

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08507

研究課題名(和文) 糖尿病によるミトコンドリア内へのカルシウム流入の低下が心筋の拡張障害に果たす役割

研究課題名(英文) Roles of mitochondrial calcium uptake in diastolic dysfunction in the hearts with diabetes mellitus

研究代表者

進藤 千代彦 (SHINDOH, Chiyohiko)

東北大学・医学系研究科・名誉教授

研究者番号：10216228

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病では、その約半数が心筋の拡張能障害を呈すること、ミトコンドリア・カルシウム・ユニポーター(MCU)を介したミトコンドリア内部へのカルシウム流入が低下することが知られている。本研究では、血糖値の上昇によるミトコンドリアへのカルシウム流入の低下が心筋の拡張能障害に関与するのではないかと、という仮説の基に以下を明らかにした。1) グルコース値の上昇が不整脈性を亢進させ、収縮能を低下させた。2) 糖尿病ラットではMCUの発現が低下し、拡張能が低下した。これらの解明は、MCUを標的とした全く新しい発想からの糖尿病患者の拡張障害の治療に繋がる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2011年にミトコンドリア・カルシウム・ユニポーターMCUタンパクが特定されて以来、その制御因子を含めたミトコンドリア内へのカルシウム流入に関する研究が急速に進んでいる。このミトコンドリア内カルシウムがATP産生に関与すること、ミトコンドリア膜透過性遷移孔の開口による細胞死に関与することなど多くのことが明らかになりつつある。その一方で、臨床的には人口の高齢化により糖尿病患者の増加、拡張障害による心不全患者の増加が問題となっている。本研究は糖尿病におけるミトコンドリア内へのカルシウム流入の低下が心筋の拡張障害に関与することを示唆するものであり、これまでの国内外の研究を結びつけるものである。

研究成果の概要(英文)：In the patients with diabetes mellitus (DM), mitochondrial calcium uptake through mitochondrial calcium uniporter (MCU) is decreased, and left ventricular (LV) diastolic function is disturbed. Thus, we investigated whether a decrease in mitochondrial calcium uptake due to an increase in blood glucose is involved in the LV diastolic dysfunction. In the present study, we obtained the following results: 1) an elevation of glucose increased arrhythmia susceptibility and decreased muscle contraction, 2) MCU expression was decreased, and diastolic function was disturbed in the myocardium of DM rats. These results suggest that mitochondrial calcium uptake may become a potential therapeutic target for diastolic dysfunction in the patients with DM.

研究分野：循環器内科

キーワード：拡張障害 糖尿病 ミトコンドリア

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

心不全患者は世界的に増加傾向にあり、近年は、心筋収縮力の低下した心不全 (HF<sub>r</sub>EF) と収縮力の保たれた心不全 (HF<sub>p</sub>EF) に分けられる。HF<sub>p</sub>EF の診断基準としては、1)心不全症状を呈すること、2)左室駆出率が保たれていること、3)左室拡張能障害が証明されていることがあり、高齢者や高血圧・糖尿病患者に多いものの、いまだにその治療法に関しては十分なエビデンスが得られていない。近年、糖尿病を合併する心不全患者の頻度は 13% (1989 年) から 47% (1999 年) へと増加している。糖尿病患者の約半数が左室拡張能障害を有するとされており、HF<sub>p</sub>EF 患者増加の一因となっている。

糖尿病ではミトコンドリア内部へのカルシウム流入が低下し、糖尿病マウスではミトコンドリア・カルシウム・ユニporter (MCU) の発現低下が報告されている。ミトコンドリア内カルシウムは、ミトコンドリア脱水素酵素活性の制御に関与することによって、電子伝達系に重要な役割を果たしており、その低下は ATP 産生を低下させる。心筋の収縮と弛緩に関する細胞内カルシウム動態において、ATP の低下で最も影響を受けやすいのは筋小胞体カルシウムポンプ (SERCA) であると報告されており、この筋小胞体へのカルシウム取り込みの低下が細胞内カルシウム濃度の低下を遅延させ、糖尿病患者における左室拡張能障害を引き起こしている可能性がある。

### 2. 研究の目的

糖尿病によるミトコンドリアへのカルシウム流入の低下が心筋の拡張能障害に関与するのかを明らかにするために、本研究では以下の解明を目指す。

グルコース値の上昇が催不整脈性と心筋の収縮/弛緩に与える影響

糖尿病ラットにおけるミトコンドリア内カルシウムと心筋拡張能の関係の解明

### 3. 研究の方法

(1) ラットより多細胞心室筋 (トラベクラ) を摘出し、張力はストレイン・ゲージで、細胞内カルシウムは fura-2 を付加することにより測定した。サルコメア長 2.0 μm において発生張力、最大収縮速度、最大弛緩速度、細胞内カルシウム濃度、細胞内カルシウム低下速度を記録した。不整脈の誘発は 0.3 秒間隔電気刺激を 30 秒間加えることにより誘発した。カルシウム波は 0.4 秒間隔の電気刺激を 7.5 秒間加えることにより誘発した。

(2) ラットにストレプトゾトシン (STZ) 液と対照液を皮下注射したところ、STZ 投与ラットでは 8 週後に有意な血糖値の上昇がみられた (図 1)。対照ラットと STZ ラットより多細胞心室筋を摘出し、発生張力、最大収縮速度、最大弛緩速度、細胞内カルシウム濃度、細胞内カルシウム低下速度を記録した。

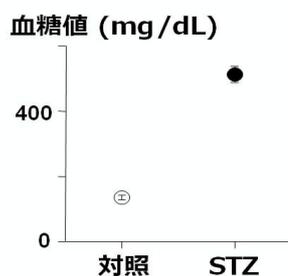


図 1. 対照液と STZ 投与 8 週後の血糖値

ストレプトゾトシン投与ラット (STZ) において血糖値は有意な上昇を示した。

#### 4. 研究成果

##### (1) グルコース値の上昇が催不整脈性に与える影響

多細胞心室筋においてグルコース値を 150 から 400mg/dL に上昇させることは発生張力、最大収縮速度、最大弛緩速度、ピークと拡張期細胞内カルシウム濃度、細胞内カルシウム低下速度に影響を与えなかった。

カルシウム波の伝播速度はグルコース値を 150 から 400mg/dL に上昇させることにより増加し、150mg/dL に戻ると低下した。このグルコース値上昇による伝播速度の増加は、カルシウム・カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ 阻害薬 (CaMK) である KN-93 の投与により抑制された (図 2)。

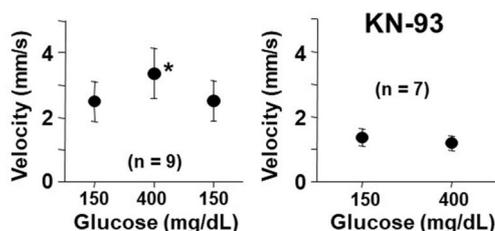


図 2. グルコース値とカルシウム波伝播速度  
グルコース値の上昇はカルシウム波伝播速度を増加させ、KN-93 はその増加を抑制した。\*P<0.05 vs. 150

グルコース値を 150 から 400mg/dL に上昇させることにより、催不整脈性が亢進した (図 3)。この亢進も KN-93 の投与によって抑制された。

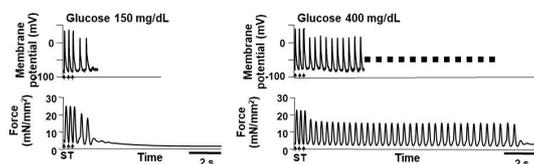


図 3. グルコース値と催不整脈性  
グルコース値の上昇は催不整脈性を亢進させた。

##### (2) グルコース値の上昇が心筋収縮と弛緩に与える影響

サルコメア長 2.0 と 2.2  $\mu\text{m}$  において発生張力、最大収縮速度、最大弛緩速度、細胞内カルシウム濃度、細胞内カルシウム低下速度を記録した。グルコース値 150mg/dL に比べて、グルコース値 400mg/dL では発生張力、最大収縮速度、最大弛緩速度は低下したが、ピーク細胞内カルシウム濃度、細胞内カルシウム低下速度は変化しなかった (図 4、5)。

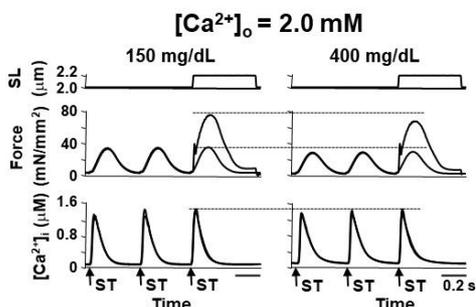


図 4. グルコース値と心筋収縮の実例  
グルコース値の上昇は収縮を低下させが、細胞内カルシウムは変化させなかった。

CaMK である KN-93 の投与はグルコース値 400mg/dL による発生張力、最大収縮速度、最大弛緩速度の低下を抑制した。一方で、グルコース値 400mg/dL は CaMK を亢進させ、トロポニン I のリン酸化を促進した。このことが、収縮弛緩能の低下に関与している可能性がある。

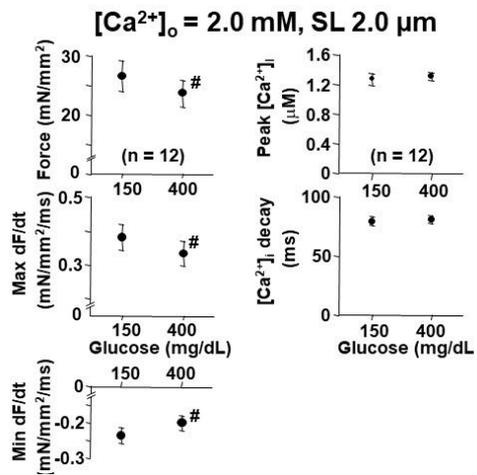


図 5. グルコース値と心筋収縮のまとめ  
 グルコース値の上昇は収縮を低下させが、細胞内カルシウムは変化させなかった。# $P < 0.05$  vs. 150

(3) STZ の投与が心筋収縮と弛緩に与える影響

STZ ラットでは発生張力、最大収縮速度、最大弛緩速度、細胞内カルシウム濃度、細胞内カルシウム低下速度が低下した。

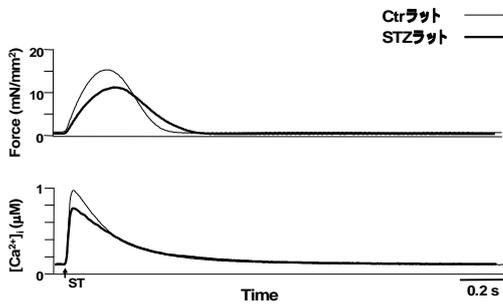


図 6. 対照ラットと STZ ラットにおける張力と細胞内カルシウム変化の実例

STZ ラットでは発生張力、最大収縮速度、最大弛緩速度、細胞内カルシウム濃度、細胞内カルシウム低下速度が低下した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Miura Masahito, Hasegawa Taiki, Matsumoto Ayana, Nishiyama Masami, Someya Yuka, Satoh Wakako, Kumasaka Kazunori, Shindoh Chiyohiko, Sato Haruka	4. 巻 36
2. 論文標題 Effect of transient elevation of glucose on contractile properties in non-diabetic rat cardiac muscle	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Heart and Vessels	6. 最初と最後の頁 568 ~ 576
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00380-020-01726-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Monma Yuto, Shindo Tomohiko, Eguchi Kumiko, Kurosawa Ryo, Kagaya Yuta, Ikumi Yosuke, Ichijo Sadamitsu, Nakata Takashi, Miyata Satoshi, Matsumoto Ayana, Sato Haruka, Miura Masahito, Kanai Hiroshi, Shimokawa Hiroaki	4. 巻 Jul 19
2. 論文標題 Low-intensity pulsed ultrasound ameliorates cardiac diastolic dysfunction in mice: a possible novel therapy for heart failure with preserved left ventricular ejection fraction	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cardiovascular Research	6. 最初と最後の頁 cvaa221
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/cvr/cvaa221	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Miura Masahito, Handoh Tetsuya, Taguchi Yuhto, Hasegawa Taiki, Takahashi Yui, Morita Natsuki, Matsumoto Ayana, Shindoh Chiyohiko, Sato Haruka	4. 巻 84
2. 論文標題 Transient Elevation of Glucose Increases Arrhythmia Susceptibility in Non-Diabetic Rat Trabeculae With Non-Uniform Contraction	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Circulation Journal	6. 最初と最後の頁 551 ~ 558
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1253/circj.CJ-19-0715	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Izu Leighton T., Kohl Peter, Boyden Penelope A., Miura Masahito, Banyasz Tamas, Chiamvimonvat Nipavan, Trayanova Natalia, Bers Donald M., Chen Izu Ye	4. 巻 598
2. 論文標題 Mechano electric and mechano chemo transduction in cardiomyocytes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physiology	6. 最初と最後の頁 1285 ~ 1305
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1113/JP276494	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 9件）

1. 発表者名 Masami Nishiyama, Yuka Someya, Kazunori Kumasaka, Wakako Satoh, Chiyohiko Shindoh, Haruka Sato, Masahito Miura
2. 発表標題 Mitochondrial connexin43 affects arrhythmogenesis with modulation of mitochondrial KATP channels
3. 学会等名 ESC Congress 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuka Someya, Masami Nishiyama, Kazunori Kumasaka, Wakako Satoh, Chiyohiko Shindoh, Haruka Sato, Masahito Miura
2. 発表標題 Ca <sup>2+</sup> loading within mitochondria affects arrhythmogenesis in rat right ventricular hypertrophy
3. 学会等名 ESC Congress 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Haruka Sato, Yuka Someya, Yui Takahashi, Masami Nishiyama, Ayana Matsumoto, Natsuki Morita, Chiyohiko Shindoh, Hideki Ota, Takuya Ueda, Ryuta Kawashima, Masahito Miura
2. 発表標題 Right ventricular longitudinal strain with CMR can more accurately estimate right ventricular functional reserve in rats with pulmonary arterial hypertension
3. 学会等名 ESC Congress 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Wakako Satoh, Masami Nishiyama, Yuka Someya, Kazunori Kumasaka, Chiyohiko Shindoh, Haruka Sato, Masahito Miura
2. 発表標題 Mitochondrial connexin43 affects the occurrence of arrhythmias with modulation of mitochondrial KATP channels
3. 学会等名 第85回日本循環器学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kazunori Kumasaka, Yuka Someya, Wakako Satoh, Masami Nishiyama, Chiyohiko Shindoh, Haruka Sato, Masahito Miura
2. 発表標題 Ca <sup>2+</sup> within the mitochondria is involved in the occurrence of arrhythmias in rat right ventricular hypertrophy
3. 学会等名 第85回日本循環器学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Haruka Sato, Yuka Someya, Masami Nishiyama, Wakako Satoh, Kazunori Kumasaka, Chiyohiko Shindoh, Hideki Ota, Masahito Miura
2. 発表標題 Right ventricular strain by CMR is an important parameter to assess right ventricular functional reserve with pulmonary arterial hypertension
3. 学会等名 第85回日本循環器学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masami Nishiyama, Natsuki Morita, Yuka Someya, Yui Takahashi, Ayana Matsumoto, Chiyohiko Shindoh, Haruka Sato, Masahito Miura
2. 発表標題 Mitochondrial connexin43 affects the occurrence of arrhythmias with the modulation of mitochondrial KATP channels
3. 学会等名 第84回日本循環器学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuka Someya, Yui Takahashi, Ayana Matsumoto, Natsuki Morita, Masami Nishiyama, Chiyohiko Shindoh, Hideki Ota, Haruka Sato, Masahito Miura
2. 発表標題 Right ventricular longitudinal strain with CMR more accurately estimates right ventricular contractile properties in rats with pulmonary arterial hypertension
3. 学会等名 第84回日本循環器学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Masami Nishiyama, Natsuki Morita, Yuka Someya, Yui Takahashi, Ayana Matsumoto, Chiyohiko Shindoh, Haruka Sato, Masahito Miura
2. 発表標題 Mitochondrial Connexin43 and mitochondrial KATP channels affects the occurrence of arrhythmias
3. 学会等名 92nd American Heart Association meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ayana Matsumoto, Natsuki Morita, Yui Takahashi, Haruka Sato, Masahito Miura
2. 発表標題 Elevation of glucose increases arrhythmias in rat myocardium with nonuniform contraction
3. 学会等名 第66回日本不整脈心電学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Wakako Satoh, Kazunori Kumasaka, Chiyohiko Shindoh, Haruka Sato, Masahito Miura
2. 発表標題 Mitochondrial connexin43 can be involved in the occurrence of arrhythmias
3. 学会等名 94th American Heart Association meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Haruka Sato, Kazunori Kumasaka, Wakako Satoh, Chiyohiko Shindoh, Hideki Ota, Kawashima Ryuta, Masahito Miura
2. 発表標題 CMR feature tracking can estimate right ventricular functional reserve in rats with pulmonary arterial hypertension
3. 学会等名 94th American Heart Association meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Wakako Satoh, Haruka Sato, Kazunori Kumasaka, Chiyohiko Shindoh, Masahito Miura
2. 発表標題 Muscle stretching induces twitch contractions without activation of stretch-activated channels in intact rat trabeculae
3. 学会等名 ESC Congress 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Wakako Satoh, Kazunori Kumasaka, Chiyohiko Shindoh, Haruka Sato, Masahito Miura
2. 発表標題 Mitochondrial connexin43 is involved in the occurrence of arrhythmias with modulation of mitochondrial KATP channels
3. 学会等名 Heart Rhythm 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Haruka Sato, Yuka Someya, Masami Nishiyama, Wakako Satoh, Kazunori Kumasaka, Chiyohiko Shindoh, Hideki Ota, Takuya Ueda, Ryuta Kawashima, Masahito Miura
2. 発表標題 CMR feature tracking cloud assess right ventricular functional reserve with pulmonary arterial hypertension
3. 学会等名 EuroCMR2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	三浦 昌人  (MIURA MASAHITO)  (30302110)	東北大学・医学系研究科・教授    (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------