J Gen Physiol* 2016; 147(1): 53-62.
- 5) Fujimoto Y, Urashima T, Shimura D¹⁾, Ito R, Kawachi S²⁾, Kajimura I, Akaike T, Kusakari Y, Fujiwara M, Ogawa K²⁾ (²Saitama Children's Med Ctr), Goda N¹⁾ (¹Waseda Univ), Ida H, Minamisawa S. Low cardiac output leads hepatic fibrosis in right heart failure model rats. *PLoS One* 2016; 11(2): e0148666.
- 6) Shimura D¹⁾, Kusakari Y, Sasano T (Tokyo Med Dent Univ), Nakashima Y (Kyoto Univ), Nakai G¹⁾, Jiao Q (Hangzhou Normal Univ), Jin M²⁾, Yokota T³⁾, Ishikawa Y²⁾ (²Yokohama City Univ), Nakano A³⁾ (³UCLA), Goda N¹⁾ (¹Waseda Univ), Minamisawa S. Heterozygous deletion of sarcolipin maintains normal cardiac function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2016; 310(1): H92-103.

II. 総説

- 1) 南沢 享. 動脈管閉鎖の分子機序解明にむけて. *小児循環器会誌* 2015; 32(1): 2-8.
- 2) Shimura D (Waseda Univ), Nakano A (UCLA), Minamisawa S. Sarcolipin in atrium-specific gene targeting. *Cardiovasc Regen Med* 2016; 3: e1297.

III. 学会発表

- 1) 櫛田康晴, 塚本精一, 藤井輝之, 大山廣太郎, 小比類巻-下澤 生, 福田紀男. (一般演題 (ポスター): 心臓・循環 (3)) マウス心臓上移植ラット幼若心筋のサルコメア動態の定量的解析. 第93回日本生理学会大会. 札幌, 3月.
- 2) 山田祐揮, 赤岡宗紀, 渡邊政人, 笠井裕平, 草刈洋一郎, 南沢 享. (一般演題 (学生ポスター賞応募演題)) ビタミンB₁虚血前投与による再灌流時の心保護効果. 第93回日本生理学会大会. 札幌, 3月.
- 3) 赤池 徹, 梶村いちげ, 南沢 享. (一般演題 (ポスター): 心臓・循環 (1)) 鳥類の動脈管閉鎖におけるプロスタグランジンE₂の役割. 第93回日本生理学会大会. 札幌, 3月.
- 4) 大山廣太郎, 小比類巻生, 下澤東吾 (早稲田大), 福田紀男. (入澤宏・彩記念若手研究奨励賞: 心臓・循環部門) In vivo ナノイメージングによる心筋収縮の可視化と熱による制御. 第93回日本生理学会大会. 札幌, 3月.
- 5) 塚本精一, 大山廣太郎, 藤井輝之, 小比類巻生, 石渡信一 (早稲田大), 福田紀男. (一般演題 (ポスター): 心臓・循環 (3)) Yellow Cameleon-Nano 140 を用いたラット幼若心筋細胞のサルコメア長と細胞内カルシウムの同時観測系の開発. 第93回日本生理学会大会. 札幌, 3月.
- 6) 田代倫子¹⁾, 小比類巻-下澤 生, 井上 華¹⁾, 田井 忍¹⁾, 福田紀男, 小林 了¹⁾, 小西真人¹⁾ (¹東京医科大). (一般演題 (ポスター): 心細胞・分子生理 (1)) 成獣ラット心室筋初代培養細胞のMg²⁺恒常性. 第93回日本生理学会大会. 札幌, 3月.
- 7) 藤本義隆, 浦島 崇, 伊藤伶司, 梶村いちげ, 赤池 徹, 草刈洋一郎, 合田亘人 (早稲田大), 南沢 享. (一般演題 (ポスター): 心臓・循環 (3)) 右心不全モデルラットにおける肝線維化因子の検討. 第93回日本生理学会大会. 札幌, 3月.
- 8) 藤本義隆, 浦島 崇, 糸久美紀, 伊藤伶司, 河内貞貴¹⁾, 梶村いちげ, 赤池 徹, 草刈洋一郎, 藤原優子, 小川 潔¹⁾ (¹埼玉小児医療センター), 井田博之, 南

沢 享. (Poster presentation 4 : Heart failure/hypertrophy) Low cardiac output induces hepatic fibrosis in right failure model rat. 第32回国際心臓研究学会日本部会 (ISHR2015). 神戸, 12月.

- 9) 安田昌太郎¹⁾, 日向野将¹⁾, 小野弓絵 (明治大), 梶村いちげ, 南沢 享, 石山敦士¹⁾ (¹早稲田大). (ポスターセッション I) QUID によるラット心磁図への逆問題解析を用いた肺動脈性肺高血圧症検出法. 第92回秋季低温工学・超電導学会. 姫路, 12月.
- 10) 笠井裕平, 山田祐揮, 赤岡宗紀, 渡邊政人, 草刈洋一郎, 南沢 享. ビタミン B₁ の虚血再灌流における心保護メカニズム. 第132回成医学会総会. 東京, 10月.
- 11) 志村大輔¹⁾, 草刈洋一郎, 笹野哲郎 (東京医科歯科大), 中島康弘 (京都大), 中井 岳¹⁾, 焦其 彬 (Hangzhou Normal Univ), 金 美花²⁾, 横田知大³⁾, 石川義弘²⁾ (²横浜市立大), 中野 敦³⁾ (³Univ California), 合田亘人¹⁾ (¹早稲田大), 南沢 享. Sarcoplipin ヘテロ欠損マウスにおける心房機能解析. 第246回生理学東京談話会. 東京, 9月.
- 12) 平崎裕二, 南沢 享, 岡部正隆. 超音波画像診断法 (心エコー) を用いた軟骨魚類心臓の形態・運動特性解析. 第5回 Tokyo Vertebrate Morphology Meeting. 東京, 8月.
- 13) 安田昌太郎¹⁾, 日向野将¹⁾, 小野弓絵 (明治大), 梶村いちげ, 南沢 享, 石山敦士¹⁾ (¹早稲田大). (一般・U35 ポスター 5 : 心磁図・脊髄・磁気刺激) ラット心磁図の逆問題解析を用いた肺動脈性肺高血圧症の早期検出. 第30回日本生体磁気学会大会. 旭川, 6月.
- 14) 藤本義隆, 森 琢磨, 伊藤怜治, 河内貞貴 (埼玉小児医療センター), 浦島 崇, 藤原優子, 井田博之. (一般演題 ポスター : 循環器 5 (先天性疾患 3)) 右鎖骨下動脈起始異常が生理的バイパスとなり診断に時間を要した大動脈縮窄の2例. 第118回日本小児科学会学術集会. 大阪, 4月.
- 15) Yasuda S¹⁾, Higano S¹⁾, Ono Y (Meiji Univ), Kajimura I, Minamisawa S, Ishiyama A¹⁾ (¹Waseda Univ). (Poster session 5.14) Cardiac electrophysiology II) Magnetocardiograms early detection of pulmonary arterial hypertension using inverse problem analysis in rat model. 37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Milano, Aug.
- 16) Yokota T¹⁾, Ren V¹⁾, Minamisawa S, Wang Y¹⁾ (¹UCLA). (Poster session 1) Chamber specific function of p38 MAP kinase during early postnatal development. 35th International Society for Heart Research North American Section Meeting. Seattle, Jun.
- 17) Kasai Y, Yamada Y, Ikegami T, Kudo Y, Kusakari Y, Matsui T, Minamisawa S. Vitamin B₁ preserves

cardiac function against ischemia-reperfusion injury. Biomedical Sciences and Health Disparities Symposium. Honolulu, Apr.

IV. 著 書

- 1) 加藤尚志 (早稲田大), 南沢 享監修. いちばんやさしい生理学. 東京 : 成美堂出版, 2015.