

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2014

課題番号：23300146

研究課題名(和文) In vivo ナノイメージングによる心筋興奮収縮連関のメカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of cardiac excitation-contraction coupling by in vivo nano-imaging

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,300,000円

研究成果の概要(和文)：1)ラット培養幼若心筋細胞のZ線にAcGFPを発現させ、収縮の最小単位であるサルコメアの長さ変化を細胞内Ca濃度変化と同時にnm精度で解析できるシステムの構築に成功した。2)ラット培養幼若心筋細胞において、約38℃以上の条件下、高速(~10 Hz)のサルコメア振動(HSOs)が生じることを見出した。3)マウスin vivo心臓において、心筋細胞内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、サルコメアの動きを高空間・時間分解能で捉えることに成功した。4) Frank-Starling機構について解析し、その程度が細いフィラメントの“on-off”平衡に依存していることを見出した。

研究成果の概要(英文)：1) In cardiac muscle, a change in sarcomere length (SL) by a mere ~100 nm causes a substantial change in contractility. To accurately analyze the motion of individual sarcomeres with nanometer precision, we developed an experimental system for simultaneous nano-scale analysis of single sarcomere dynamics and intracellular Ca changes via the expression of AcGFP in Z-disks in primary-cultured rat neonatal cardiomyocytes. 2) A rapid increase in temperature to >38 °C induced Ca-independent high-frequency (~10 Hz) sarcomeric auto-oscillations(HSOs) in rat neonatal cardiomyocytes. 3) We developed a high-speed high-resolution in vivo cardiac imaging system in mice. This system enabled three-dimensional analyses of sarcomere dynamics during the cardiac cycle, simultaneously with electrocardiogram and left ventricular pressure measurements. 4) We demonstrated that the Frank-Starling mechanism of the heart was dependent on the “on-off” equilibrium of the thin filament state.

研究分野：筋生理学

キーワード：生理学 細胞・組織 生体分子 ナノバイオ 心筋

1. 研究開始当初の背景

心臓は、それ自体が周期的に激しく動くため、*in vivo* ではリアルタイムでの心筋細胞内分子情報の抽出が難しく、ほとんどの分子研究が個体環境とかけ離れた条件の下で行われている。したがって、1) 心臓内で個々の心筋細胞の興奮や収縮・弛緩がどのように生じているのか、2) それらの情報が周辺の細胞にどのように伝わってゆくのか、3) 細胞機能がポンプ機能の発現にどのようにつながっているのか、といった基本的なメカニズムが十分に解き明かされていない。生体(個体)では、個々の心筋細胞が3次的に配置し、かつ、ホルモンや自律神経系の調節を受けているため、ゲノムやタンパク質構造、培養・単離細胞における分子の挙動を調べるだけでは、心臓の生理機能を分子レベルで解明することはできない。しかしながら、心臓生理学の最終目標は「*in vivo* 心臓の機能を分子レベルで、かつ系統的に解明する」ことであり、これを実現するためには、当該研究分野の現状を打開する必要がある。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ナノ計測技術を駆使することによって、小動物の心筋細胞や*in vivo* 心臓から心筋細胞内情報を高精度で抽出し、心筋細胞一つの μm 領域での Ca^{2+} イオンやアクチン分子の情報を高精度でリアルタイムに抽出し、細胞単位での興奮収縮連関と心臓のマクロ機能との関係を分子レベルで、かつ系統的に明らかにすることである。

3. 研究の方法

本研究では、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、小動物より抽出した心筋細胞や*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。

I : 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1,4)。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 msec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。

アダルトラットからの単離心室筋細胞の採集は、論文8に基づいて行った。

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1,7)。

II) スキンド心筋標本を用いた実験

1) スキンド心筋標本の作製

スキンド標本の作製については、我々が確率した方法に基づいて行った(論文8,9)。すなわち、マウスの左心室から小筋束(直径: 約100 μm)を切離し、1% (w/v)のTriton X-100を含む弛緩溶液中でスキンド処理を行った。

2) トロポニン入れ替え

上記の筋束を、ウサギ骨格筋速筋より抽出した高濃度のトロポニン複合体(2 mg/ml)を含む強直溶液に1時間ほど浸した。トロポニンを入れ替えた標本は、弛緩溶液(pCa 9.0)で10分ほど洗浄した(論文5)。

3) 筋線維の張力測定

高感度トランスデューサー(AE-801)とフックに筋線維の両端を固定した。サルコメア長(SL)はレーザー回折法によって測定し、弛緩条件(pCa 9.0)下で1.90 μm に設定した。その後、標本を各pCa(= $-\log[\text{Ca}^{2+}]$)の各活性溶液に浸し、 Ca^{2+} 活性化張力を測定した(張力測定、15°C)。次いでSLを2.20 μm に伸展し、各pCa溶液で張力測定を行った。それぞれの標本でSLを1.90から2.20 μm に伸展させた際

の pCa_{50} (pCa -張力関係の midpoint) の変化分を ΔpCa_{50} (pCa -張力関係の midpoint の移動度) とし、筋長効果の指標とした。

4) 動力学的特性の評価

クロスブリッジの動力学的特性は、 k_{tr} を測定することによって求めた。すなわち、心筋の活性張力が定常状態に達した直後に筋長を高速で短縮し、その後再び元の長さに戻した (~2 ms)。この過程を指数関数で近似した。

III) *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を作製し、*in vivo* 心筋細胞の Z 線に AcGFP を発現させた。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、電気メスにて胸部を取り去った。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 の速度である。

4. 研究成果

心筋細胞、心筋線維および心臓の各階層において研究を行った。以下、詳細をまとめる。

I) 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 ~2.00 μm であったが、収縮時には ~1.80 μm 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。

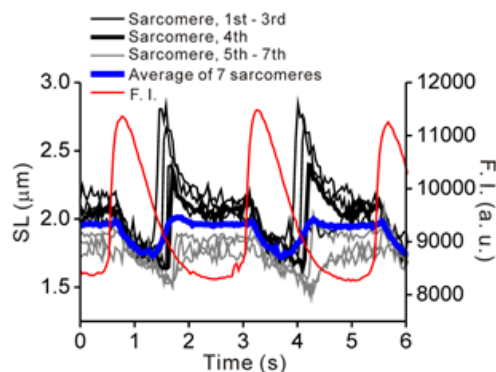


図 1: ラット幼若心筋細胞における細胞内 Ca^{2+} とサルコメア長 (SL) の同時計測。7 つの連続した各サルコメアの長さを計測 (黒、灰色の線)。平均長は青線で示してある。赤線は Fluo-4 の蛍光強度、すなわち細胞内 Ca^{2+} 濃度変化。論文 4 より抜粋。

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 3 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。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。 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。

II) トロポニン T に変異 ($\Delta K210$) を有する拡張型心筋症マウス心筋線維の機能解析:

Frank-Starling の心臓法則は、摘出心筋レベルにおいては活性張力が筋長とともに増大するという「筋長効果」に置き換えて考えることができる。我々は、巨大弾性タンパク質タイチン (コネクチン) が格子間隔 (太いフィラメントと細いフィラメントの間隔) を調節していることを明らかにしている (論文 3 参照)。本研究では、トロポニン T に変異 ($\Delta K210$) を持つノックイン (KI) モデルマウスの心筋を用い、筋長効果がどのように変化しているかを調べた。WT 標本では、サルコメア長 (SL) を 1.90 から 2.20 μm に変化させると、 pCa -張力関係の midpoint (pCa_{50}) が約 0.2 ユニット左方にシフトした (Ca^{2+} 感受性の上昇)。それに対して KI 標本では、 Ca^{2+} 感受性が低く、かつ、SL の伸展にともなう pCa_{50} の移動度 (ΔpCa_{50}) が約 0.1 ユニットであった。

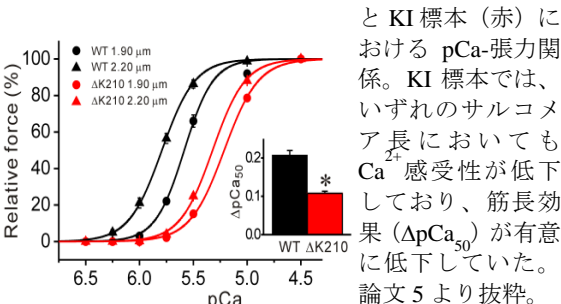


図 2: WT 標本 (黒) と KI 標本 (赤) における pCa -張力関係。KI 標本では、いずれのサルコメア長においても Ca^{2+} 感受性が低下しており、筋長効果 (ΔpCa_{50}) が有意に低下していた。論文 5 より抜粋。

また、トロポニンを同一のもの（ウサギ骨格筋由来）で置換すると、 Ca^{2+} 感受性および筋長効果は、WT標本、KI標本において同程度となった。さらに、細いフィラメントの協同性の指標である k_{tr} はKI標本において有意に低値を示した。そこで、KI標本を浸している溶液中に細いフィラメントの協同性を上昇させるMgADPを加えると、 ΔpCa_{50} が約0.2 pCaユニットに上昇した。これらの結果は、KI標本では細いフィラメントの協同性が低下しているために伸展時にクロスブリッジ結合が抑制され、スターリング効果が減弱しているものと理解できる。

以上の結果に基づいて、筋長効果の程度と細いフィラメントの“on-off”平衡との関係について検討し（図3）、筋長効果は細いフィラメントの“on-off”平衡が中間状態である時に最大となることを見出した。すなわち、平衡が off 側にシフトすると、細いフィラメントの協同性が低下するために格子間隔縮小にともなうクロスブリッジの形成が抑制される。一方、平衡が on 側にシフトすると、筋長効果の発現に必要な（ATP を結合した）recruitable クロスブリッジの数が減少し、格子間隔縮小にともなうクロスブリッジ形成が抑制される。



図3：細いフィラメントの on-off 平衡（横軸）と筋長効果 [縦軸：F (Frank) -S (Starling) effect] の関係。“on-off”平衡が中間状態である時、筋長効果は最大となる。下の図は、トロポニン複合体 (T-I-C) の模式図 [左: off 状態 (+Ca²⁺)、右: on 状態 (-Ca²⁺)] を示す。論文3 参照。DCM は拡張型心筋症を、HCM は肥大型心筋症を示す。

拡張型心筋症や肥大型心筋症などの心疾患においては、Frank-Starling 機構が減弱している。したがって、我々が見出した細いフィラメントの平衡状態と筋長効果との関連は、病態時における Frank-Starling 機構を理解する上で重要であると考えられる。

III) *In vivo* マウスにおけるサルコメア長計測:

α -Actinin-AcGFP 発現組み換えアデノウイルスをマウス左心室壁の表面に投与し、100 fps のカメラ速度で単一サルコメアの動きを共焦点顕微鏡下で観察した。心臓を摘出すると、静止時のサルコメア長が約 2.0 μm である

ことが見出された（単一サルコメアの計測精度：20 nm）。次に、マウスをイソフルラン麻酔下、拍動中の心臓において左心室中央部の心筋細胞内のサルコメア長を計測すると、収縮、伸展時に、それぞれ約 1.7 および 2.0 μm であることを見出した。静止時心筋細胞中のサルコメア長には正規分布にしたがったバラツキが存在し、*in vivo* 心臓拍動時、1)サルコメア長はその正規分布の短い領域において変動していること、2)左心室内圧とサルコメア長の間には直線的な比例関係が存在することが明らかになった（論文投稿中）。

また、 Ca^{2+} 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 Ca^{2+} 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 Ca^{2+} の上昇（ Ca^{2+} トランジェント）が観察された（論文作成中）。

IV) 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 Ca^{2+} 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 Ca^{2+} 濃度上昇は確認されなかった。



図4：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°C→約 43°C）。図中の IR-laser とは、レーザー中心を示す。論文7 参照。

Ca^{2+} 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4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、 Ca^{2+} 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。

V) 昇温誘起高速サルコメア振動の発見:

この研究では、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°C以上）によ

って細胞内Ca²⁺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Ca²⁺依存性の自発拍動と共存した (図 5)。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。

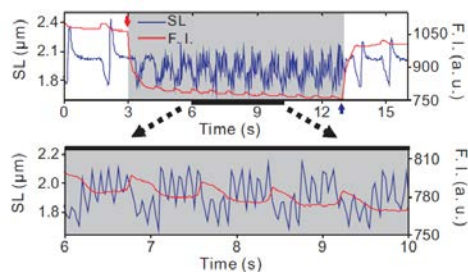


図 5: ラット幼若心筋細胞における HSOs。青線がサルコメア長変化を、赤線が蛍光強度変化を示す。細胞内 Ca²⁺濃度変化は Fluo-8 を用いて測定。赤、青の矢印 (上のグラフ) は、それぞれ赤外レーザー照射開始、終了の時点を示す。昇温によって AcGFP の蛍光強度が低下するため、細胞全体の蛍光強度が低下。下のグラフは上のグラフの拡大図。論文 1 より抜粋。

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 9 件)

- 1) 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.
- 2) Udaka 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.
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) 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.

6) 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 Biomedicine and Biotechnology* 2012;2012:313814.

7) 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.

8) 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.

9) Fukuda N, Inoue T, Yamane M, Terui T, Kobirumaki F, Ohtsuki I, Ishiwata S, Kurihara S. Sarcomere length-dependent Ca²⁺ 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 29 件)

- 1) 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。
- 2) 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。
- 3) 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。
- 4) 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。
- 5) 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。
- 6) 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 CA²⁺ CHANGES: STUDIES WITH CARDIOMYOCYTES AND AN *IN VITRO* MOTILITY ASSAY. 米国生物物理学会、San Francisco、2014 年 2 月。
- 7) 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。
- 8) 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。
- 9) 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。

10) 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。

11) 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。

12) 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。

13) 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。

14) 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。

15) 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。

16) 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。

17) 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。

18) 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JSPPEEC ミーティング (招待講演)、東京慈恵会医科大学、2013年5月。

19) 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。

20) 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。

21) 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。

22) 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。

23) 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。

24) 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。

25) 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。

26) 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。

27) 大山廣太郎、水野紅理、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。

28) 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。

29) 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」 皆我部先生編『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IV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・助教

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

栗原 敏 (SATOSHI KURIHARA)

東京慈恵会医科大学・医学部・教授

研究者番号：90057026

大槻磐男 (IWAO OHTSUKI)

東京慈恵会医科大学・医学部・教授

研究者番号：70009992

(3) 連携研究者

石渡信一 (SHIN'ICHI ISHIWATA)

早稲田大学・理工学術院・教授

研究者番号：10130866

樋口秀男 (HIDEO HIGUCHI)

東京大学・理学系研究科・教授

研究者番号：90165093