

平成 28 年 6 月 17 日現在

機関番号：32651

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2011～2015

課題番号：23107003

研究課題名(和文)生体内ナノ分子計測を利用した心疾患病態の解析

研究課題名(英文)Elucidation of the heart's functions by in vivo nano-imaging

研究代表者

福田 紀男(Norio, Fukuda)

東京慈恵会医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30301534

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 78,700,000円

研究成果の概要(和文)：1)ラットの幼若心筋細胞のZ線にAcGFPを発現させ、心筋細胞内のサルコメアについて解析を行った。サルコメア長変化の測定精度は、3 nmであった(SL nanometry)。また、赤外レーザーによる熱刺激法と組み合わせ、体温よりもわずかに -1°C 高い条件において高速($\sim 10\text{ Hz}$)のサルコメア振動(HSOs)が惹起されることを見出した。2)マウスin vivo心臓において、心筋細胞内のナノ分子情報を抽出できる新たな顕微システムを構築した。その結果、同一細胞内であってもサルコメア長にはバラツキが存在すること、それらが同調することによって調和の取れた心拍が生まれていることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：1) We developed an experimental system for simultaneous nanoscale analysis of single sarcomere dynamics and Ca changes via the expression of AcGFP in Z disks in primary-cultured rat neonatal cardiomyocytes. The averaging of the lengths of sarcomeres along the myocyte caused marked underestimation of sarcomere lengthening speed because of the superpositioning of different timings for lengthening between sequentially connected sarcomeres. We also found that a rapid increase in temperature to $>38^{\circ}\text{C}$ induced Ca-independent high-frequency ($\sim 10\text{ Hz}$) sarcomeric auto-oscillations (HSOs). 2) We developed a high-speed (100 fps) high-resolution (20 nm) imaging system for myocardial sarcomeres in living mice. It was found that (i) the working range of sarcomere length existed on the shorter resting distribution side and (ii) the left ventricular developed pressure was linearly correlated with the sarcomere length change between diastole and systole on the order of 100 nm.

研究分野：生理学

キーワード：ナノバイオ 細胞・組織 循環器・高血圧 分子イメージング

1. 研究開始当初の背景

我が国における心疾患の死亡率は癌に次いで第二位となっており、患者数も年々増加している。したがって我が国が健康国家を維持するためには、心臓研究を強力に推進することによって重篤な心疾患の分子メカニズムを正確に解明し、新たな診断・治療方法を開発することが急務である。しかしながら多くの心臓研究は、運動性を持たない他の臓器におけるものと同様、依然として“生物学(分子生物学、生化学)”の観点からの原因・派生物質(分子マーカー)の探索を中心に行われている。そのため、心筋細胞の興奮収縮連関や細胞内・細胞間情報伝達機構における局所の力学・化学共役(メカノケミカルカップリング)すら普遍化・体系化するに至っていない。さらに、細胞や組織レベルで得られた生物情報をそのまま個体に当てはめて考察している研究が大半を占める。したがって、心筋細胞の収縮・弛緩反応を生理的条件下、高精度でイメージングすることのできるシステムを開発し、その機能を系統的に解明する必要がある。

2. 研究の目的

本研究では、心筋細胞内 μm 領域でのイオン動態や分子の挙動を *in vivo* において高時間・空間分解能で可視化し、拍動リズム調節機構やそのリズム破綻のメカニズムを探る。心臓の機能を、数学、物理学や化学(すなわち、physical sciences)の言葉を使って記述し、心臓研究に新しい分野を創成することを目指す。

3. 研究の方法

光学顕微鏡を基盤とした最先端のナノイメージング技術を小動物より摘出した心筋細胞や *in vivo* 心臓に応用し、心筋細胞内の Ca^{2+} イオン濃度やサルコメア長を蛍光像を解析することにより測定した。また、除膜処理したマウスの心室筋線維を用い、動力学的な実験を行った。以下に詳細をまとめる。

：心筋細胞を用いた実験

1) 幼若心筋細胞

1日齢の Wistar ラットより心室筋細胞を得た(論文4,7)。pAcGFP-actinin プラスミドを幼若心筋細胞に導入後、1日後に実験を行った。細胞内 Ca^{2+} 濃度の計測が必要な場合には Fluo-4 を導入し、bandpass filter (BP470-490) を介した水銀灯の青波長励起、emission filter (BA515IF) を介した緑波長の蛍光取得を行う1波長1励起の蛍光観察の条件で計測を行った。解析するデータは EMCCD カメラ (iXON +897; Andor Technology) を用い、露

光時間 20 ms の 50 frames per second (fps) の動画として取得した。ただし、自発拍動する心筋細胞の観察実験は露光時間 40 ms の 25 fps の動画を扱った。対物レンズには 60 倍の油浸レンズ (N/A 1.45) を用いた。サルコメア長ナノ計測については、デジタル動画として取得した Z 線の輝度が筋原線維に沿って複数入るような直線状の領域を選択し、Z 線の輝度と直交する方向の 1 次元輝度情報を取得する。この 1 次元輝度情報において、Z 線の輝線に対応する離散的輝度ピーク値を検出し、その離散的ピーク値とその前後の準輝度ピーク値の 3 つの輝度値から parabolic fitting 関数を作成した。Fitting 関数のピーク値を、Z 線の中心推定位置と定義した。すなわち、各 Z 線に対してこの解析を行い、隣接 Z 線間の距離がサルコメア長となる。

昇温させる場合、1455 nm の波長の赤外レーザーを用いた。すなわち、レーザー光が集光する点を作ることにより、集光点近傍の温度を速やかに上昇させた(論文7,10)。

) *In vivo* 心筋サルコメアイメージング

α -Actinin-AcGFP のアデノウイルスベクター (ADV) を作製し、*in vivo* 心筋細胞の Z 線に AcGFP を発現させた(論文1)。アデノウイルスベクター注入 2 日後には AcGFP の発現が認められた。マウスはイソフルランにて麻酔した後に人口呼吸下、電気メスにて胸郭を取り去った。488 nm のレーザーを照射することによって蛍光観察を行い、サルコメア長のナノ計測を行った。レンズは、40 倍 (N/A, 0.8) と 60 倍 (N/A, 1.0) の二種類の水浸レンズを用いた。動画の撮影は 100 fps の速度で行った。

4. 研究成果

) ラット幼若心筋細胞を用いたサルコメア長ナノ計測：

本研究において我々は、ラットの培養幼若心筋細胞の Z 線 (α アクチニン) に AcGFP を発現させ、サルコメアの運動を高精度で計測することのできる実験系を構築した。この実験系におけるサルコメア長の計測精度は 3 nm であった(現在のところ世界最高精度)。細胞内 Ca^{2+} 濃度は、Fluo-4 によって同時に計測した。SL の平均値は、静止時に $\sim 2.00 \mu\text{m}$ であったが、収縮時には $\sim 1.80 \mu\text{m}$ に短縮した。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ことが明らかとなった(図1)。各鋸波形には時間的なズレが生じ、そのために平滑化されてスムーズな収縮、伸展波形が得られた。

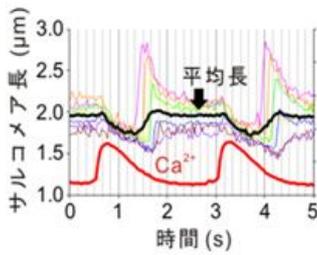


図 1: ラット幼若心筋細胞における細胞内 Ca^{2+} とサルコメア長の同時計測。7 つの連続した各サルコメアの長さを計測 (カラーの線)。平均長は黒の太線で示してある。赤線は Fluo-4 の蛍光強度、すなわち細胞内 Ca^{2+} 濃度変化。論文 7 より抜粋。

ところで、心筋の収縮系は、中間活性条件下で自発的に振動する (SPOC; 論文 11 参照)。本研究において、 Ca^{2+} イオノフォア処理した心筋細胞において、周期 1 ~ 3 Hz の自励振動 (Cell-SPOC) が観察された (図 2)。Cell-SPOC 中のサルコメア振動は、ゆっくりとした短縮相と素早い伸展相から成る鋸波であった。

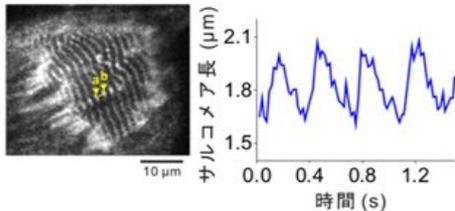


図 2: (左) Z 線に AcGFP を発現したラット幼若心筋細胞。"a"、"b" の Z 線間の距離、すなわちサルコメア長を計測した。(右) Cell-SPOC の典型例。右のサルコメア長を計測。論文 7 より抜粋。

なお、 Ca^{2+} イオノフォア処理していない心筋細胞において、電気刺激の頻度を生理的なレベル (3 ~ 5 Hz) に上げると、伸展速度の上昇とともに短縮 / 伸展の位相が変化し、Cell-SPOC に類似していた。これらの結果は、1) 本研究において開発した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こと、2) 生理的な拍動条件下、心筋細胞にはサルコメアの自励振動特性 (SPOC) を介して隣接するサルコメアに収縮・弛緩が効率的に伝達されている仕組みが備わっていることを示唆する。

昇温誘起高速サルコメア振動の発見:

ラット幼若心筋細胞を用い、赤外レーザーによって環境温度が昇温した際、サルコメア動態に生じる変化を詳細に解析した。その結果、速やかな昇温 (38 以上) によって細胞内 Ca^{2+} 濃度の変動の有無にかかわらず、高振動数のサルコメア自励振動が誘起されることを見出した (HSOs)。筋生理学は生理学の中でも長い歴史を有しているが、HSOs は、まったく新規の現象である。筋小胞体の機能

が正常に保たれている心筋細胞においては、HSOs は Ca^{2+} 依存性の自発拍動と共存した (図 3)。この時、両者の振動数を比較すると、HSOs は ~10 Hz であり、自発拍動は ~1 Hz であった。また、HSOs は、筋小胞体の機能を薬理的に阻害した条件でも生じた。HSOs の振動パターンについてサルコメア長ナノ解析を行うと、その位相が Cell-SPOC と類似していた。すなわち、昇温によって細いフィラメントの状態が *on* と *off* の中間状態になり、それによってサルコメアの自励振動が生じたものと理解することができる。

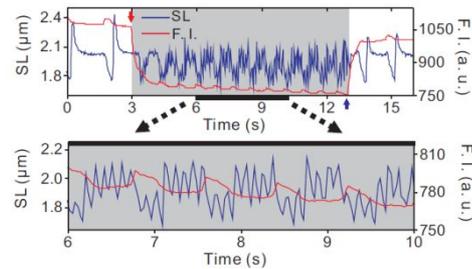


図 3: ラット幼若心筋細胞における HSOs。青線がサルコメア長変化を、赤線が蛍光強度変化を示す。細胞内 Ca^{2+} 濃度変化は Fluo-8 を用いて測定。赤、青の矢印 (上のグラフ) は、それぞれ赤外レーザー照射開始、終了の時点を示す。昇温によって AcGFP の蛍光強度が低下するため、細胞全体の蛍光強度が低下。下のグラフは上のグラフの拡大図。論文 4 より抜粋。

In vivo マウスにおけるサルコメア長計測:

小動物 *in vivo* 心臓において、心筋細胞内のナノ分子情報を抽出できる新たな顕微システムを構築した。すなわち、マウス *in vivo* 心臓において、左心室心筋細胞内のサルコメアの動きを高空間 (20 nm)・時間 (100 fps) 分解能で捉えることに世界で初めて成功した (論文 1)。その結果、同一細胞内であってもサルコメア長には ~300 nm ものバラツキが存在すること、それらが同調することによって調和の取れた心拍が生み出されていることが明らかとなった。

また我々は、サルコメア長の変化分と (マクロパラメータである) 左心室内圧とは強く相関し、サルコメアの収縮機構と心臓のポンプ機構との間にタイトなカップリング機構が存在することを見出した。さらに、画像再構築法を独自に開発した。すなわち、心臓は拍動し続ける臓器であるため、収縮、もしくは拡張のピーク時点において Z 軸方向の焦点ズレが生じる。我々は、左心室内圧の波形を基準とし、これを 17 のフェーズに分割、各フェーズにおいて対物レンズを Z 軸方向に動かすことによって焦点の合った画像を抽出した。実験後、画像を再構築し、心臓サイク

ルのすべての時点において焦点の合った動画を作成することに成功した。本実験系は、今後、心臓の生理および病態の解析に幅広く

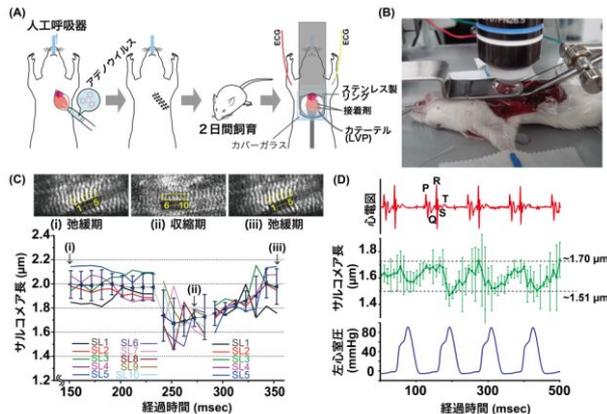


図 4: A) マウスへの ADV 投与方法。濃縮した ADV を麻酔下に開胸したマウスの左心室表面に投与。2 日後に GFP の発現が安定して見られた。B) *In vivo* 顕微システムによる、サルコメア長とマクロパラメーター（心電図、心臓内圧）の同時計測の様子。C) 一回の心臓サイクルにおける同一心筋細胞内のサルコメア長変化。同一細胞内でもサルコメア長には~300 nm のバラツキがある。心筋細胞内の個々のサルコメア長を *in vivo* において計測することに成功した世界初のデータである。上は、計測した心筋細胞の領域を示す（黄色枠内）。心筋に特有な横紋構造が見られる。D) ナノ情報とマクロ情報の融合。動画取得開始から 0.5 秒までの平均サルコメア長（中段）および、心電図（上段）と左心室内圧（下段）。論文 1 より抜粋。

また、Ca²⁺蛍光指示薬を用いて、摘出後に灌流した心臓の表面から細胞内カルシウム動態を観察した。心筋組織内の複数の細胞からランダムな Ca²⁺ウェーブが観察され、そこに外部電極から電気刺激（強制振動）を与えると刺激に同調した細胞内 Ca²⁺の上昇（Ca²⁺トランジェント）が観察された（論文投稿中）。

熱パルス照射による心筋収縮系への影響:

本研究では、成体ラットから心室筋細胞を単離し、顕微鏡下で熱パルスを与えた際の収縮の観察を行った。心筋細胞は温度上昇時に収縮し、レーザー照射を止めると弛緩した。電気刺激による収縮反応時には、Fluo-4 を用いた蛍光観察から、細胞内 Ca²⁺濃度上昇が見られた。それに対して、加熱収縮時では細胞内 Ca²⁺濃度上昇は確認されなかった。



図 5: 赤外レーザーの照射によって誘起されたラット単離心筋細胞の短縮（約 36 → 約 43 μm）。図中の IR-laser とは、レーザー中心を示す。論文 10 より抜粋。

Ca²⁺非存在下、除膜した心筋細胞に熱パルスを与えたところ、図 5 と同様な短縮反応が見られた。これらの結果は、熱パルスによる収縮機構は、Ca²⁺シグナルを介さず、一時的に細いフィラメントの“on-off”平衡を on 側にシフトさせることによって、クロスブリッジの結合が惹起されるものと理解される。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 12 件）

1) Kobirumaki-Shimozawa F, Oyama K, Shimozawa T, Mizuno A, Ohki T, Terui T, Minamisawa S, Ishiwata S, 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. *Journal of General Physiology* 2016;147:53-62.

2) Oyama K, Arai T, Isaka A, Sekiguchi T, Itoh H, Seto Y, Miyazaki M, Itabashi T, Ohki T, Suzuki M, Ishiwata S. Directional bleb formation in spherical cells under temperature gradient. *Biophysical Journal* 2015;109:355-364.

3) Oyama K, Zeeb V, Kawamura Y, Arai T, Gotoh M, Itoh H, Itabashi T, Suzuki M, Ishiwata S. Triggering of high-speed neurite outgrowth using an optical microheater. *Scientific Reports* 2015;5:16611.

4) Shintani SA, Oyama K, Fukuda N, Ishiwata S. High-frequency sarcomeric auto-oscillations induced by heating in living neonatal cardiomyocytes of the rat. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2015;457:165-170.

5) Udaoka J, Fukuda N, Yamauchi H, Marumo K. Clinical definition and diagnostic criteria for sarcopenia. *Journal of Physical Fitness and Sports Medicine* 2014;3:347-352.

6) Kobirumaki-Shimozawa F, Inoue T, Shintani SA, Oyama K, Terui T, Minamisawa S, Ishiwata S, Fukuda N. Cardiac thin filament regulation and the Frank-Starling mechanism. *Journal of Physiological Sciences* 2014;64: 221-232.

7) Shintani SA, Oyama K, Kobirumaki-Shimozawa F, Ohki T, Ishiwata S, Fukuda N. Sarcomere length nanometry in rat neonatal cardiomyocytes expressed with α -actinin-AcGFP in Z-discs. *Journal of General Physiology* 2014;143:513-524.

8) Inoue T, Kobirumaki-Shimozawa F, Kagemoto T, Fujii T, Terui T, Kusakari Y, Hongo K, Morimoto S, Ohtsuki I, Hashimoto K, Fukuda N. Depressed Frank-Starling mechanism in the left ventricular muscle of the knock-in mouse model of dilated cardiomyopathy with troponin T deletion mutation Δ K210. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2013;63:69-78.

9) Kobirumaki-Shimozawa F, Oyama K, Serizawa T, Mizuno A, Kagemoto T, Shimozawa T, Ishiwata S, Kurihara S, Fukuda N. Sarcomere imaging by quantum dots for the study of cardiac muscle physiology. *Journal of Biotechnology and Biotechnology* 2012;2012:313814.

10) Oyama K, Mizuno A, Shinani SA, Itoh H, Serizawa T, Fukuda N, Suzuki M, Ishiwata S. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2012;417:607-612.

11) Serizawa T, Terui T, Kagemoto T, Mizuno A, Shimozawa T, Kobirumaki F, Ishiwata S, Kurihara S, Fukuda N. Real-time measurement of the length of a single sarcomere in rat ventricular myocytes: a novel analysis with quantum dots. *American Journal of Physiology* 2011;301:C1116-C1127.

12) Fukuda N, Inoue T, Yamane M, Terui T, Kobirumaki F, Ohtsuki I, Ishiwata S, Kurihara S. Sarcomere

length-dependent Ca^{2+} activation in skinned rabbit psoas muscle fibers: coordinated regulation of thin filament cooperative activation and passive force. *Journal of Physiological Sciences* 2011;61:515-523.

〔学会発表〕(計 35 件)

1) Seiichi Tsukamoto, Kotaro Oyama, Teruyuki Fujii, Fuyu Kobirumaki-Shimozawa, Togo Shimozawa, Seine A. Shintani, Shin'ichi Ishiwata, Norio Fukuda. SIMULTANEOUS HIGH-PRECISION IMAGING OF LOCAL CALCIUM AND SINGLE SARCOMERE LENGTH IN RAT NEONATAL CARDIOMYOCYTES VIA EXPRESSION OF YELLOW CAMELEON-NANO140 IN Z-DISCS. 米国生物物理学会、Los Angeles、2016 年 3 月。

2) Fuyu Kobirumaki-Shimozawa, Kotaro Oyama, Togo Shimozawa, Takako Terui, Shin'ichi Ishiwata, Norio Fukuda. High-speed, high-performance real-time imaging of physiological sarcomere dynamics in the beating heart in vivo. 米国生物物理学会、Los Angeles、2016 年 3 月。

3) 大山廣太郎、小比類巻 生、下澤東吾、福田紀男. *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. 日本生理学会年会、北海道・札幌コンベンションセンター、2016 年 3 月。

4) 塚本精一、大山廣太郎、藤井輝之、小比類巻 生、石渡信一、福田紀男. Yellow Cameleon-Nano140 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. 日本生理学会年会、北海道・札幌コンベンションセンター、2016 年 3 月。

5) 櫛田康晴、塚本精一、藤井輝之、大山廣太郎、小比類巻 生、福田紀男. マウス心臓における移植ラット幼若心筋のサルコメア動態の定量的解析. 日本生理学会年会、北海道・札幌コンベンションセンター、2016 年 3 月。

6) 小比類巻 生、大山廣太郎、下澤東吾、新谷正嶺、広川恵里沙、照井貴子、石渡信一、福田紀男. ナノイメージングによるマウス心臓の *in vivo* サルコメア動態解析. 日本生物物理学会、金沢大学角間キャンパス、2015 年 9 月。

7) 大山廣太郎、新谷正嶺、伊藤秀城、石井秀弥、福田紀男、鈴木 団、石渡信一. 局所熱パルス法を用いて細胞の温度感受性を解明する. 日本生理学会、鹿児島大学、2014 年 3 月。

8) 小比類巻 生、大山廣太郎、広川恵里沙、下澤東吾、照井貴子、南沢 享、石渡信一、福田紀男. 高速ライブイメージングを用いたマウス *in vivo* 単一サルコメア計測. 日本生理学会、鹿児島大学、2014 年 3 月。

9) 塚本精一、大山廣太郎、新谷正嶺、小比類巻 生、石渡信一、福田紀男. Yellow Cameleon-Nano を用いたラット幼若心筋細胞のサルコメア長とカルシウムの同時観測. 日本生理学会、鹿児島大学、2014 年 3 月。

10) 新谷正嶺、大山廣太郎、大木高志、石渡信一、福田紀男. α -Actinin-AcGFP を Z 線に発現させた心筋細胞におけるサルコメア長のナノ精度計測系. 日本生理学会、鹿児島大学、2014 年 3 月。

11) 藤井輝之、新谷正嶺、塚本精一、石渡信一、福田紀男、南沢 享. ストレスファイバー様構造を形成したラット幼若心筋細胞のサルコメア動態の解析. 日本生理学

会、鹿児島大学、2014 年 3 月。

12) Kotaro Oyama, Shuya Ishii, Tomomi Arai, Seine A. Shintani, Hideki Itoh, Norio Fukuda, Madoka Suzuki, Shin'ichi Ishiwata. THERMAL ACTIVATION OF CARDIAC THIN FILAMENTS INDUCES CONTRACTION WITHOUT INTRACELLULAR Ca^{2+} CHANGES: STUDIES WITH CARDIOMYOCYTES AND AN *IN VITRO* MOTILITY ASSAY. 米国生物物理学会、San Francisco、2014 年 2 月。

13) Seiichi Tsukamoto, Kotaro Oyama, Seine A. Shintani, Norio Fukuda, Shin'ichi Ishiwata. SIMULTANEOUS IMAGING OF LOCAL CALCIUM AND SINGLE SARCOMERE LENGTH IN RAT NEONATAL CARDIOMYOCYTES VIA EXPRESSION OF CAMELEON-NANO IN Z-DISCS. 米国生物物理学会、San Francisco、2014 年 2 月。

14) Seine A. Shintani, Kotaro Oyama, Takashi Ohki, Shin'ichi Ishiwata, Norio Fukuda. SARCOMERE LENGTH NANOMETRY IN CARDIOMYOCYTES EXPRESSED WITH α -ACTININ-ACGFP IN Z-DISCS. 米国生物物理学会、San Francisco、2014 年 2 月。

15) Fuyu Kobirumaki-Shimozawa, Kotaro Oyama, Akari Mizuno, Takako Terui, Togo Shimozawa, Takashi Ohki, Shin'ichi Ishiwata, Norio Fukuda. REAL-TIME IMAGING OF SARCOMERE DYNAMICS IN THE MOUSE HEART *IN VIVO*. 米国生物物理学会、San Francisco、2014 年 2 月。

16) Norio Fukuda. Real-time imaging of single sarcomeres in the mouse heart *in vivo*. International Symposium on Nanomedicine Molecular Science. 名古屋大学、2014 年 1 月。

17) 福田紀男. *In vivo* ナノイメージングによる心筋収縮機構の解析. 日本バイオマテリアル学会(招待講演) 東京都・タワーホール船堀. 2013 年 11 月。

18) 福田紀男. Real-time imaging of single sarcomeres in the mouse heart *in vivo*. ナノメディシン分子科学国際シンポジウム、東京大学、2013 年 10 月。

19) Seine A. Shintani, Kotaro Oyama, Shin'ichi Ishiwata, Norio Fukuda. High-resolution analysis of sarcomeric auto-oscillations in rat neonatal cardiomyocytes. 日本生物物理学会、国立京都国際会館、2013 年 10 月。

20) Seiichi Tsukamoto, Kotaro Oyama, Seine Shintani, Fuyu Kobirumaki, Shin'ichi Ishiwata, Norio Fukuda. Simultaneous imaging of intracellular Ca^{2+} and sarcomere length in neonatal cardiomyocytes via expression of cameleon-Nano in Z-discs. 日本生物物理学会、国立京都国際会館、2013 年 10 月。

21) Fuyu Kobirumaki-Shimozawa, Kotaro Oyama, Seine A. Shintani, Erisa Hirokawa, Togo Shimozawa, Takako Terui, Shin'ichi Ishiwata, Norio Fukuda. Real-time high-resolution cardiac imaging in vivo. 日本生物物理学会、国立京都国際会館、2013 年 10 月。

22) 小比類巻 生、大山廣太郎、照井貴子、水野紅理、影本達也、下澤東吾、石渡信一、福田紀男. 生きたマウスの心臓における単一サルコメア長解析. ナノ学会、東京工業大学、2013 年 6 月。

23) 新谷正嶺、大山廣太郎、大木高志、石渡信一、福田紀男. nm 精度のサルコメア収縮動態イメージングによる新規実験系の構築. ナノ学会、東京工業大学、2013年6月.

24) 福田紀男. 高精度分子イメージングを用いた *in vivo* 心収縮メカニズムの解析 第21回 JSPPPEC ミーティング(招待講演) 東京慈恵会医科大学、2013年5月.

25) 福田紀男. 心筋の収縮機構に関する最近の知見について-ナノとマクロの融合- 心筋会(招待講演) 慶應義塾大学、2012年7月.

26) 福田紀男. Nano-imaging of sarcomeres in the heart in vivo –Basis for Cardiac Nanophysiology and Nanomedicine- 台湾-日本ナノメディシン研究会、台北、2013年1月.

27) Akari Mizuno, Fuyu Kobirumaki-Shimozawa, Kotaro Oyama, Takako Terui, Erisa Hirokawa, Togo Shimozawa, Shin'ichi Ishiwata, Norio Fukuda. Real-time measurement of sarcomere length in the mouse heart in vivo by using α -actinin-GFP. 日本生物物理学会、名古屋大学、2012年9月.

28) Tatsuya Kagemoto, Mitsunori Yamane, Cristobal G. Dos Remedios, Norio Fukuda, Shin'ichi Ishiwata. The effects of disease and aging on human myocardial SPOC. 日本生物物理学会、2012年9月、名古屋大学.

29) Kotaro Oyama, Akari Mizuno, Seine Shintani, Hideki Itoh, Takahiro Serizawa, Norio Fukuda, Madoka Suzuki, Shin'ichi Ishiwata. Ca^{2+} -independent on-off regulation of a cardiomyocyte by microscopic heat pulses. 日本生物物理学会、名古屋大学、2012年9月.

30) Seine Shintani, Kotaro Oyama, Norio Fukuda, Shin'ichi Ishiwata. Auto-oscillation (SPOC) properties of sarcomeres in rat neonatal cardiomyocytes. 日本生物物理学会、名古屋大学、2012年9月.

31) 照井貴子、小比類巻生、水野紅理、影本達也、石渡信一、栗原 敏、福田紀男. 心筋サルコメアイメージングの試み. 日本生理学会、信州大学、2012年3月.

32) 新谷正嶺、山根光智、大山廣太郎、栗原 敏、石渡信一、福田紀男. 幼若ラット心筋細胞におけるサルコメア自励振動(SPOC)特性と電気刺激応答拍動位の関係性. 日本生理学会、信州大学、2012年3月.

33) 大山廣太郎、水野紅里、新谷正嶺、伊藤秀樹、芹澤隆博、福田紀男、鈴木 団、石渡信一. 局所熱パルスはカルシウム濃度上昇を伴わずに心筋細胞の収縮を誘発する. 日本生理学会、信州大学、2012年3月.

34) 井上天宏、草刈洋一郎、本郷賢一、森本幸生、大槻磐男、栗原 敏、福田紀男. スキンド標本を用いた拡張型心筋症マウスにおける筋長効果減弱のメカニズム. 日本生理学会、信州大学、2012年3月.

35) Shintani S, Yamane M, Oyama K, Kurihara S, Ishiwata S, Fukuda N. Analyses of sarcomeric self-oscillatory properties of rat neonatal cardiomyocytes. 米国生物物理学会、San Diego、2012年2月.

〔図書〕(計2件)

1) 石渡信一、島本勇太、福田紀男. 第12章 「横紋筋のメカノバイオフィジックス: マクロからマイクロへ」 曾我部先生編 『メカノバイオロジー』東京: 化学同人. 2015 (発行予定).

2) 福田紀男. 第 編 心血管系 17: 心臓の興奮 18: 心臓力学 鯉淵典之/栗原 敏監訳. リッピンコットシリーズ イラストレイテッド生理学. 東京: 丸善出版, 2014. P227-54.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福田紀男 (FUKUDA NORIO)

東京慈恵会医科大学・医学部・准教授

研究者番号: 30301534

(2) 研究分担者

照井貴子 (TAKAKO TERUI)

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号: 10366247

小比類巻生 (FUYU

KOBIRUMAKI-SHIMOZAWA)

東京慈恵会医科大学・医学部・助教

研究者番号: 40548905

大山廣太郎 (KOTARO OYAMA)

東京慈恵会医科大学・医学部・特別研究員

研究者番号: 70632131