

- 18) Yamazawa T.(Oral) Analysis of disease mutants of type 1 ryanodine receptor using molecular dynamics and Ca^{2+} imaging. FAOPS2019 (The 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress). Kobe, Mar. [J Physiol Sci 2019; 69(Suppl.1): S44]
- 19) Nakahara N, Ohno T, Kimura M (Kagawa Nutrition Univ), Kimura S, Takemori S. (Poster) Differential Scanning Calorimeter reveals interaction between water and myoproteins. FAOPS2019 (The 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress). Kobe, Mar. [J Physiol Sci 2019; 69(Suppl.1): S191]
- 20) Ohno T. (Poster) Structure of bound water in myofibril suspension: a role of ATP. FAOPS2019 (The 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress). Kobe, Mar. [J Physiol Sci 2019; 69(Suppl.1): S266]

細胞生理学講座

講座担当教授：南沢 享 循環生理・病態学
 准教授：福田 紀男 筋生理学
 准教授：草刈洋一郎 筋病態学
 講師：赤池 徹 発達循環器学

教育・研究概要

I. 教育概要

2018年度に本講座は以下の課目を担当した。

医学科：コース基礎医学Ⅱ(ユニット「循環器」(ユニット責任者：南沢), ユニット「泌尿器」(ユニット責任者：南沢), ユニット「呼吸器」, ユニット「機能系実習(生理学系)」(ユニット責任者：南沢)), コース臨床基礎医学(ユニット「症候学演習」(ユニット責任者：草刈), ユニット「感染・免疫テュートリアル」), コース研究室配属, 英語論文抄読演習, コース「臨床医学Ⅱ」(ユニット「症候から病態へ」)
 看護学科：解剖生理学Ⅲ(ユニット責任者：南沢)
 看護専門学校(慈恵看護専門学校)：解剖生理学講義(ユニット責任者：南沢)

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) 肺静脈系の特殊性と病態生理の解明

肺静脈は高濃度酸素血に曝されること、左心房と接合する肺静脈部位は心房細動を引き起こす異所性刺激発生部位になることなど、体静脈とは異なる特殊な低圧系血管であるが、その血管特性の理解は進んでいない。そこで肺静脈・左心房に特異的に発現するとされる転写因子 Pitx2 の両心房への過剰発現マウス及び欠損マウスを作成した。現在、その表現型を解析中である。また、手術的に左房狭窄を作成し、肺静脈血流うっ滞による肺高血圧症モデルラットを確立し、肺静脈系の構造異常と機能解析を行った。

2) 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を、ラット胎仔、ニワトリ胚、ヒト標本を用いて検討している。2018年度はプロスタグランジン E_1 刺激による動脈管平滑筋細胞から分泌されるタンパク質の解析を行い、論文化した。また、胎盤のないニワト

り胚での動脈管の特徴を網羅的遺伝子解析によって調べ、論文化した。

2. 筋小胞体機能の制御機構の解明

心機能や骨格筋機能を維持する上で、筋小胞体を介した Ca^{2+} 調節は中心的な役割を担う。心不全時には正常な高次構造が形成されないタンパク質が小胞体に蓄積し、小胞体ストレスが生じることが知られている。IRE1 α は小胞体ストレスにおける鍵となる分子であるが、心不全時の役割については明確でなかった。そこで、遺伝子改変マウスを使い、心不全時における IRE1 α の役割を検討し、報告した。この研究は UCLA 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、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。肺高血圧症モデルラットの心室筋において早期に変化を起こす代謝要因をメタボローム解析で網羅的に解析し、その結果を報告した。

4. 心筋過伸展ストレスによる心筋機能低下の機序解明

心室への過剰な容量負荷は、心不全の原因となり、心筋収縮力の減弱ならびに心筋の線維化をもたらすことが知られている。過度な容量負荷が原因で心筋は過伸展され、張力低下をきたす。その原因は、筋原線維に起因すると考えられていたが、乳頭筋過伸展実験で、ミトコンドリア内膜が急激に崩壊することを電子顕微鏡観察によって突き止めた。現在、その原因を分子生物学的に検討している。

5. サルコメア収縮機構の解明

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)。我々は、マウス *in vivo* 左心室の心筋細胞において単一サルコメア動態を高空間(20nm)・時間(10nm)分解能で計測し、それらのナノ情報を心電図、左心室内圧、圧容積関係(マクロ情報)と同時にリアルタイム解析することのできるシステムを構築した。*In vivo* 心筋細胞のZ線に α -actinin-AcGFPを発現させ、蛍光強度のピーク間距離をサルコメア長として測定した。同一筋原線維内の30個の連続したサルコメア動態を詳細に解析した結果、1)各々のサルコメア長にはバラツキがあり、平均値は拡張期、収縮期においてそれぞれ 1.88 ± 0.29 および $1.66 \pm 0.19 \mu\text{m}$ であること、2)各サルコメアの収縮・弛緩のタイミングは必ずしも同期していないこと、3)サルコメアには筋原線維全体の収縮弛緩動態に対する貢献度の高いものと低い

ものと混在すること ($R: -0.2 \sim 0.8$)、4)貢献度の高いサルコメアと低いサルコメアはほぼ同じ割合で存在することが明らかとなった。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。

「点検・評価」

1. 教育

医学科・コース基礎医科学II(ユニット「循環器」、ユニット「泌尿器」、ユニット「呼吸器」)及び看護学科・解剖生理学IIIにおいて、2016年以来的の方針を踏襲した。双方向性アクティブラーニングのため、クリッカーやSNSを取り入れ、学生には好評であった。こうした active learning への取り組みは、一部教員に限定されているため、今後、広く利用を進めてゆくことが望まれる。2018年度も e-learning を利用して、練習問題を配信し、学生の自己学習を促した。

コース基礎医科学II(ユニット「機能系実習(生理学系)」)では、心電図実習において、演習問題をグループ事で検討するチーム基盤型学習を取り入れ、学生に好評であった。

コース研究室配属の開始時期が変更になり、学生指導がしやすくなった。宇宙航空医学研究室への配属2名、本講座配属2名の学生を指導した。例年度同様に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、4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。また、プレゼンテーションへの教員及び学生同士での評価を行った。

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。2018年は2名の大学院生とカナダ・Queen's大学から研究留学生(3ヶ月間)が加わり、留学生が滞在中は英語が公用語化して、教室が活性化した。

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」を継続しているが、2018年度には2回の開催しか果たすことが出来なかった。

2018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、科研費の総額は減少傾向が認められるため、さらなる研究発展のため、科研費の新規採択を確実にできるよう、今後も目指してゆく必要がある。

研究活動の成果として、教員・大学院生の奮起によって、2018年は原著英文論文8編、総説1編とほぼ2017年と同じレベルを維持することが出来た。今後も原著論文をコンスタントに発表し、より高いレベルの雑誌に掲載してゆく必要がある。

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年から続けている文部科学省事業「ひらめき☆ときめきサイエンス」を、「働き者の心臓を見て、触って、聴いて、知りつくそう」というテーマで開催した。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Lü P¹⁾, Jiao Q (Huazhong Normal Univ), Shimura D, Kusakari Y, Liu F¹⁾ (Huazhong Univ Sci Tech), Minamisawa S. Distinct vascular remodeling pattern of adult rats with carotid-jugular shunt. *Ann Vasc Surg* 2018; 49: 168-78.
- 2) Iwai K¹⁾, Nagasawa K¹⁾, Akaike T, Oshima T¹⁾, Kato T¹⁾ (Waseda Univ), Minamisawa S. CCN3 Secreted by prostaglandin E₂ inhibits intimal cushion formation in the rat ductus arteriosus. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 503(4): 3242-7.
- 3) Steiger D¹⁾, Yokota T¹⁾, Li J¹⁾, Ren S¹⁾, Minamisawa S, Wang Y¹⁾ (UCLA). The serine/threonine-protein kinase/endoribonuclease IRE1 α protects the heart against pressure overload-induced heart failure. *J Biol Chem* 2018; 293(25): 9652-61.
- 4) Kobirumaki-Shimozawa F, Shimozawa T (Univ Tokyo), Oyama K, Kushida Y, Terui T, Ishiwata S (Waseda Univ), Fukuda N. Optimization of fluorescent labeling for in vivo nano-imaging of sarcomere in the mouse heart. *Biomed Res Int* 2018; 2018: 4349170.
- 5) Kagemoto T¹⁾, Oyama K, Yamane M¹⁾, Tsukamoto S, Kobirumaki-Shimozawa F, Li A²⁾, Dos Remedios C²⁾ (Univ Sydney), Fukuda N, Ishiwata S¹⁾ (Waseda Univ). Sarcomeric auto-oscillations in single myofibrils from the heart of patients with dilated cardiomyopathy. *Circ Heart Fail* 2018; 11(7): e004333.
- 6) Ito K, Hongo K, Date T, Morimoto S, Yoshii A, Kimura H, Tanaka Y, Nagoshi T, Kusakari Y, Akaike T, Minamisawa S, Ogawa K, Minai K, Kawai M, Matsuo S, Yamane T, Yoshimura M. Mice with the heart-specific overexpression of prothrombin- do not show cardiac insufficiency. *Transl Biomed* 2018; 9(2): 148.
- 7) Xiong PY¹⁾, Baba S, Nishioka N, Fujimoto Y, Archer SL¹⁾ (Queen's Univ), Minamisawa S. Left atrial stenosis induced pulmonary venous arterialization and group 2 pulmonary hypertension in rat. *J Vis Exp* 2018; 141: e58787.

II. 総説

- 1) 平崎裕二, 南沢 享, 岡部正隆. 生命科学を拓く新しい実験動物モデル軟骨魚類 ヒト心臓発生および先天性心疾患発生機構解明のモデル動物としての可能性. *生体の科学* 2018; 69(2): 182-6.

III. 学会発表

- 1) 草刈洋一郎, 碓井文雄, 南沢 享. (口頭) 心筋過伸展により線維化関連因子発現は増加する. 第95回日本生理学会大会. 高松, 2018年3月.
- 2) 新莊聡子, 八神淑英¹⁾, 行田正晃¹⁾ (新潟大), 南沢 享, 合田巨人 (早稲田大). (口頭) 小胞体・ミトコンドリア接触のバルミチン酸誘導性インスリン抵抗性における役割. 第95回日本生理学会大会. 高松, 2018年3月.
- 3) 赤池 徹, 南沢 享. (ポスター) 鳥類の動脈管閉鎖におけるインドメタシンの作用. 第95回日本生理学会大会. 高松, 2018年3月.
- 4) 大山廣太郎, Zeeb V (ロシア科学アカデミー), 新井智実, 伊藤秀城¹⁾, 新谷正嶺 (東京大), 鈴木 団 (大阪大), 福田紀男, 石渡信一¹⁾ (早稲田大). (企画シンポジウム 17: 日本生物物理学会連携シンポジウム 生物物理学的手法による熱産生・応答の生理学研究の新展開) 光熱変換顕微鏡を用いた温度センシングの一細胞解析. 第95回日本生理学会大会. 高松, 2018年3月.
- 5) 福田紀男. (企画シンポジウム 17: 日本生物物理学会連携シンポジウム 生物物理学的手法による熱産生・応答の生理学研究の新展開) オーガナイザー. 第95回日本生理学会大会. 高松, 2018年3月.
- 6) 小比類巻生, 大山廣太郎, 下澤東吾 (東京大), 石渡信一 (早稲田大), 福田紀男. (ポスター) マウス心筋単一サルコメア動態の in vivo ナノ解析. 第95回日本生理学会大会. 高松, 2018年3月.
- 7) 福田紀男, 影本達也¹⁾, 大山廣太郎, 石渡信一¹⁾ (早稲田大). (ポスター) ヒト心筋単一筋原線維におけるサルコメア自動振動: 拡張型心筋症の病態解析. 第95回日本生理学会大会. 高松, 2018年3月.

- 8) Minamisawa S, Nishioka N, Usui F, Kusakari Y. (Poster) Diastolic overstretch causes inner mitochondrial collapsing and impaired force generation in isolated rat papillary muscle. *Experimental Biology* 2018. San Diego, Apr.
- 9) 西岡成知, 南沢 享, 谷端 淳, 井上天宏, 坂東 興. (口頭) 心筋傷害検出における尿中タイチン測定の意味 - 新たな Biomarker の可能性. *JSPPEC (Jikei Seminar of Pediatrics, Physiology, Pharmacology, Endocrinology and Cardiology)*. 東京, 4月.
- 10) 伊藤怜司, 浦島 崇, 糸久美紀, 馬場俊輔, 森 琢磨, 飯島正紀, 安藤達也, 藤原優子, 南沢 享, 小川 潔. (口頭) APAPCA 発現モデルラットを用いた新生血管発現量定量化およびその時間的推移の検討. 第54回日本小児循環器学会・学術集会. 横浜, 7月.
- 11) 河内文江, 浦島 崇, 藤本義隆, 河内貞貴, 南沢 享. (ポスター) 右室圧負荷ラットモデルでの2D-Speckle Tracking (2DSTE) と Diffusion Tensor Imaging (DTI) の右室心筋線維化評価. 第54回日本小児循環器学会・学術集会. 横浜, 7月.
- 12) 浦島 崇, 河内文江, 伊藤怜司, 南沢 享, 藤原優子, 小川 潔. (ポスター) ウエアラブルデバイスを用いた不登校に対する運動指導に関する検討. 第54回日本小児循環器学会・学術集会. 横浜, 7月.
- 13) 小比類巻生, 下澤東吾 (東京大), 大山廣太郎, 石渡信一 (早稲田大), 福田紀男. (口頭) Nano-imaging of individual sarcomere dynamics in the beating mouse heart in vivo. 第56回日本生物物理学会. 岡山, 9月.
- 14) Shinjo S, Jiang S, Nameta M, Minamisawa S, Goda N. (Poster) Disruption of mitochondria-ER contact sites induces insulin resistance upon palmitic acid treatment. *EMBO Workshop: Membrane Contact Sites in Health and Disease*. Arosa, Sept.
- 15) 西岡成知, 南沢 享, 谷端 淳, 井上天宏, 雨谷 優, 木南寛造, 中尾充貴, 篠原 玄, 山城理仁, 松村洋高, 宇野吉雅, 儀武路雄, 坂東 興, 森田紀代造, 橋本和弘. (ポスター) 開心術後, 尿中タイチンは上昇する - 新たな心筋障害マーカーの可能性 -. 第71回日本胸部外科学会定期学術集会. 東京, 10月.
- 16) 草刈洋一郎, 西岡成知, 谷端 淳, 南沢 享. (口頭) 心筋ストレスが誘導する心組織の形態機能変化. 生理学研究所研究会: 心臓・血管系の頑健性と精緻な制御を支える分子基盤の統合的解明. 岡崎, 11月.
- 17) Nishioka N, Kusakari Y, Tanihata J, Minamisawa S. (Poster) Acute diastolic overstretch causes abrupt inner mitochondrial collapsing of isolated rat papillary muscle. *AHA 2018 (American Heart Association Scientific Sessions 2018)*. Chicago, Nov. [Circulation 2018; 138(Suppl.1): A11124]
- 18) Baba S, Shinjo S, Okada M, Fujimoto Y, Akaike T, Kusakari Y, Minamisawa S. (Poster) Downregulation of endoplasmic reticulum-mitochondria tethering proteins in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension. *AHA 2018 (American Heart Association Scientific Sessions 2018)*. Chicago, Nov. [Circulation 2018; 138(Suppl.1): A12265]
- 19) 西岡成知, 草刈洋一郎, 谷端 淳, 南沢 享. (Oral) Acute diastolic overstretch causes abrupt inner mitochondrial collapsing of isolated rat papillary muscle. *筋生理の集い*. 東京, 12月.

IV. 著 書

- 1) 草刈洋一郎. 生理学のポイント. 福島 統編著. 臨床病態生理学: 看護師特定行為研修共通テキストブック. 大阪: メディカルレビュー社, 2018. p.10-1, 22-6, 32-5, 40-3, 49-51, 56-8, 63-4, 70-1, 102-3, 108-9.