

拍動開始後の心臓原基収縮機構のメカニズムを解明



札幌大
細胞生理学講座

佐藤 達也准教授



一瀬 信敏講師

はじめに

生命活動の象徴とされる「心拍動」が始まるメカニズムは明らかになっていない。この謎を解明する鍵となる研究成果を、札幌大細胞生理学講座の佐藤達也准教授、一瀬信敏講師、常瀬規嗣名誉教授らのグループが報告した。当研究グループは以前、ラットにおいて胎子の心拍動は胎生10日目の発生中の側板中胚葉由来の心筋前駆細胞

サルコメア構造を伴わず 横紋筋収縮・解糖系に関わる分子の発現亢進

集団から形成される心臓原基中心部から始まることを見出した (J Physiol Sci. 2011 Mar;61(2):141-9.)。しかし、拍動開始後の心拍動を支えるエネルギー代謝の変化ならびに収縮機構の詳細は不明なままである。本研究では、新しい細胞エネルギー代謝解析法、そしてマルチオミクス解析手法を利用し、この未解明研究課題に取り組んだ。

方法

Wistar ラットの心拍動は午前0時を基準としたとき、胎生10.0日 (E 10.0) 前後に心拍動が開始するため、明暗逆転室で飼育した Wistar ラットを用いた。妊娠10日目あるいは妊娠11日目の Wistar ラットを安楽死させた後、その子宮と胚を速やかに摘出し、胎子を Tyrode 液内に移した。顕微鏡下で心臓原基あるいは原始心筒を観察して切り出し、リアルタイム代謝解析は 37°C でコラゲナーゼにより単一細胞とした心臓原基細胞を細胞外フラックスアナライザーに供し、電子顕微鏡のサンプルはグルタルアルデヒドおよびカコシル酸ナトリウムで固定後エポキシ樹脂ブロックの型に埋め込み、ミクロトームにて切片を作成した後、サンプルを酢酸ウラニルおよび酢酸鉛で電子染色し、透過型電子顕微鏡で観察した。

生化学的解析は、マルチオミクス解析はサンプルを氷上で処理し、microarray による遺伝子発現解析、Western blot 法による低酸素誘導因子-1 α (HIF-1 α) 関連タンパク発現解析、質量解析によるメタボローム解析、Data-Independent Acquisition (DIA) プロテオーム解析にそれぞれ供した。

結果

リアルタイム代謝解析により、拍動開始後の E 10.0 の心臓原基細胞では、ATP 合成と共役するミトコンドリア呼吸、解糖予備能が増加していることが示され、解糖フラックスの亢進が示唆された。メタボローム解析の主成分分析により、拍動開始後の心臓原基では、心拍開始前のものと比較して、グルコースの主要代謝産物である ATP、抗酸化特性を持つペントースリン酸経路の副産物である還元型グルタチオン、そしてタンパク質合成と細胞骨格系で役割を果たす代謝物である GTP が増加していることが示唆され、解糖のみならずペントースリン酸経路や核酸代謝経路の活性化が示唆された。

Microarra による遺伝子解析では、拍動開始後の心臓原基において、横紋筋収縮に関わる遺伝子群、解糖系に関わる遺伝子群の発現が亢進していることが明らかとなった。これらの結果を説明できる上流因子として HIF-1 α に着目し、実際に拍動開始後の心臓原基で HIF-1 α のタンパク発現と転写活性の増加を確認した。心拍動開始に関連するエネルギー代謝の変化のサマ

リーのシェーマを提示する (図1)。

さらに、収縮装置の機構を解明するため、透過型電子顕微鏡で E 10.0 の拍動開始後の心臓原基細胞を観察したが、驚くべきことに横紋筋の収縮単位であるサルコメア構造は観察されなかった。一方で、E 11.0 の原始心筒の細胞では、不完全ながら Z 帯で定義されるサルコメアが観察された (図2)。DIA プロテオーム解析により、E 10.0 の心拍動開始後の心臓原基では、拍動開始前のものと比較して、検出された 7,762 種のタンパク質のうち 2.0 倍以上有意に発現増加したタンパク質はわずか 43 種であったが、これらタンパク質中、12 種 (27.9%) は筋原繊維の構成タンパク質であり、10 種 (23.3%) は筋原繊維形成の補助因子や調節因子となるタンパク質であった。つまり、拍動開始に関連して発現が増加するタンパク質の多くは筋原繊維を構成するものである一方、サルコメアの形成は心拍開始の初期には必須ではないことが示唆された。

結語と展望

A 拍動開始期のラット胎子の心拍動は HIF-1 α シグナルを介したエネルギー代謝の再配線によって支えられることがわかった。また、拍動開始時には筋収縮装置を構成するタンパク質の発現が増加するが、横紋筋構造の特徴であるサルコメア構造形成は伴わず、心拍動開始時の興奮収縮連関はいわゆる成熟胎生期や成体の心臓とは異なることがわかった。

本研究成果は、学術誌 Scientific Reports と Frontiers in Physiology にそれぞれ成果が公表された (Sci Rep. 2022 Jan 7;12(1):74., Front Physiol. 2022 May 9;13:907924.)。

現在、このシグナルの上流因子解析およびサルコメア形成過程についての研究が進行中であり、研究成果は 2025 年 3 月に千葉県幕張メッセで開催される AP PW 2025 (第 130 回日本解剖学会・第 102 回日本生理学会・第 98 回日本薬理学会合同大会) で発表される予定である。当講座では、細胞の「機能」に着目し、電気生理学的なアプローチに加え、オルガネラ機能解析、特にミトコンドリア呼吸能の新規解析手法や、学内外との共同研究において心血管・腎・代謝異常の慢性疾患、癌、炎症性疾患、神経筋疾患など各種病態のメカニズムの解明の研究にも注力しており、今後も生理学および生体機能学の観点から広く活動を展開していく。

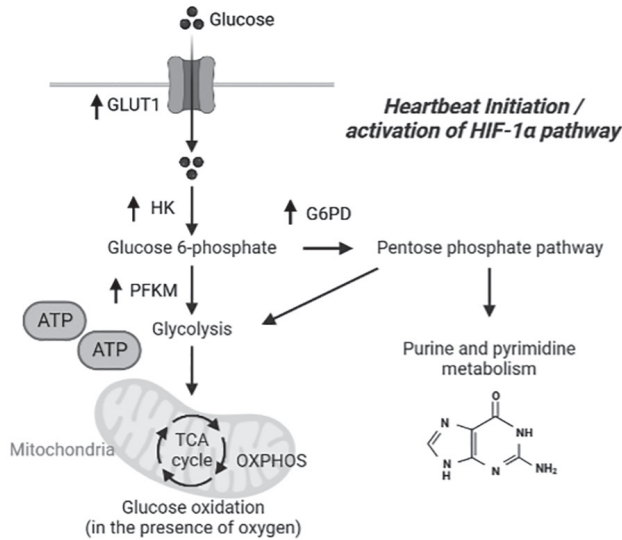
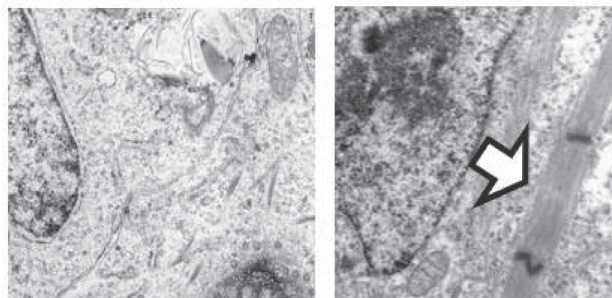


図1 心拍動開始後のエネルギー代謝の変化



E10の拍動後の心臓原基細胞 E11の原始心筒細胞

透過型電子顕微鏡による観察 (矢印: サルコメア構造)

図2 心拍動開始後のサルコメアの有無の観察

学術