

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：13903

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K22962

研究課題名（和文）哺乳類と異なる戦略で優れた心機能を発揮する鳥類に学ぶ革新的心不全治療の創出

研究課題名（英文）High-Functioning Avian Cardiomyocytes Using Strategies Different from Mammals: Toward Proposing Innovative Heart Failure Treatments

研究代表者

氏原 嘉洋 (Ujihara, Yoshihiro)

名古屋工業大学・工学（系）研究科（研究院）・准教授

研究者番号：80610021

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：心筋細胞の収縮・弛緩は、細胞内Ca²⁺濃度によって制御されている。哺乳類の心筋細胞には特殊な膜構造であるT管膜が存在し、迅速なCa²⁺濃度変化を実現している。一方、鳥類にはT管膜が存在しないにもかかわらず、心拍数が高いことから、鳥類は哺乳類とは異なるメカニズムで迅速なCa²⁺濃度変化を実現していると考えられる。本研究では、鳥類のウズラと哺乳類のラットの心筋細胞のCa²⁺濃度変化を比較した。その結果、ウズラの心筋細胞はラットよりもCa²⁺排出能力が高く、特に細胞内Ca²⁺ストアである筋小胞体へのCa²⁺取り込み能力を強化することで、効率的なCa²⁺濃度変化を実現していることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

哺乳類の心筋細胞に存在するT管膜は、心筋細胞の収縮・弛緩を制御するCa²⁺の濃度変化を迅速化し、心臓の高い心拍数を支えています。そのため、T管膜の崩壊は心不全を引き起こします。しかし、鳥類の心筋細胞はT管膜が存在しないにもかかわらず、高い心拍数を誇ります。本研究では、鳥類のウズラと哺乳類のラットの心筋細胞のCa²⁺濃度変化を比較したところ、ウズラの心筋細胞はT管膜がない代わりに、細胞内のCa²⁺ストアへのCa²⁺の取り込み能力が非常に高く、結果としてCa²⁺濃度変化が迅速であることがわかりました。この成果は、T管膜が崩壊した重篤な心不全に対する新たな治療法の開発に繋がる可能性があります。

研究成果の概要（英文）：The contraction and relaxation of cardiomyocytes are regulated by intracellular Ca²⁺ concentration. In mammalian cardiomyocytes, a special membrane structure known as the T-tubule exists, enabling rapid changes in Ca²⁺ concentration. On the other hand, birds lack T-tubules; however, they maintain high heart rates, suggesting that birds achieve rapid changes in Ca²⁺ concentration through mechanisms different from those of mammals. In this study, we compared the changes in Ca²⁺ concentration in cardiomyocytes between birds (quails) and mammals (rats). The results revealed that quail cardiomyocytes have a higher Ca²⁺ removal capacity than rat cardiomyocytes. Specifically, they achieved efficient Ca²⁺ concentration changes by enhancing the Ca²⁺ uptake ability into the sarcoplasmic reticulum, the intracellular Ca²⁺ store.

研究分野：比較バイオメカニクス

キーワード：鳥類 ウズラ 心筋細胞 カルシウム 筋小胞体 T管膜

1. 研究開始当初の背景

脊椎動物の心筋細胞の律動的な収縮・弛緩は、細胞内の Ca^{2+} 濃度によって制御されている。心筋細胞膜の脱分極が起こると、細胞膜上の L-type Ca^{2+} Channel が開口し、細胞外から少量の Ca^{2+} が細胞内へ流入する。流入した Ca^{2+} が引き金となり、Ryanodine Receptor (RyR) を介して細胞内 Ca^{2+} ストアである筋小胞体 (SR) から細胞質へ大量の Ca^{2+} が放出され、細胞質内の Ca^{2+} 濃度は上昇する。上昇した Ca^{2+} は、収縮装置であるサルコメアの収縮を惹起し、その後 Ca^{2+} 取り込みポンプ (SERCA) によって SR に再び取り込まれるか、細胞膜上の Na^+ - Ca^{2+} 交換体によって細胞外へ輸送される。細胞質の Ca^{2+} 濃度が下降すると、細胞は弛緩する。

哺乳類の心筋細胞には、 Ca^{2+} 濃度変化を迅速に行うために、T 管膜と呼ばれる特殊膜構造が周期的に存在する。T 管膜がない魚類、両生類、爬虫類に関しては、心筋細胞の Ca^{2+} 濃度変化が遅く、心拍数が低い¹⁾。しかしながら、鳥類は T 管膜がないにも関わらず、心拍数は哺乳類と同程度に高い^{1, 2)}。このことから、鳥類の心筋細胞内の Ca^{2+} 濃度変化は哺乳類と同程度に速い可能性があり、T 管膜に頼らずに迅速な Ca^{2+} 濃度変化を行う特別な仕組みがあると考えられる。

2. 研究の目的

鳥類の心筋細胞が T 管膜なしで迅速な収縮・弛緩に必要な Ca^{2+} 濃度変化を実現する仕組みを明らかにすることとする。

3. 研究の方法

実験は、名古屋工業大学の動物実験委員会の許可の下、実施した。鳥類と哺乳類のモデルとして、心拍数の近いウズラとラットを用いた。ランゲンドルフかん流法により、心筋細胞を単離し、電気刺激によって惹起された細胞内の Ca^{2+} 濃度変化を解析した³⁾。細胞質の Ca^{2+} 濃度変化はレシオメトリック型 Ca^{2+} 指示薬である Fura-2 や Fura-4F を用いた。細胞質内の蛍光輝度比が振幅の 95% に到達するまでの上昇時間を Time to peak、低下中の輝度比を指数関数でフィッティングして得られた時定数を Time constant、輝度比が上昇を開始してから振幅の 5% まで低下するのに要した時間を Total time として算出した。SR への Ca^{2+} 取り込み能力を比較するために、Thapsigargin を用いて SERCA を阻害した。さらに、SR 内の Ca^{2+} 濃度変化を輝度値として追従可能な Fluo-5N を用いた解析を行った。

4. 研究成果

まず、ウズラの心室から心筋細胞の細胞単離を試みた。ラットと同様にランゲンドルフかん流により単離可能であることがわかった。

ウズラとラットから単離した心筋細胞の Ca^{2+} 濃度変化を計測し、両者の特徴を比較した (図 1)。Fura-2 AM を取り込ませた心筋細胞を電気刺激することで Ca^{2+} 濃度変化を惹起し、細胞全体の Fura-2 の蛍光輝度比の経時変化を計測した。ラットの心筋細胞の輝度比は、急激に上昇してピークに到達するとすぐに低下し始めた。一方、ウズラの輝度比は、急激に上昇した後に、ピーク付近で一定になるフェイズがあった。一旦低下し始めると、元の輝度比まで迅速に低下した。輝度比の上昇時間 (Time to peak) に関しては、ラットの方がウズラよりも有意に短かったのに対し、下降時間 (Time constant) に関しては、ウズラの方がラットよりも有意に短かった。輝度比が上昇を開始してから元の輝度比まで戻るまでの総時間 (Total time) は、ウズラの方がラットよりも短かった。以上のことから、ウズラ的心筋細胞は、ラットよりも優れた Ca^{2+} 排出能力を有することで、収縮・弛緩に必要な Ca^{2+} 濃度変化を迅速に行っていることが示唆された。Fura-2 よりも Ca^{2+} 濃度変化の時間追従性に優れた Ca^{2+} 蛍光指示薬である Fura-4F を用いて追試を行ったところ、Fura-4F においても、Fura-2 と同様にウズラ的心筋細胞の方が Ca^{2+} 濃度低下時間は短く、ウズラの方が優れた Ca^{2+} 排出能力を有していることが示唆された (図 1)。

続いて、細胞質からの Ca^{2+} 排出機構の一つである SRCa^{2+} ポンプ (SERCA) の機能をウズラとラットで阻害したところ、両者の輝度比下降時間は同程度にまで延長された。さらに、Fluo-5NAM を用いて、SERCA によって Ca^{2+} が SR に取り込まれるスピードをウズラとラット的心筋細胞で比較したところ、ウズラの方が顕著に速かった。以上のことから、ウズラ的心筋細胞は、SERCA による Ca^{2+} 排出能力を向上させることで、迅速な Ca^{2+} 濃度変化を実現していることが示唆された。

以上のことから、鳥類の心筋細胞は、T 管膜に頼らずに迅速な Ca^{2+} 濃度変化が可能であることが明らかになった。哺乳類の重篤な心不全では、T 管膜が崩壊することが知られている。その治療として、一般的には一旦崩壊した T 管膜を再形成することが効果的であると考えられる。それに対し、本研究は新しいアプローチとして、T 管膜に頼らずに迅速な Ca^{2+} 濃度変化が可能な鳥類の心筋細胞の仕組みを利用する革新的な治療法を提案する。本研究で得られた知見を礎として、心不全治療の新たな道を切り開くと共に、従来の治療法に代わる効果的なアプローチを提供することが期待される。

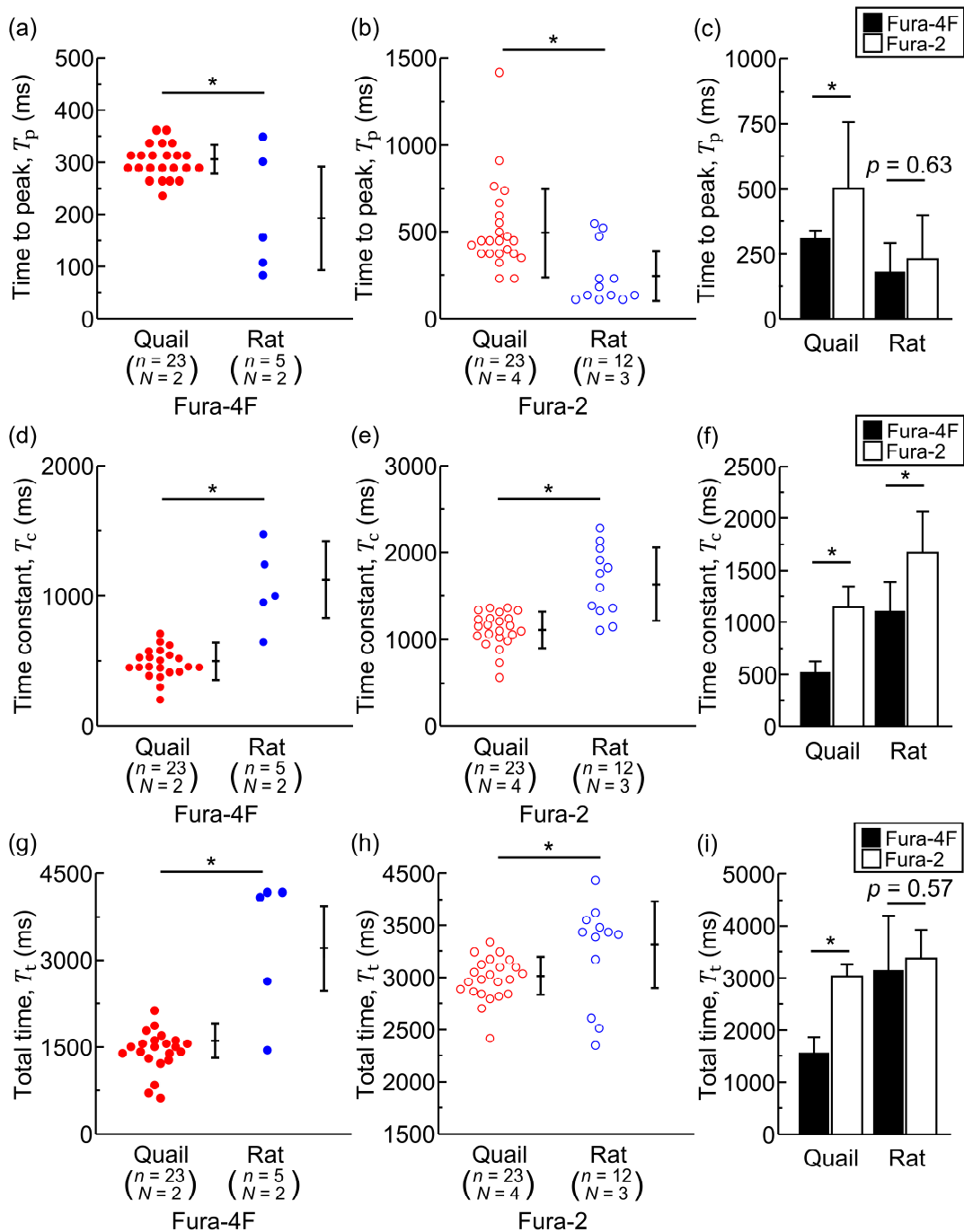


図1 Fura-2 と Fura-4F を用いたウズラとラットの単離心筋細胞の Ca^{2+} 濃度変化の解析⁴⁾。

引用元: Yuhei Ogura, Shukei Sugita, Masanori Nakamura, Yoshihiro Ujihara, Comparison of changes in Ca^{2+} concentration in quail and rat cardiomyocytes using Fura-4F, *Journal of Biorheology*, 37(2), 138-144, 2023, doi: 10.17106/jbr.37.138 この図はクリエイティブ・コモンズ・ライセンス 表示 4.0 国際 (CC BY 4.0) の下でライセンスされている。

引用文献

- 1) Shiels, H.A., and Galli, G.L., "The sarcoplasmic reticulum and the evolution of the vertebrate heart", *Journal of Physiology*, Vol. 29, No. 6 (2014), pp. 456-469.
- 2) Filatova, T.S., Abramochkin, D.V., and Shiels, H.A., "Warmer, faster, stronger: Ca^{2+} cycling in avian myocardium", *The Journal of Experimental Biology*, Vol. 223, No. 19 (2020), jeb228205.
- 3) Ogura, Y., Ito, H., Sugita, S., Nakamura, M., and Ujihara, Y., "Decrease in Ca^{2+} Concentration in Quail Cardiomyocytes Is Faster than That in Rat Cardiomyocytes", *Processes*, Vol. 10, No. 3 (2022), 508.
- 4) Ogura, Y., Sugita, S., Nakamura, M., and Ujihara, Y., "Comparison of changes in Ca^{2+} concentration in quail and rat cardiomyocytes using Fura-4F", *Journal of Biorheology*, Vol. 37, No. 2 (2024), pp. 138-144.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Ogura Yuhei, Sugita Shukei, Nakamura Masanori, Ujihara Yoshihiro	4. 巻 37
2. 論文標題 Comparison of changes in Ca ²⁺ concentration in quail and rat cardiomyocytes using Fura-4F	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Biorheology	6. 最初と最後の頁 138 ~ 144
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.17106/jbr.37.138	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ujihara Yoshihiro	4. 巻 49
2. 論文標題 Exploring the Differences in Avian and Mammalian Hearts through the Unique Membrane Structures of Cardiomyocytes: Calcium Concentration Management and Cardiac Resilience	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 MEMBRANE	6. 最初と最後の頁 82 ~ 86
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5360/membrane.49.82	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 Ogura Yuhei, Ito Hiroaki, Sugita Shukei, Nakamura Masanori, Ujihara Yoshihiro	4. 巻 10
2. 論文標題 Decrease in Ca ²⁺ Concentration in Quail Cardiomyocytes Is Faster than That in Rat Cardiomyocytes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Processes	6. 最初と最後の頁 508
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pr10030508	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ito Megumi, Ujihara Yoshihiro, Sugita Shukei, Nakamura Masanori	4. 巻 47
2. 論文標題 Comparison of the histology and stiffness of ventricles in Anura of different habitats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Biological Physics	6. 最初と最後の頁 287 ~ 300
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10867-021-09579-4	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 伊藤 愛、杉田 修啓、中村 匡徳、氏原 嘉洋	4. 巻 59
2. 論文標題 水生、半水生、陸生カエルにおける心室の耐圧性と組織構造の違い	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 生体医工学	6. 最初と最後の頁 162 ~ 168
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11239/jsmbe.59.162	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計27件(うち招待講演 4件/うち国際学会 5件)

1. 発表者名 徳井 優太、杉田 修啓、中村 匡徳、氏原 嘉洋
2. 発表標題 ウズラおよびラットの心房・心室心筋細胞におけるカルシウムトランジェントの比較分析
3. 学会等名 日本機械学会 第36回バイオエンジニアリング講演会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 長瀬 檀、杉田 修啓、中村 匡徳、氏原 嘉洋
2. 発表標題 鳥類心筋細胞の発達メカニズム解明に向けたウズラ胚由来培養心筋細胞の発達度評価
3. 学会等名 日本機械学会 第36回バイオエンジニアリング講演会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 氏原 嘉洋
2. 発表標題 特殊膜構造から探る鳥類と哺乳類における心筋細胞の高出力化戦略の違い
3. 学会等名 日本膜学会「第45年会」・「膜シンポジウム2023」合同大会(招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小椋 悠平, 杉田 修啓, 中村 匡徳, 氏原 嘉洋
2. 発表標題 Comparison of Ca ²⁺ transients in cardiomyocytes isolated from quails, snakes and rats
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 伊藤 愛, Nguyen Vu, 小椋 悠平, 杉田 修啓, 中村 匡徳, 氏原 嘉洋
2. 発表標題 Comparative evaluation of passive mechanical properties of ventricles in different habitats using Anura and Serpente
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 徳井 優太, 小椋 悠平, 杉田 修啓, 中村 匡徳, 氏原 嘉洋
2. 発表標題 成体ウズラ単離心筋細胞における収縮・弛緩動態及びカルシウムトランジェントの心房心室間比較
3. 学会等名 日本機械学会東海支部第54回学生員卒業研究発表講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 長瀬 檀, 杉田 修啓, 中村 匡徳, 氏原 嘉洋
2. 発表標題 ウズラ胚から単離した心筋細胞の静置培養におけるサルコメアの発達度評価
3. 学会等名 日本機械学会東海支部第54回学生員卒業研究発表講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小椋 悠平, 伊藤 大晃, 杉田 修啓, 中村 匡徳, 氏原 嘉洋
2. 発表標題 ウズラ単離心筋細胞のCa ²⁺ 濃度変化の時空間的特性
3. 学会等名 日本機械学会2022年度年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoshihiro Ujihara
2. 発表標題 Changes in ventricular structure and passive stiffness during vertebrate terrestrialization: Comparison of ventricles of extant Anura from different habitats
3. 学会等名 the 9th World Congress of Biomechanics (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ogura Y, Ito H, Ito M, Sugita S, Nakamura M, and Ujihara Y
2. 発表標題 Analysis of Ca concentration changes evoked by electrical stimulation in cardiomyocytes isolated from quails
3. 学会等名 the 9th World Congress of Biomechanics (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 氏原 嘉洋, 伊藤 愛, 小椋 悠平
2. 発表標題 哺乳類研究者の知らない脊椎動物の心臓の世界
3. 学会等名 第34回バイオエンジニアリング講演会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 氏原 嘉洋
2. 発表標題 陸生脊椎動物の心筋細胞のカルシウム濃度管理の重要性と多様性
3. 学会等名 第33回バイオエンジニアリング講演会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Megumi Ito, Shukei Sugita, Masanori Nakamura, Yoshihiro Ujihara
2. 発表標題 Comparison of the passive mechanical property and structure of ventricles in terrestrial and aquatic Anura
3. 学会等名 The 2nd Joint Meeting of the European Society for Clinical Hemorheology and Microcirculation, the International Society for Clinical Hemorheology and the International Society of Biorheology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Megumi Ito, Shukei Sugita, Masanori Nakamura, Yoshihiro Ujihara
2. 発表標題 Ventricle of terrestrial Anura is stiffer than that of aquatic Anura due to differences in collagen density
3. 学会等名 XXVIII Congress of the International Society of Biomechanics (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊藤 愛, 杉田 修啓, 中村 匡徳, 氏原 嘉洋
2. 発表標題 上陸による心室のスティフネスと組織構造の変化 - 生息環境の異なるカエルを用いた検討 -
3. 学会等名 日本機械学会 2021年度年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊藤 愛, 杉田 修啓, 中村 匡徳, 氏原 嘉洋
2. 発表標題 水生, 半水生, 陸生カエルにおける心室の耐圧性と組織構造の違い
3. 学会等名 生体医工学シンポジウム2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Megumi Ito, Mizuna Shibayama, Shukei Sugita, Masanori Nakamura, Yoshihiro Ujihara
2. 発表標題 Ventricle of terrestrial Anura has higher resistance to internal pressure than that of aquatic and semiaquatic Anura
3. 学会等名 The 11th Asia Pacific Conference on Biomechanics (AP Biomech 2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小椋 悠平, 伊藤 大晃, 杉田 修啓, 中村 匡徳, 氏原 嘉洋
2. 発表標題 ウズラ単離心筋細胞の興奮収縮連関におけるCa動態の解析
3. 学会等名 日本機械学会 第32回バイオフィロントニア講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小椋 悠平, 伊藤 大晃, 杉田 修啓, 中村 匡徳, 氏原 嘉洋
2. 発表標題 ウズラとラット単離心筋細胞の興奮収縮連関におけるCa ²⁺ 動態の比較
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊藤 愛, 杉田 修啓, 中村 匡徳, 氏原 嘉洋
2. 発表標題 心臓進化の観点からみたカエル心室の受動的伸展性 - ラット・カメとの比較 -
3. 学会等名 第43回日本バイオレオロジー学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伊藤 愛, 杉田 修啓, 中村 匡徳, 氏原 嘉洋
2. 発表標題 水生と陸生のカエル心室の受動的伸展性の比較
3. 学会等名 第30回ライフサポート学会フロンティア講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nguyen Dang Vu, 杉田 修啓, 中村 匡徳, 氏原 嘉洋
2. 発表標題 ヘビ心臓の基礎的解析 臓器レベルの受動的伸展性と心筋細胞の構造・形態の評価
3. 学会等名 日本機械学会東海学生会 第52回学生員卒業研究発表会講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小椋 悠平, 杉田 修啓, 中村 匡徳, 氏原 嘉洋
2. 発表標題 成体ウズラ単離心筋細胞のカルシウムトランジェントの解析
3. 学会等名 日本機械学会東海学生会 第52回学生員卒業研究発表会講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊藤 愛, 氏原 嘉洋, 花島 章, 本田 威, 児玉 彩, 杉田 修啓, 中村 匡徳, 橋本 謙, 毛利 聡
2. 発表標題 Comparison of passive mechanical properties of rat, chicken, frog and turtle ventricles
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Akira Hanashima, Yoshihiro Ujihara, Momoko Ohira, Misaki Kimoto, Aya Kodama, Ken Hashimoto, Satoshi Mohri
2. 発表標題 Evolution of the coronary circulation hearts by shortening the elastic regions of connectin
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伊藤 愛, 杉田 修啓, 中村 匡徳, 氏原 嘉洋
2. 発表標題 心臓の拡張不全の理解に向けたカエル心臓の受動的伸展性の評価
3. 学会等名 ライフサポート学会第29回フロンティア講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤 元気, 氏原 嘉洋, 杉田 修啓, 中村 匡徳
2. 発表標題 マイクロ流路における鳥類の血液流動解析
3. 学会等名 第67回レオロジー討論会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

名古屋工業大学 医用生体工学研究室
<http://biomech.web.nitech.ac.jp/>

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	毛利 聡 (Mohri Satoshi) (00294413)	川崎医科大学・医学部・教授 (35303)	
研究分担者	中村 匡徳 (Nakamura Masanori) (20448046)	名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・教授 (13903)	
研究分担者	西辻 光希 (Nishitsuji Koki) (60770823)	福井県立大学・海洋生物資源学部・准教授 (23401)	
研究分担者	花島 章 (Hanashima Akira) (70572981)	川崎医科大学・医学部・講師 (35303)	
研究分担者	橋本 謙 (Hashimoto Ken) (80341080)	川崎医科大学・医学部・准教授 (35303)	

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
---------	---------