

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03400

研究課題名(和文)代謝イメージングによる心筋細胞における代謝-興奮-収縮連関の分子機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of metabolism-excitation-contraction coupling in cardiomyocytes through metabolic imaging

研究代表者

松岡 達 (Matsuoka, Satoshi)

福井大学・学術研究院医学系部門・教授

研究者番号：00263096

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：ミトコンドリア Na^+ - Ca^{2+} 交換電流の測定に世界で初めて成功し、ミトコンドリア Na^+ - Ca^{2+} 交換が起電性で膜電位依存性であることを明らかにした。マウス洞房結節細胞において、ミトコンドリアから Na^+ - Ca^{2+} 交換を介して排出された Ca^{2+} の一部は、筋小胞体に取り込まれ筋小胞体から放出されることで、細胞膜の膜電位発生を修飾し自動能に影響を与えることを明らかにした。ミトコンドリアを介する H^+ のフラックス及び細胞内pH調節系を組み込んだ新しい心筋細胞代謝-興奮-収縮連関数理モデルを開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ミトコンドリア Na^+ - Ca^{2+} 交換に起因する膜電流測定に成功した。これは、ミトコンドリア Na^+ - Ca^{2+} 交換の起電性と膜電位依存性についての長年の議論に終止符を打つ発見である。また、心臓のペースメーカー部位である洞房結節の自動能は、古くは細胞膜の電気現象として説明されていたが、細胞内のミトコンドリアも自動能発生に関わることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We succeeded in recording membrane current generated by mitochondrial Na^+ - Ca^{2+} exchange for the first time, and demonstrated that mitochondrial Na^+ - Ca^{2+} exchange is electrogenic and voltage-dependent. We demonstrated that a part of Ca^{2+} transported by mitochondrial Na^+ - Ca^{2+} exchange to the outside of mitochondria enters sarcoplasmic reticulum, then affects Ca^{2+} release from sarcoplasmic reticulum and frequency of the action potential generation of sinoatrial node cells (automaticity). We developed a new mathematical model of cardiomyocyte including H^+ flux across mitochondria and intracellular pH regulation.

研究分野：生理学

キーワード：ミトコンドリア 代謝 心臓 興奮収縮連関 数理モデル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我々は心室筋細胞や洞房結節細胞の機能が、ピルビン酸などの代謝基質によって変動することを見出し、代謝、特にミトコンドリア代謝が心筋細胞機能制御に関与するとの仮説を得た。

2. 研究の目的

代謝関連パラメータの単一心筋細胞イメージングと心筋細胞機能との同時測定等の生理学的解析と、得られた実験データに基づく包括的心筋細胞数理モデルの構築・解析を行い、細胞代謝が心筋細胞の代謝 - 興奮 - 収縮連関を制御するメカニズムを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

- (1) マウス心臓から単離した心室筋細胞または洞房結節細胞を用いて、細胞質 Ca^{2+} 、ミトコンドリア膜電位等の蛍光イメージングと、電気生理学的測定・解析を行う。
- (2) 実験データを基盤に、心筋細胞におけるミトコンドリア代謝と興奮収縮連関を統合した新しい心筋細胞代謝 興奮 収縮連関数理モデルを開発し、解析を行う。

4. 研究成果

(1) ミトコンドリアパッチによるトランスポータ電流測定法の開発(図1): ミトコンドリア代謝

はマトリックス内 Ca^{2+} に依存する。しかし、マトリックス Ca^{2+} の制御機構、特にミトコンドリア Na^+ - Ca^{2+} 交換による Ca^{2+} 排出のメカニズムについての詳細は明らかでない。この問題を解決するために、ミトコンドリアパッチクランプ法を確立し、マウス心筋ミトコンドリア Na^+ - Ca^{2+} 交換電流の測定に成功した。そして、ミトコンドリア Na^+ - Ca^{2+} 交換が膜電位依存性であることを世界で初めて明らかにした。また、ミトコンドリア Na^+ - Ca^{2+} 交換輸送体の細胞質 Na^+ 濃度依存性が明らかになり、数理モデル構築上重要なパラメータが得られた。

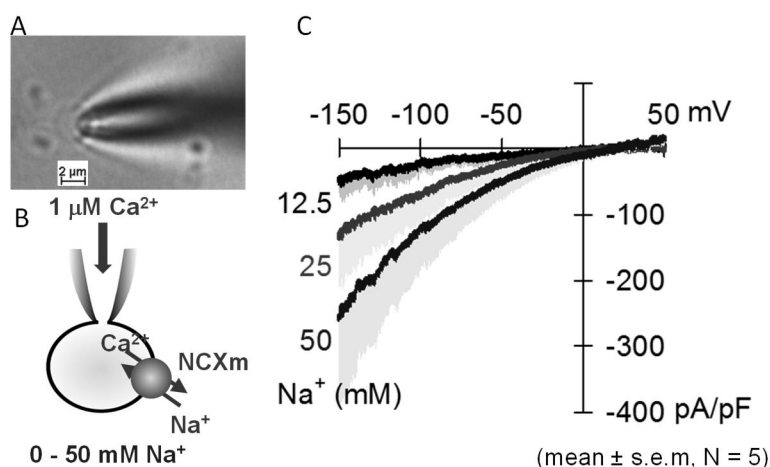


図1. ミトコンドリアNa-Ca交換電流の測定 A. ミトプラストとパッチ電極. B. パッチクランプ模式図. C. ミトコンドリア外 Na^+ で誘発されるNa-Ca交換輸送電流

逆交換 (ミトコンドリア Na^+ と細胞質 Ca^{2+} の交換) による Na^+ - Ca^{2+} 交換電流測定は困難であった。これは、心筋ミトコンドリア Na^+ - Ca^{2+} 交換輸送体に、逆交換を抑制する未知の機構が存在することを示唆する。

本研究は Journal of Physiological Sciences に論文発表され、第 11 回入澤宏・彩記念 JPS 心臓・循環論文賞 (入澤記念循環賞) を受賞した。

(2) 洞房結節自動能とミトコンドリア機能 (図2): 洞房結節機能 (特に自動能) と、ミトコンドリア機能との関連を明らかにする目的で、洞房結節細胞のミトコンドリアの位置、ミトコンドリア膜電位、そして細胞質 Ca^{2+} 変化の関連を Ca^{2+} イメージングにより解析した。マウス洞房結節細胞では、筋小胞体からの局所的な Ca^{2+} 放出 (local Ca^{2+} release, LCR) は、心周期の初期 (収縮期近く) においては、ミトコンドリア近傍から多く発生した。ミトコンドリア Na^+ - Ca^{2+} 交換阻害剤 CGP-37157 は、初期 LCR の発生を抑制した。また、LCR が発生する近傍のミトコンドリアは膜電位が深いことが、ミトコンドリア膜電位測定から明らかになった。さらに、ミトコンドリア Na^+ - Ca^{2+} 交換抑制は洞房結節細胞の Ca^{2+} トランジエント発生頻度 (自動能) を減少

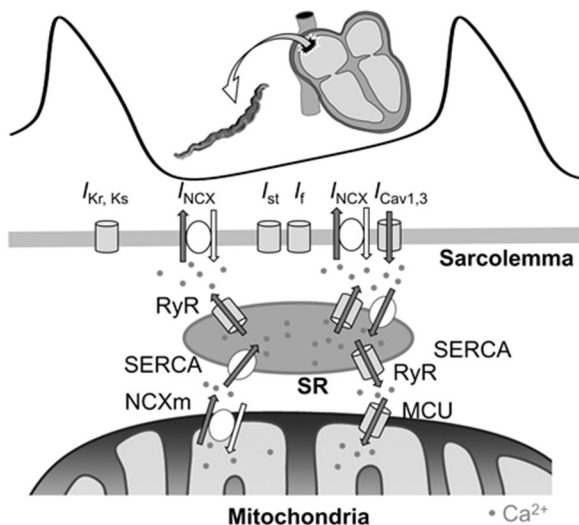


図2. LCRと活動電位発生に対するミトコンドリアによる修飾機構の模式図

させた。カフェイン投与で誘発される筋小胞体からの Ca^{2+} 放出を指標にして、筋小胞体 Ca^{2+} 含量を測定したところ、CGP-37157 によるミトコンドリア Na^+ - Ca^{2+} 交換抑制は筋小胞体 Ca^{2+} 含量を減少させることが明らかになった。CGP-37157 により、ミトコンドリア Na^+ - Ca^{2+} 交換が抑制され、その結果筋小胞体による Ca^{2+} 取り込みが減少することで LCR 発生が減少し、自動能の抑制に繋がったと考えられる(図2)。これらの研究成果は、Journal of Molecular and Cellular Cardiology に発表され、Editor's Choice に選出された。

(3)数理モデル(HL-1, 心筋細胞): ミトコンドリア代謝数理モデルと包括的心室筋細胞モデルを統合した心室筋細胞代謝 興奮 収縮連関数理モデルを発展させて、代謝に関連する H^+ 産生と消費、及び細胞内 pH 調節系を組み込んだ新しい心筋細胞代謝 興奮 収縮連関数理モデルを開発した。心筋虚血のシミュレーションにおいては、低酸素が引き金となって、細胞内アシドーシスと ATP 産生の低下が起こり、活動電位波形の変化、細胞質 Ca^{2+} トランジエントの変化及び細胞収縮抑制がおこる一連の過程がよく再現された。また、虚血後の再灌流シミュレーションにおいては、活動電位と収縮異常もよく再現された。虚血後の再灌流障害を抑制するには、虚血により誘発される細胞内 Na^+ 蓄積の抑制または再灌流時に細胞内 Na^+ 排出の活性化が有効であることがシミュレーションから示唆された。この成果は学会発表を行った。

また、これまでの心筋細胞のミトコンドリアエネルギー代謝に関する数理モデル解析をまとめた総説を The Journal of Physiology に発表した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Takeda Yukari, Matsuoka Satoshi	4. 巻 164
2. 論文標題 Impact of mitochondria on local calcium release in murine sinoatrial nodal cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Molecular and Cellular Cardiology	6. 最初と最後の頁 42 ~ 50
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.yjmcc.2021.11.006	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 Takeuchi Ayako, Matsuoka Satoshi	4. 巻 11
2. 論文標題 Physiological and Pathophysiological Roles of Mitochondrial Na ⁺ -Ca ²⁺ Exchanger, NCLX, in Hearts	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 1876 ~ 1876
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom11121876	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 Takeuchi Ayako, Matsuoka Satoshi	4. 巻 96
2. 論文標題 Minor contribution of NCX to Na ⁺ -Ca ²⁺ exchange activity in brain mitochondria	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Calcium	6. 最初と最後の頁 102386 ~ 102386
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ceca.2021.102386	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 Islam Mohammed M., Takeuchi Ayako, Matsuoka Satoshi	4. 巻 70
2. 論文標題 Membrane current evoked by mitochondrial Na ⁺ -Ca ²⁺ exchange in mouse heart	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physiological Sciences	6. 最初と最後の頁 24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12576-020-00752-3	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 Takeuchi Ayako, Matsuoka Satoshi	4. 巻 598
2. 論文標題 Integration of mitochondrial energetics in heart with mathematical modelling	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physiology	6. 最初と最後の頁 1443 ~ 1457
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1113/JP276817	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 Takeuchi Ayako, Kim Bongju, Matsuoka Satoshi	4. 巻 85
2. 論文標題 Physiological functions of mitochondrial Na ⁺ -Ca ²⁺ exchanger, NCLX, in lymphocytes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Calcium	6. 最初と最後の頁 102114
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ceca.2019.102114	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16件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Ayako Takeuchi, Satoshi Matsuoka
2. 発表標題 Contributions of NCLX and NCX to mitochondrial Na ⁺ -Ca ²⁺ exchange in mouse brain
3. 学会等名 第98回日本生理学会大会・第126回日本解剖学会総会・全国学術集会 合同大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Satoshi Matsuoka, Mohammed Moinul Islam, Ayako Takeuchi
2. 発表標題 Membrane current evoked by mitochondrial Na ⁺ -Ca ²⁺ exchange in mouse heart
3. 学会等名 第98回日本生理学会大会・第126回日本解剖学会総会・全国学術集会 合同大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yukari Takeda, Satoshi Matsuoka
2. 発表標題 Impact of mitochondria on local calcium release in murine sinoatrial nodal cells
3. 学会等名 第98回日本生理学会大会・第126回日本解剖学会総会・全国学術集会 合同大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yukari Takeda, Satoshi Matsuoka
2. 発表標題 Spatial and functional associations of mitochondria and local calcium release in murine sinoatrial nodal cells
3. 学会等名 NIPS International Workshop 2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹田有加里、松岡達
2. 発表標題 マウス洞房結節細胞におけるlocal Ca ²⁺ release とミトコンドリアの関係
3. 学会等名 第67回 中部日本生理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Satoshi Matsuoka, Mohammed M. Islam, Yukari Takeda, Ayako Takeuchi
2. 発表標題 Property and roles of mitochondrial Na ⁺ -Ca ²⁺ exchange in heart
3. 学会等名 50th NIPS international symposium 「MIRACLES」 In Cardiovascular Physiology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yukari Takeda, Satoshi Matsuoka
2. 発表標題 Mitochondria are involved in automaticity of murine sinoatrial nodal cells
3. 学会等名 50th NIPS international symposium 「MIRACLES」 In Cardiovascular Physiology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mohammed Moinul Islam、竹内綾子、松岡達
2. 発表標題 Electrogenicity of mitochondrial Na ⁺ -Ca ²⁺ exchange in mouse heart
3. 学会等名 第66回中部日本生理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹内綾子、松岡達
2. 発表標題 脳ミトコンドリアからのCa ²⁺ 排出におけるNCLXおよびNCXの寄与
3. 学会等名 第66回中部日本生理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹内綾子、松岡達
2. 発表標題 脳ミトコンドリアからのCa ²⁺ 排出メカニズム
3. 学会等名 第4回イオンチャネル研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ayako Takeuchi, Mohammed Moinul Islam, Satoshi Matsuoka
2. 発表標題 Characteristics of Ca ²⁺ efflux from mitochondria
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 Yukari Takeda & Satoshi Matsuoka
2. 発表標題 Mitochondrial contribution to automaticity of murine sinoatrial nodal cells
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 Mohammed Moinul Islam, Ayako Takeuchi, Satoshi Matsuoka
2. 発表標題 Electrophysiological measurement of mitochondrial Na ⁺ -Ca ²⁺ exchange in mouse heart
3. 学会等名 64th Biophysical meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Satoshi Matsuoka, Takao Shimayoshi and Ayako Takeuchi
2. 発表標題 A simulation analysis of Na ⁺ and Ca ²⁺ dynamics in cardiomyocyte during ischemia and reperfusion
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 Satoshi Matsuoka, Takao Shimayoshi and Ayako Takeuchi
2. 発表標題 A simulation study of cardiac ischemia and reperfusion
3. 学会等名 Cardiac Physiome Workshop (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松岡達, 嶋吉隆夫, 竹内綾子
2. 発表標題 心筋虚血・再灌流の数理モデル解析
3. 学会等名 第68回 中部日本生理学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

Integrative and Systems Physiology http://isphysio.med.u-fukui.ac.jp/ 統合生理学 (生理学2) https://www.med.u-fukui.ac.jp/laboratory/integrative/ Department of Integrative and Systems Physiology http://isphysio.med.u-fukui.ac.jp/index.html

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	竹内 綾子 (Takeuchi Ayako) (00378704)	福井大学・学術研究院医学系部門・准教授 (13401)	

6. 研究組織（つづき）

	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	竹田 有加里 (Takeda Yukari) (20582159)	福井大学・学術研究院医学系部門・助教 (13401)	

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