

機関番号：24601

研究種目：若手研究 B

研究期間：2009 年度～2010 年度

課題番号：21791330

研究課題名（和文）生体位駆出心における心筋クロスブリッジ動態解析-放射光 X 線分析法による心不全評価

研究課題名（英文）In situ analysis of crossbridge dynamics in failing heart model of rat using X-ray technique

研究代表者

田村 大和 (TAMURA YAMATO)

奈良県立医科大学 医学部 研究員

研究者番号：21791330

研究成果の概要（和文）：本研究は SPring-8 を用いて分子ナノオーダーのダイナミクスを観察することにより心不全を診断する方法の開発を目的とした。特に心筋の収縮タンパクに注目し、複雑な形態と多重の代償機構を保持した標本（生体位駆出心）ならびにその破綻を来した心不全モデル標本を用いてアクチン・ミオシンの相互作用（クロスブリッジ動態）とミオシン線維格子間隔の変化を解析した。

本研究では、イソプロテレンールによる肥大心モデル（ラット）での計測を主に行った。肥大心の収縮期および拡張期におけるクロスブリッジ動態を解析し、不全心の評価を行った。

研究成果の概要（英文）：This study was aimed for the development of the method to give heart failure a diagnosis by observing dynamics of the molecule nano-order using SPring-8. We paid attention to particularly myocardial contractile protein and analyzed actin-myosin interaction and lattice spacing between myosin filaments used the rats which maintained complicated form and a multiplex compensation mechanism and the heart failure model. We performed the measurement of the hypertrophic heart model by isoproterenol, analyzed crossbridge dynamics in the diastolic phase and the contraction phase and of the hypertrophic heart and evaluated the failing heart.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：胸部外科学

キーワード：化学物理、加速器

## 1. 研究開始当初の背景

分子生物学の発展に伴い、重症心不全の病態解明、およびそれに基づく治療の進歩は目覚ましいものがある。分子レベルでの心筋障害の発症、進行過程の研究が進められ、様々な

心不全治療の有効性も報告されている。重症心不全の治療において、病態解明とそれらの治療がいかに関与を及ぼすか、またいかに生理的に有効であるかを評価することは、今後の心不全治療において重要であ

ると考える。

そこで、重症心不全の病態生理および、その治療がどのように心筋細胞に影響を及ぼすかを摘出した細胞ではなく、生体位での評価することに関心を抱いた。

SPring-8の15keVという高エネルギー、高光子量のX線により、生体位拍動心における心筋細胞レベルでのクロスブリッジ動態を時々刻々に解析できることから、不全心の病態、治療効果も評価することが可能かと考えた。

## 2. 研究の目的

本研究は重症心不全の治療が心筋レベルへ及ぼす影響を大型放射光 X 線回析法 (SPring-8) によって評価することを目的とした。SPring-8の15keVという高エネルギー、高光子量のX線により、生体位駆出心における心筋細胞レベルでのクロスブリッジ動態を病態ごとに明らかにすることができ、治療による変化を評価できる。このため、不全心に対するナノレベルでの診断および治療効果の評価を目的とした。

心臓は生命活動を維持するために必要不可欠の器官として生体の末梢からの要求に答えてダイナミックにその機能特性を変えていくことが知られている。長期間にわたる適応として形態の変化(リモデリング)があり、細胞内の多岐にわたる機能タンパク分子発現の量的、質的变化を伴い、ポンプとしての心機能自体を障害する。このタンパクの発現異常は心筋細胞の興奮収縮連関に関する機能タンパクでも観察され、Ca<sup>2+</sup>ハンドリングタンパクと収縮タンパクともに発現量の低下や形質の変化を来す。本研究では特に収縮タンパクに注目し、複雑な形態と多重の代償機構を保持した標本(生体位駆出心)ならびにその破綻を来した不全心モデル標本を用いて、アクチン・ミオシンの相互作用(クロスブリッジ動態)とミオシン格子間隔の変化を心臓全体のマクロスコピックな心機能データと統合的に解析し、その機能情報から心臓の合目的性と心不全の病態のナノ診断を試み、治療戦略を探求する。

## 3. 研究の方法

本研究は兵庫県播磨にある SPring-8 で行った。

より生理的な条件下での心臓として、人工呼吸器かで開胸モデルを用いた。開胸後、0.2mm×0.2mm 幅で15keVのエネルギーを有する単色 X 線を左室自由壁の心筋最外層に照射し、その小角散乱像を X 線イメージンテンシファイアと CCD カメラにより 10-20msec の時間分解能で記録した。同時にコンダクタンス・カテーテルを用いて、左室圧-容積関係を同時に記録した。X 線回析像の(1, 0)赤道反射と

(1, 1)赤道反射の強度比(1, 0/1, 1 Ratio)からクロスブリッジ動態を、(1, 0)赤道反射の散乱角からミオシン格子間隔(Lattice spacing)を求め、それらを左室圧-容積関係と比較し、マイクロとマクロの関連を評価した。(図1)

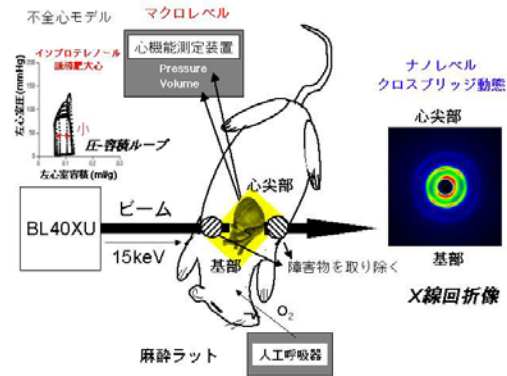


図 1

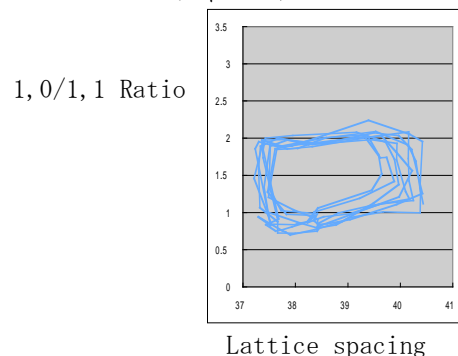
今回、不全心モデルとしては、イソプロテノールによる肥大心モデル、拡張型心筋症モデル(A-V シャントによる容量負荷モデル、心筋炎モデル)を用い、肥大心および拡張心のクロスブリッジ動態の比較を行った。治療としては、遺伝子治療を行い、その治療効果を評価した。

## 4. 研究成果

現在、生体位駆出心モデルにおける肥大心のデータ解析を行っている。特に、拡張期のクロスブリッジ動態に有意な変化を認めると期待している(図2)。同時に、ラット摘出心でも心機能評価を行った。心拍数の増加に伴いクロスブリッジ形成が減少することや、低酸素環境下ではクロスブリッジ形成の変化を伴わずに、左室発生圧が低下することを確認した(図3, 4)。

今後、生体位駆出心とのデータを比較し、新たな知見が得られると期待している。

### コントロール



肥大心モデル

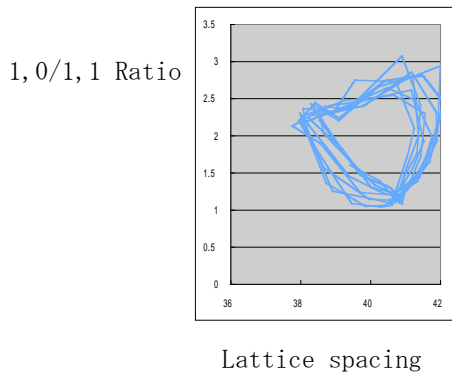
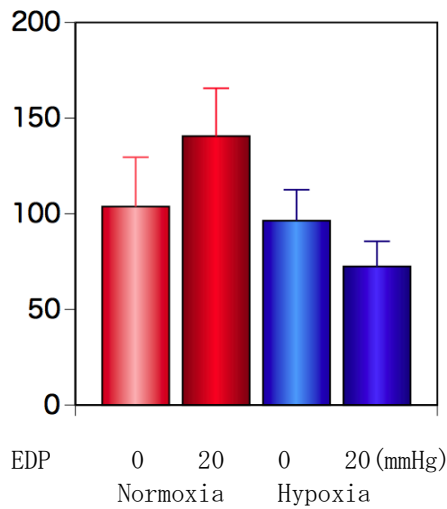


図 2

Developed LVP (mmHg)



LVP Duration (msec)

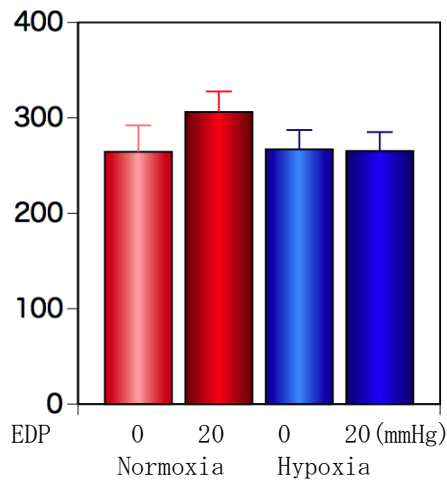


図 3

Duration of Developed LVP (msec)

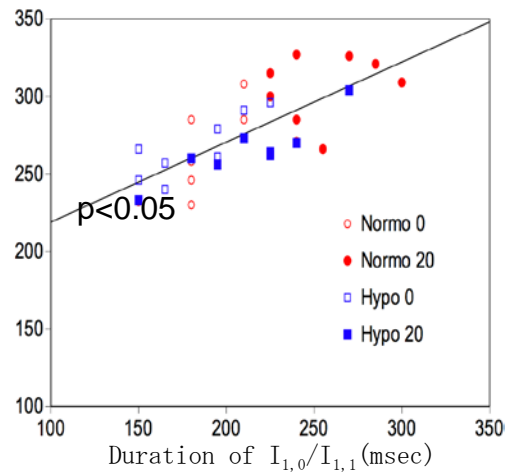


図 4

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)

[学会発表] (計 8 件)

① Yamato Tamura, Takehiro Miyasaka, Juichiro Shimizu  
Increasing preload reduced actin-myosin interaction beating rat whole heart  
Cardiovascular System Dynamics Society  
2010 年 9 月 26 日  
Fukuoka, Japan

② 清水壽一郎、宮坂武寛、田村大和  
低酸素環境下での前負荷増大による心機能低下と心筋分子モータの挙動異常  
第 25 回生体・生理工学シンポジウム  
2010 年 9 月 25 日  
岡山大学鹿田キャンパス 岡山

③ 田村大和、清水壽一郎、宮坂武寛、竹下大輔、吉川義朗、谷口繁樹  
低酸素灌流時の前負荷の増大はラット摘出心標本における心筋アクチンミオシン相互作用を減少させる  
第 62 回日本胸部外科学会定期学術集会  
2009 年 10 月 14 日  
パシフィコ横浜 横浜

④ Yamato Tamura, Juichiro Shimizu, Takehiro Miyasaka, Daisuke Takeshita, Naoto Yagi  
Increasing preload reduced actin-myosin interaction in isolated beating rat whole

heart under hypoxia  
Medical Physics and Biomedical  
Engineering  
2009年9月9日  
Munich, Germany

⑤ Juichiro Shimizu, Yamato Tamura,  
Takehiro Miyasaka  
Actin-myosin interaction observed in  
beating whole heart under physiological  
and pathological states  
Third Switzerland-Japan Workshop on  
biomechanics  
2009年9月4日  
Engelberg, Switzerland

⑥ Juichiro Shimizu, Daisuke Takeshita,  
Yamato Tamura, Tatsuhiro Matsuo, Takehiro  
Miyasaka, Miyako Takaki, Naoto Yagi  
Increasing heart rate decreased  
actin-myosin interaction in isolated  
beating rat whole heart  
The 36<sup>th</sup> Congress of the International  
Union of Physiological Sciences  
2009年8月1日  
Kyoto, Japan

⑦ 田村大和、清水壽一郎、竹下大輔、宮坂武  
寛、八木直人  
心拍数の増加は拡張期の残存クロスブリ  
ッジを増加させる  
第30回日本循環制御医学会総会  
2009年6月12日  
鹿児島市民文化ホール、鹿児島

⑧ 宮坂武寛、清水壽一郎、田村大和、竹下大  
輔、高木都、八木直人  
心拍数の増加はアクチン-ミオシンの架橋形  
成を減少させる  
第48回日本生体医工学会大会  
2009年4月25日  
タワーホテル船堀、東京

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

田村 大和 (TAMURA YAMATO)  
奈良県立医科大学医学部附属病院・研究員  
研究者番号：20382301

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者 ( )

研究者番号：