

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：34315

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15017

研究課題名(和文) 運動誘発性徐脈の原因分子の探索：心臓ペースメーカー組織における酸化ストレスの影響

研究課題名(英文) Investigation of key molecules for exercise-induced bradycardia: involvement of oxidative stress in functional regulation of the cardiac pacemaker

研究代表者

中尾 周 (NAKAO, Shu)

立命館大学・生命科学部・助教

研究者番号：30646956

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：アスリートに好発する徐脈(心拍低下)の分子機構として、有酸素運動で過剰になる酸化ストレスが関与するのではないかと予想し、安静時心拍数の低下を示す運動モデルマウスを使って心臓ペースメーカー組織・洞房結節においてすべての遺伝子の発現量を調べた結果、心拍制御関連遺伝子群に影響があった一方で、酸化ストレス関連遺伝子群の変動は顕著でなかった。なお、抗酸化薬投与による運動誘発性徐脈の改善効果は部分的であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

有酸素運動によって過剰に増加する酸化ストレスが運動誘発性不整脈に関与していることを示唆する傍証は得られていないが、遺伝子発現の網羅的解析によって予想外の遺伝子群の変動が認められた。今後、従来より関連付けられている「運動と酸化ストレス」だけでなく、本研究から得られた新たな視点からメカニズム解明を目指すことで、不整脈全般に関わる新規病態因子の発見につながっていくことを期待する。

研究成果の概要(英文)：We have investigated the underlying mechanisms of exercise-induced bradyarrhythmias using exercise mouse model, but signaling molecules involved in these arrhythmias remain unknown. In this study, we hypothesized whether exercise-induced oxidative stress causes pacemaker dysfunction. Transcriptome analysis from sedentary and trained mouse sinoatrial node, primary pacemaking site, revealed over 4,000 genes were downregulated by exercise, and cardiac pacemaking genes were also affected, whereas the expression pattern of genes related to oxidative stress were not significantly changed. Moreover, anti-oxidant agent resveratrol treatment slightly improved exercise-induced slowed heart rate.

研究分野：心臓生理学

キーワード：心臓 不整脈 心臓刺激伝導系 分子生物学 生理学 酸化ストレス 運動 代謝

1. 研究開始当初の背景

心不全は先進諸国で死因の上位を占め、患者の一定数は著しい心拍数の低下(洞性徐脈)や房室ブロックなどの徐脈性不整脈を伴って死の転帰をとる。心不全に合併した徐脈の原因として酸化ストレス増大を介したカルシウムシグナル異常が唯一報告されている。一方、マラソンなど持久スポーツのアスリートには徐脈性不整脈の発生率が高く、機械式ペースメーカ移植を受けると割合が高いが、運動誘発性徐脈の原因となるシグナル伝達系はこれまで全く分かっていない。

高強度の有酸素運動は、特に骨格筋において酸化ストレスに起因する組織損傷を引き起こし、これには増加した炎症性サイトカインが関与することが知られている。心筋では、酸化ストレスとの関係性は分かっていないが、長期間の持久運動によって左心室の肥大や心拍出の増加といった適応反応が起こり、いわゆる‘スポーツ心臓’となるが、構造的リモデリングが病的に進行し、その結果ポンプ機能不全や不整脈が発生することもある(Eur Heart J 2012)。私たちは、これまでに運動誘発性徐脈の原因として転写因子ならびにマイクロRNAの発現変動とそれに連動したペースメーカチャンネル HCN4 の発現量および機能の低下を明らかにしてきた(Nat Commun 2014, Circ Res 2017)。しかし、運動によってどのような細胞外シグナルが活性化/抑制されるのか、またどのような細胞内シグナル伝達系が不整脈発生に実際に関与しているのか、つまり徐脈を引き起こされる過程については依然不明である。

2. 研究の目的

本研究では、心拍動の指令塔とも言える心臓ペースメーカ組織を対象として、運動モデルマウスを用いた電気生理解析および網羅的な遺伝子発現解析を実施し、運動誘発性徐脈の原因となる分子およびシグナル伝達系の特定を目的とした。特に、過度の有酸素運動による骨格筋および心筋組織の機能低下の原因として知られる酸化ストレスが、心臓ペースメーカ組織においてもミトコンドリア機能および動態に影響を与えるのか否か、それがペースメーカ機能の低下に係しているのかに着目した。

3. 研究の方法

まず、運動誘発性徐脈の発生にどのような細胞内シグナル伝達系が関与しているのかを見出すために、運動モデルマウスを確立した。次に、運動モデルマウスの心臓から部位特異的に採取したペースメーカ組織における遺伝子発現パターンの運動による変化を次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子発現解析によって検証した。

また、持久運動によって心臓ペースメーカ組織における酸化ストレスの亢進やミトコンドリア機能の低下が生じているかどうかを調べるために、酸化ストレス/ミトコンドリア機能の関連遺伝子群の発現量解析および組織切片の蛍光免疫染色による酸化ストレスの半定量評価を実施した。また、運動による心拍数の低下が抗酸化薬レスベラトロールによって改善するか否かを検証した。

4. 研究成果

水泳運動によって徐脈モデルマウスを作製し、心臓ペースメーカ組織・洞房結節における遺伝子発現パターンの運動による変化を網羅的に調べた。その結果、安静群のマウス洞房結節には約19,000遺伝子が発現しており、そのうち約650遺伝子が運動によって2倍以上に増加、約4,300

遺伝子が 1/2 以下に減少していた。イオンチャネルや自律神経調節因子など心拍生成および制御にかかわる遺伝子群に発現変動が認められた。しかし予想に反して、酸化ストレスやミトコンドリア機能・動態に関連する遺伝子群の変動は顕著ではなく、抗酸化薬投与群マウスにおける運動誘発性徐脈の改善効果は部分的であった。また、心臓組織切片での酸化ストレス量の評価は容易ではなく、心臓組織内の酸化ストレスの定量解析法の確立が課題に挙げられた。一方、興味深いことに物質代謝に関わる多くの遺伝子群の発現変動が認められ、代謝様式の変化が病態に関わっている可能性が推察された。

本研究では、不整脈発生前に直接関与する分子の特定には至っていないが、網羅的解析を実施することで、これまで心臓電気生理学で注目されていなかった分子群の心拍数制御への役割という新たな視点を得ることができた。今後こうした意外な切り口から不整脈病態の分子メカニズムの解明を目指す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Tsukamoto T, Sogo T, Ueyama T, Nakao S, Harada Y, Ihara D, Akagi Y, Kida YS, Hasegawa K, Nagamune T, Kawahara M, Kawamura T.	4. 巻 -
2. 論文標題 Chimeric G-CSF receptor-mediated STAT3 activation contributes to efficient induction of cardiomyocytes from mouse induced pluripotent stem cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biotechnol J	6. 最初と最後の頁 e1900052
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/biot.201900052	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 該当する

1. 著者名 Nakao S, Ihara D, Hasegawa K, Kawamura T	4. 巻 15
2. 論文標題 Applications of induced pluripotent stem cells in disease modelling and drug development for heart diseases.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Eur Cardiol Rev	6. 最初と最後の頁 e02
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.15420/ecr.2019.03	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 該当する

1. 著者名 中尾周、宮崎聖也、水口幹公、柳澤和輝、川村晃久	4. 巻 53
2. 論文標題 洞房結節におけるインパルス生成の分子基盤と臨床	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 動物の循環器	6. 最初と最後の頁 53-63
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Yanni J, D'Souza A, Wang Y, Li N, Hansen BJ, Zakharkin SO, Smith M, Hayward C, Whitson BA, Mohler PJ, Janssen PML, Zeef L, Choudhury M, Zi M, Cai X, Logantha SJRJ, Nakao S, Atkinson A, Petkova M, Doris U, Ariyaratnam J, Cartwright EJ, Griffiths-Jones S, Hart G, Fedrov VV, Oceandy D, Dobrzynski H, Boyett MR	4. 巻 10
2. 論文標題 Silencing miR-370-3p rescues funny current and sinus node function in heart failure	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 11279
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-67790-0	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 該当する

1. 著者名 佐々木崇文、中尾周、木村勇介、平川篤、町田登	4. 巻 73
2. 論文標題 猫の第3度房室ブロック症例にみられた房室伝導系病変	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本獣医師会雑誌	6. 最初と最後の頁 315-320
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.12935/jvma.73.315	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 Nakao S, Tsukamoto T, Ueyama T, Kawamura T	4. 巻 21
2. 論文標題 STAT3 for cardiac regenerative medicine: involvement in stem cell biology, pathophysiology, and bioengineering	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 1937
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21061937	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 該当する

1. 著者名 中尾 周、川村晃久	4. 巻 35
2. 論文標題 運動誘発性不整脈のメカニズム	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BioClinica	6. 最初と最後の頁 753-757
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計20件(うち招待講演 3件/うち国際学会 12件)

1. 発表者名 Stuart L, Oh IY, Wang Y, Nakao S, Starborg T, Yanni-Gerges J, Kitmitto A, Dobrzynski H, Cartwright EJ, Oceandy D, Boyett MR
2. 発表標題 P3826 Gene therapy for cardiac conduction system dysfunction in heart failure.
3. 学会等名 ESC Congress 2019 (World Congress of Cardiology) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮崎聖也、呉自飛、水口幹公、吉澤琢雄、徳永千尋、井原大、原田恭弘、長谷川浩二、植山萌恵、十河孝浩、中尾周、川村晃久
2. 発表標題 心臓刺激伝導系および右心房筋における持久運動による遺伝子発現パターンの変化
3. 学会等名 第4回J-ISCN年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Harada Y, Nakao S, Ihara D, Ueyama T, Hasegawa K, Kawamura T
2. 発表標題 Disease-specific induced-pluripotent stem cells in pathophysiological analysis and drug development for heart diseases
3. 学会等名 16th CVCT Forum (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nakao S
2. 発表標題 Analysis of exercise-induced bradyarrhythmias: from pathogenesis to regeneration of cardiac pacemaker cells.
3. 学会等名 Cutting-Edge Biological Science and Technology Encounter 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中尾 周
2. 発表標題 シンポジウム「心臓刺激伝導系の基礎と病的変化」：心臓ポンプ運動を司る心臓刺激伝導系の役割：インパルス生成・伝播の分子基盤
3. 学会等名 第111回日本獣医循環器学会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nakao S, Oh I-Y, Stuart L, Sitpura H, Yanni J, Logantha SJSR, Cai X, Dobrzynski H, Starborg T, Kitmitto A, Boyett MR
2. 発表標題 3D ultrastructure of the "arrhythmogenic" Purkinje fiber-ventricular junction in rabbit hearts
3. 学会等名 23rd International Society of Cardiovascular Pharmacotherapy (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tenghattakorn A, Akama T, Yamasaki M, Harada Y, Ihara D, Ueyama T, Sogo T, Nakao S, Kawamura T
2. 発表標題 Transcription-independent functions of local p53: a possible target to improve cardiac cell therapy
3. 学会等名 23rd International Society of Cardiovascular Pharmacotherapy (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ueyama T, Ihara D, Harada Y, Akagi Y, Arima D, Nakagawa S, Sogo T, Nakao S, Kawamura T
2. 発表標題 miR17-92 cluster promotes efficiency of direct reprogramming to induced cardiomyocytes
3. 学会等名 23rd International Society of Cardiovascular Pharmacotherapy (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 D' Souza A, Trussell T, Nakao S, Mesirca P, Zi M, Logantha SJRJ, Li J, Wang Y, Jespersen T, Bulh R, Cartwright EJ, Mangoni ME, Boyett MR, Dobrzynski H
2. 発表標題 Why do athletes have heart block?
3. 学会等名 Europ physiology 2019 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 赤木 祐香、原田 恭弘、植山 萌恵、井原 大、中川 沙恵、山崎 基春、有馬 大貴、石田 智明、徳永 千尋、十河 孝浩、中尾 周、川村 晃久
2. 発表標題 ダイレクトリプログラミング過程における好気性代謝と細胞老化の役割
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakao S, D' Souza A, Mesirca P, Trussell T, Zi M, Logantha SJRJ, Cartwright E, Mangoni ME, Dobrzynski H, Boyett MR
2. 発表標題 Pacemaking ion channel remodelling underlies chronic exercise-induced atrioventricular block
3. 学会等名 9th FAOPS Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Miyazaki S, Mizuguchi M, Ishida T, Ueyama T, Sogo T, Nakao S, Kawamura T
2. 発表標題 Gene expression profiling of the sinoatrial node in mice: the effect of endurance exercise.
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 Miyazaki S, Mizuguchi M, Ishida T, Hasegawa K, Nakao S, Kawamura T
2. 発表標題 Transcriptome analysis of the sinoatrial node in mice with exercise-induced bradycardia
3. 学会等名 第84回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nakao S
2. 発表標題 Cardiac adaptation to exercise: adverse effects of excessive physical training and its molecular basis
3. 学会等名 ISCMF 2021 Virtual Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 中尾 周、川村晃久 (鈴木淳史監修)	4. 発行年 2020年
2. 出版社 NTS出版	5. 総ページ数 270
3. 書名 ダイレクトリプログラミング・再生医療の新展開 (第5章ダイレクトリプログラミングによる心臓ベース メーカ細胞の作製)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

立命館大学 研究者学術情報データベース http://research-db.ritsumei.ac.jp/Profiles/134/0013394/profile.html ORCID https://orcid.org/0000-0001-8990-1179 KAKEN 科学研究費助成事業データベース https://nrid.nii.ac.jp/ja/nrid/1000030646956/
--

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
連携 研究者	川村 晃久 (Kawamura Teruhisa) (90393199)	立命館大学・生命科学部・教授 (34315)	

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			
英国	University of Manchester			
デンマーク	University of Copenhagen			
フランス	Universite de Montpellier			