

研究室紹介

大分大学医学部 病態生理学講座

小野克重

前回の産業医科大学医学部第1生理学講座の上田先生を引き継ぎ、当研究室の紹介をさせていただきます。

当研究室のメンバー

大分大学医学部病態生理学講座（旧生理学講座第二）は初代教授有田眞先生の後を引き継ぎ、現在は以下のメンバーで構成されています。教授 小野克重、准教授 黒川竜紀、助教 糸慎一郎に加え、以下の博士課程大学院生が集まっています。劉衍恭（中国河北医科大学）、王普（同）、魏孟巖（同）、土

居二人（東海大学基盤工学部医療福祉工学科）、吉村健司（心臓血管外科学）、桐明祐弥（山口大学基礎看護学）。このほかに研究生として鈴木龍介（熊本赤十字病院 心臓血管外科）、及び技術補佐員として渡邊美紀が集まり、小さいながらも和気あいあいと研究を進めています（写真）。

研究テーマ

当研究室は大分医科大学の建学当初から心臓電気生理学を主テーマとしてイオンチャネル、心電学、不整脈、電気薬理学、及びその周辺領域を主にパッチクランプ法を用いて心臓の病態生理に的を絞った研究を進めて参りました。その後、分子生物学的手法を取り入れて発展し、2018年の現メンバーがそろってからは主に以下の4本の方野を中心に日夜、実験・研究に励んでいます。



2018年12月現在の教室員の集合写真。左から、王普、劉衍恭、黒川竜紀、小野克重、糸慎一郎、渡邊美紀。背景は左から、由布山、鶴見山、高崎山。

1. 心房細動の病態とイオンチャネルの変調原因を探る研究

心房細動は最も一般的に認められる不整脈であり、全人口での罹患率は約1%ほどです。心房細動は発作性として始まり、徐々に慢性化します。動悸などの自覚症状があったとしても、動悸発作時の心電図がなければ心房細動とは診断できないこともよくあることです。また頻拍を示さない場合は自覚症状が乏しく、この場合は、健康診断などの心電図検査で偶然発見される以外には診断されることはありません。つまり、本当は心房細動を発症しているのに診断されていない人は相当数いると考えられます。心房細動の発症基盤としての心房の機能と構造の再構築（リモデリング）が注目され、その機序が明らかになりつつあります。心房細動の多くは、左心房と肺静脈の境界を起源とした異所性の高頻度の興奮に始まります。これがリエントリーを引き起こして心房細動となり、その持続とともに心房筋の電気的性質が変化します。これは電氣的リモデリングと呼ばれます。「心房細動は心房細動を生む」という言葉がありますが、この例えは心房細動の悪化を如実に表しています。つまり、心房細動が持続すると、数時間～数日単位で更に心房細動の発症が容易な心房筋に変化し、この変化は心房細動の持続の延長や再発性の亢進等の負の連鎖をもって心房細動を慢性化、更に永続化させということです。心房細動の発症因子は前述の加齢の他に、肥満、高血圧、糖尿病、虚血性心疾患、左室肥大、不整脈の家族歴等が挙げられています。我々は、このような病態がどのような機序によって心房細動を惹起・永続させているか、その機序の解明を目指しています。特に、**non-coding RNA**の1つである**microRNA**に着目し、心房細動患者心筋から得られたサンプルとラット心筋を用いた実証実験により、心筋細胞のシグナル伝達異常とその変調の解明を行っています。将来的には心房細動の発現や持続を支配する**microRNA**を特定し、その作用によって心房細動の予防に発展でき

るような研究を目指しています。

2. イオンチャネルの長期的機能修飾

イオンチャネルはリン酸化、脱リン酸化、G蛋白結合、NO等のガス作用などによって速やかにその機能が修飾を受けます。一方、細胞内環境の変化、ホルモン、神経伝達物質、低酸素等の因子によって長期的な影響でイオンチャネル発現は制御されます。我々は、テストステロン、エストロゲン、アルドステロン等のホルモンがいかに心臓の興奮性を変化させ、その結果としてこのようなホルモンの過不足が心臓にどのような影響を与えてきたかを調べてきました。その結果の一例をご紹介します。女性ホルモンであるエストロゲンは心機能や血圧に複雑な作用を示すことが知られて。私どもは、エストロゲンをラットに投与して長期間観察し、エストロゲンの投与は、ラット心筋において転写因子Csx/Nkx2.5の発現を低下させ、その結果、心臓の自動能を制御するイオンチャネルの1つであるCav3.2型T型Ca²⁺チャネルの発現が低下することで、長期的に心拍数が減少することを明らかにしました。また男性ホルモンであるテストステロンは心筋細胞の緩徐活性型遅延整流K⁺チャネル(IKsチャネル)の遺伝子であるKv7.1の発現を促進させ、心電図におけるQT時間の短縮に寄与していることを示しました。このような性ホルモンのイオンチャネルに対する作用は心電図や不整脈の発症基盤としての性差の理解に役立つものと考えられます。今後とも引き続きホルモンと心臓の興奮性の研究を進展させたいと考えています。

3. 心機能とTRPチャネル機能の連関に関する研究

TRPV1チャネルはトウガラシの辛み成分であるカプサイシンの受容体として同定され、カプサイシンの他に酸、熱などに様々な刺激に鋭敏に応答するチャネルです。TRPV1は心臓での発現は確認されているものの、その機能についてあまり研究は進んでいません。しかし、圧負荷をかけたマウスモデルにおいて、TRPV1KOマウスでは左室駆出率の低下お

よび心筋の肥大は抑えられた報告があることから、特に心肥大においてTRPV1チャンネルは関係しているのではないかと考えられています。我々は、心臓におけるTRPV1の役割を解明するための手がかりとして、TRPV1と相互作用をする新規タンパク質を探索した結果、心房性ナトリウムペプチドANPの受容体であるNPR1とTRPV1がinteractionしていることを見いだしました。NPR1はグアニル酸シクラーゼを介してcGMP産生を増やし、その下流でPKGを活性化します。これまでの研究で、細胞内Ca²⁺流入は心肥大の進展に関わっていることや、ANP-cGMP-PKGの経路は心肥大の抑制に働くことが報告されていることから、我々は、ANP-cGMP-PKGの経路によりTRPV1のリン酸化が起り、TRPV1の活性を阻害することでCa²⁺流入を抑え、心肥大を抑制していると仮定しました。まず免疫沈降法により、TRPV1とNPR1が直接interactionしていることを確認しました。また、リン酸化抗体を用いることで、ANPを添加した細胞では、TRPV1はリン酸化されることが示されました。細胞内Ca²⁺濃度測定法や電気生理学的手法を用いることで、cGMPによりTRPV1の活性化が阻害されることも確認できました。さらに、10週齢の雄マウスにTRPV1阻害剤を投与すると、圧負荷による心肥大・心不全が改善傾向を示しました。以上のことから、TRPV1はANP-cGMP-PKG経路によるリン酸化により活性が阻害されることにより、心肥大が抑制されることが分かりました。しかし、TRPV1がなぜ直接interactionしているのかは明らかになっていません。健常な心臓でも、TRPV1とNPR1は発現していることから、今後はこのinteractionについて健常時と病態時における役割を解明していきたいと考えています。

4. イオンチャンネルの構造・機能連関に関する研究

我々は、イオンチャンネル、特に急速活性化遅延整流K⁺チャンネル (IKr) の分子構造と機能連関に興味を持っています。心室筋において活動電位持続時間を調節し、心電図QT時間に重要な役割を果たすIKrチ

ヤネルはhERGチャンネル(Kv11.1)と呼ばれています。このK⁺チャンネルは、他の電位依存性K⁺チャンネルと比べて極めて遅い脱活性化を示し、その機能不全は2型先天性QT延長症候群 (LQT2) の原因として知られています。この遅い脱活性化の制御機構には細胞内ドメインが関与し、N末端のEAGドメインとC末端の環状ヌクレオチド結合相同 (CNBH) ドメイン間の相互作用が重要であることが分かってきました。興味深いことに、CNBHドメインは環状ヌクレオチド感受性を欠く代わりに、多くの変異が遅い脱活性化を加速させ、LQT2の原因となることが報告されています。我々は、CNBHドメインへの変異がhERGチャンネルの構造に与える影響を調べるため、電気生理学的解析とFRET解析を行いました。その結果、CNBHドメインのPhe860 (側鎖がCN結合ポケット内に存在する) と、Arg752 (他のC末端ドメインと静電相互作用を形成する) への変異の導入が脱活性化を著しく加速させ、同時にEAGドメインとCNBHドメイン間の相互作用を減弱させることが分かりました。これは、CNBHドメインへの変異の導入による脱活性化の加速が、細胞内ドメイン間の相互作用の崩壊に起因することを示唆しています。さらに、FRET解析を応用した実験の結果、EAGドメインとCNBHドメイン間の相互作用は、膜電位に依存した明確な構造変化を示さないことも分かりました。今後もhERGチャンネルに焦点を当てた研究を行い、膜電位の変化に伴う構造変化や遅い脱活性化の制御機構など、hERGチャンネルの構造機能連関の解明を目指し、LQT2や類似した心疾患の予防や治療に貢献できるような研究に発展させていきたいと考えています。

社会活動

当教室は本学神経生理学講座 花田礼子教授と共に第97回日本生理学会大会を大分県別府市で開催する運びとなりました。日本生理学会大会は2020年の大会で97回目を迎えます。本大会は日本内外の生理

学研究者により最新の研究情報が発信され、意見の交換と討論の場を提供することで生理学全体の進歩と発展に大きく寄与してきました。また、生理学関連分野の教育に係わる多くの人が集まり、初めて生理学を学ぶ学生やこれまで生理学に馴染みの無かった異分野の人たちにいかに生理学のおもしろさを高い水準にて伝えることができるかということを目指した生理学教育者の能力の開発、並びに新たに生理学教育を支える人材の育成・支援の場でもあるのです。この歴史ある日本生理学会大会が初めて大分県で開催されることとなり、担当者一同は丸となり、実り多い、有意義な大会とすべく鋭意準備を進めています（右写真）。

約150年前、中津藩（大分県）の福澤諭吉は著書「學問ノススメ」により、それまでの日本人が知らなかった自由・独立・平等等の新しい価値観を紹介し、新時代へ向かう日本人を学問の奨励を通して啓発いたしました。第97回日本生理学会大会では、福澤諭吉の言葉に習い、生理学探究の道を再度見直し、本学会に参加する研究者・教育者・学生が何らかのブレーク・スルーを見だし、発展・飛躍へと繋げることができるような場になることを期し、大会テーマを「生理學ノススメ ～分子から個体まで～」といたしました。参加者が生物の分子機能から個体機能までの最新の生理学研究情報を発信し議論すると共に、多岐に及ぶ現在の生理学研究を広く深く学び糧とすることができる大会となることを願っており、日本病態生理学会の会員の皆様にも満足頂けるような会を計画しています。是非、ご参加下さい。

<当研究室のモットー>

研究は楽しいばかりではありません。結果がなかなか出ない、研究費が思った通りに得られない、投稿した論文がReviewerに十分理解されない、等々の様々なストレスの中に研究者は置かれています。しかし実験・研究によって人の知らない未知の現象を

初めて見つけた喜びは何物にも代えられません。当研究室は研究の喜びを共有し、更に楽しく研究を進めることをモットーとしています。昭和54年に本学が設立された当初から、常に本講座内に掲示されている額縁入りの「講座訓」をご紹介して本講座紹介を閉じたいと思います。

「生理学の心」

無いのではない、求めないのだ
出来ないのである、やらないのだ
研究の場は何処にでもある
目を見開き、自らに求め、自らの道を行け
人生には色々の時がある
たとえ速度は遅くとも
弛まず歩くことこそ肝心

教室ホームページ：

<http://www.med.oita-u.ac.jp/pathophysiology/index.html>