不全心におけるエネルギー利用

吉川 義朗¹⁾, 高木 都²⁾

要約: 自然発症 II 型糖尿病 (DM) と, 甲状腺機能低下症における慢性不全心モデルと高濃度 Ca^{2+} 冠動脈注入による Ca^{2+} 過負荷急性不全心, および虚血再灌流傷害による急性不全心モデルに対して, 血液交叉灌流摘出心標本を用いて心力学的・エネルギー学的検討を行った. DM 不全心では弛緩速度が有意に遅く, 1 分間当たりの興奮収縮連関における総 Ca^{2+} ハンドリングに要する心筋酸素消費量が有意に減少していた. また甲状腺機能低下症不全心においては, 収縮機能・拡張機能ともに低下していた. 1 心拍当たりの興奮収縮連関における総 Ca^{2+} ハンドリングに要する心筋酸素消費量 (VO_2) が有意に減少していた. また, DM, 甲状腺機能低下症不全心では筋小胞体の Ca^{2+} ATPase (SERCA2) タンパクの発現量が減少していた. 高濃度 Ca^{2+} 冠動脈注入による Ca^{2+} 過負荷不全心, 虚血再灌流不全心では収縮機能の低下と VO_2 -収縮期圧容積面積 (PVA) 直線関係の VO_2 切片の低下がみられた. このことは, 1 心拍当たりの興奮収縮連関における総 Ca^{2+} ハンドリングに要する VO_2 が有意に減少していることを示す. またカルパインの活性化により細胞骨格タンパクである α -フォドリンが分解され, 収縮機能不全が起こった. カルパイン阻害薬により収縮機能不全と α -フォドリン分解が抑制された. 急性および慢性不全心における総 Ca^{2+} ハンドリング VO_2 の低下は, 主に SERCA2 の発現低下とカルパインの活性化による膜タンパク α -フォドリンの分解によって生じた Ca^{2+} ハンドリング障害に起因していると考えられる.

キーワード: 総機械的エネルギー, SERCA2, ホスホランパン, α -フォドリン, カルパイン阻害薬

奈良県立医科大学¹⁾第三外科学, ²⁾第二生理学
(〒634-8521 奈良県橿原市四条町 840)

e-mail: yyoshiro@naramed-u.ac.jp

原稿受領日: 2003 年 10 月 10 日, 編集委員会依頼総説

1. はじめに

心不全発生のメカニズムとして, サルコメアタンパクの異常, 細胞骨格タンパクの異常, ATP 制御タンパクの異常, Ca^{2+} 代謝異常などがあげられる. 我々は, 特に筋小胞体 Ca^{2+} -ATPase (SERCA2), ホスホランパン (PLB), さらに細胞骨格タンパク (α -フォドリン) に着目して研究を進めている.

特に, 不全心モデルでの Ca^{2+} ハンドリング制御タンパクの発現異常, 機能異常と統合的心機能との関係を明らかにするため, 血液交叉灌流ラット摘出心により心力学的およびエネルギー学的検討を行なうと共に, 各種機能タンパクのウェスタンブロット, 免疫染色を行なっている.

2. 血液交叉灌流ラット摘出心臓を用いた系 (1~3) (Fig. 1)

血液交叉灌流ラット摘出心モデルでは, 2 匹のラットのうち, 一方から心臓を摘出し, 他方のラットを代謝サポーターとし, その頸動・静脈と摘出心臓をつなぎ血液交叉灌流を行い, 摘出心臓の冠循環を行なう. 摘出心臓の左室内にバルーンを挿入し左室圧の測定を行ない, マイクロシリンジでバルーンの注水量を増減することにより容量負荷を変化させて, 等容性収縮のみを行う. また収縮性をあげるために Ca^{2+} を冠動脈内に注入する. 交叉灌流系はほとんどすべて冠循環であるので, 1 心拍の心筋酸素消費量は冠灌流量と動静脈酸素濃度較差の積を心拍数で除して求め, 心臓の酸素消費量が連続的に正確に測定できる.

(1) 心臓の総機械的エネルギー: 収縮期圧容積面積 (PVA) (Fig. 2A)

心臓の外的機械の仕事は, 圧容積図においてその中に描かれる圧容積軌跡に囲まれる面積に等しい. 等容性収縮では収縮期圧は高いが, 圧容積軌跡は 1 本の線になり, 外的仕事は 0 であるが, ポテンシャルエネルギーの増加が起こる. 左室収縮期末容積関係 (ESPVR) と左室拡張期末容積関係 (EDPVR) とに囲まれる三角形に近い面積が収縮

Fig. 1 Measurements of LVP, LVV, AVO₂D, and CF in blood-perfused excised rat whole heart preparations

Fig. 2 The framework for evaluating integrative cardiac function. A: Curved end-systolic pressure volume relation (ESPVR) B: The linear relation of pressure-volume area (PVA)-myocardial O₂ consumption per beat (VO₂) is obtained from the curved ESPVR. Slope a, O₂ cost of PVA, indicates chemomechanical energy transduction rate.

期圧容積面積 (PVA) と呼ばれ、等容性収縮における総機械的エネルギーとなる。

ヒト、成犬などの心臓では ESPVR は生理的範囲内では直線を示し、その傾き $E_{\max}$ (最大容積弾性率) で収縮性の評価が容易にできる。しかし、収縮性が非常に高くなると、上に凸の曲線関係を示すようになる。一方ラット、マウスなどの小動物では、生理的範囲内でも左心室の ESPVR は直線を示さず、上に凸の曲線を示す。この曲線は式 (1) を用いてベストフィット曲線として表すことが

出来る。

$$ESP = a [1 - \exp \{-b (V - V_0)\}] \cdots \cdots (1)$$

ESP: 等容収縮期末圧, V: 等容性収縮時の左室容積, V_0 : 収縮期末圧が 0 の左室容積でベストフィット ESPVR の左室容積切片, a b はフィッティングパラメータ。

$$EDP = a' [\exp \{b' (V - V_0)\} - 1] \cdots \cdots (2)$$

EDP: 等容拡張期末圧, V: 等容性拡張時の左室容積, V_u : 拡張期末圧が 0 の左室容積でベストフィット EDPVR の左室容積切片, a' b' はフィッティングパラメータ。

Fig. 3 Isovolumic relaxation pressure-time curves at mLVV in a late phase DM rat. (Modified from AJP Heart Circ Physiol. 2002;282:H138-148. Ref. 8)

この非線形の ESPVR から、ある左室容積での ESP は容易に求めることができ、左室収縮期圧容積面積 (PVA) もこのベストフィット関数の積分によって簡単に求めることができ、Fig. 2A の斜線部分で示す PVA は 1 心拍あたりの総機械的エネルギーに相当する。

我々は、これらの指標を用いてラット摘出心の左室機能や生体位での駆出心の心機能を評価している。

(2) PVA と 1 心拍あたりの心筋酸素消費量 (VO_2) 関係 (Fig. 2B)

まず ESPVR より各左室容積における PVA を求め、この PVA と各左室容積において測定した 1 心拍あたりの心筋酸素消費量 (VO_2) との関係、 VO_2 -PVA 関係はヒト、成犬同様に直線を示す (1245)。従ってこの傾きは PVA の酸素コストを表すが、これは化学的エネルギーから機械的エネルギーへの変換効率を意味する。また VO_2 切片は PVA に依存しない酸素消費量を示し、基礎代謝と興奮収縮連関に使われる酸素消費量とに分けられる (1246)。

以上、2 つの指標 (傾きと VO_2 切片) を用いて心機能のエネルギー学的解析を行う事ができる。

不全心モデルとしては、自然発症 II 型糖尿病 (DM) ラットと、甲状腺機能低下症ラットの慢性不全心と、高濃度 Ca^{2+} 冠動脈注入による Ca^{2+} 過負荷および虚血再灌流傷害により作製した急性不全心モデルを対象として、心力学的・エネルギー学的検討を行うことにより Ca^{2+} ハンドリング障害との関わりを検討した。

3. 慢性心不全モデル

(1) DM 不全心モデル

II 型糖尿病を自然発症することで知られている OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty) ラットを用い

て (7)、DM 不全心における左心室の機械的仕事とエネルギー代謝の病態解明を行った (8)。

その結果、中等度の左室容積 (mLVV) での ESP, PVA は、non-DM ラットと有意差を認めず、 VO_2 -PVA 関係における傾き、切片についても有意差を認めなかった。つまり DM では収縮機能には変化を認めなかった。

しかし、late phase (62-66 wk) での DM では、non-DM と違い、心拍数をペーシングにより 300 bpm にすると弛緩期末圧 (EDP) が不完全弛緩のため上昇し、心拍数を 240 bpm に減らす必要があった。このことから、1 分間当たりの PVA に依存しない心筋酸素消費量 (VO_2 切片と心拍数の積)、これは興奮収縮連関における総 Ca^{2+} ハンドリングに要する心筋酸素消費量と基礎代謝の和を意味するが、late phase の DM で有意に減少していた。一方、KCl により心停止を起こして求めた基礎代謝には有意差を認めず、興奮収縮連関における Ca^{2+} ハンドリングに要する 1 分間当たりの心筋酸素消費量が低下していることが示された。

ここで、弛緩機能に着目し、心拍数 240 bpm における mLVV での左室圧曲線の弛緩相末期において、拡張能の指標である時定数を求めたところ、late phase での DM では non-DM と比べ logistic 関数と exponential 関数で求めた時定数が共に有意に延長し、明らかな拡張機能障害が認められた (9) (Fig. 3)。

次に、SERCA2 タンパクの発現量をウエスタン・ブロットで調べると DM ラットでは non-DM ラットに比べ有意に低下していた (10) (Fig. 4)。

以上より、自然発症 II 型糖尿病モデルラットにおいては、SERCA2 の発現低下による Ca^{2+} ハンドリング障害が、収縮機能障害までは起こさないが、拡張機能障害を起こし、1 分間当たりの興奮収縮連関における総 Ca^{2+} ハンドリン

Fig. 4 Western blots of SERCA2 in DM rats. (Modified from *AJP Heart Circ Physiol.* 2002;282:H138-148. Ref. 8)

グに要する心筋酸素消費量の低下に関与していることが示唆された。

(2) 甲状腺機能低下症不全心

8-プロピルチオウラシル (0.8 mg/ml) を4-5週間飲ませ、ミオシン・アイソザイムを V_1 から V_3 タイプへほぼ完全に変換した甲状腺機能低下症ラット (11) の摘出心標本にて血液交叉灌流を行ない、心力学的・エネルギー学的解析を行った (12)。

正常ラットに比し、甲状腺機能低下症ラットでは mLVV での ESP, PVA は有意に低下し、EDP は有意に上昇していた。VO₂-PVA 関係の傾きに差異は認められなかったが、VO₂ 切片は甲状腺機能低下症ラットで有意に低下していた。そしてこの VO₂ 切片の構成成分である興奮収縮連関で消費される VO₂ と基礎代謝はともに有意に低下していた。このことは DM ラットとの大きな違いであった。

また、甲状腺機能低下症ラットでは PLB の発現量が増加し、SERCA2 の発現量が減少していた。この結果 PLB と SERCA2 の比が有意に大きくなっていた。つまり、甲状腺機能低下症ラットでは SERCA2 の発現が抑制され、PLB の発現が増強されていた (13~19)。また PLB と SERCA2 の比の増大は筋小胞体における Ca²⁺ATPase の活性が抑制されていることを示し、その事が PVA の酸素コスト (VO₂-PVA の傾き) および収縮性の酸素コストの変化を伴わない収縮・拡張機能障害、興奮収縮連関における総 Ca²⁺ハンドリングに要する心筋酸素消費量の低下に関与していることが示唆された。

4. 急性心不全モデル

(1) 高濃度 Ca²⁺冠動脈注入による Ca²⁺過負荷急性不全心 (20)

心筋細胞における虚血再灌流障害の発生には、その不可逆的終末像として心筋細胞内 Ca²⁺過負荷状態が知られている。しかし、虚血再灌流モデルでは、Ca²⁺過負荷以外のさまざまな要因が関与しているので結果の解析が困難である。

そのため、血液交叉灌流ラット摘出心を対象としてアシドーシス (21, 22)、虚血 (23)、さらに低酸素も起こらない Ca²⁺過負荷状態のみ (24) を一過性に起こした Ca²⁺過負荷急性不全心モデルを作成して心力学的・エネルギー学的検討を行った。

コントロールの ESPVR と VO₂-PVA 関係を求めた後、mLVV で左室圧と VO₂ を計測しながら 1%CaCl₂ を冠動脈注入すると、増量するに従い、VO₂ および PVA データは、最初は右上方に推移するが、最終的に左上方にシフトする。この段階が Ca²⁺過負荷の状態で、冠動脈注入を停止する。その後 20 分間 Ca²⁺をサポーターラットの腎臓で代謝・排泄後 ESPVR および VO₂-PVA 関係を求めた。一例を示すと、この Ca²⁺過負荷不全心の ESPVR はコントロールに比べ、下方にシフトし (Fig. 5A)、VO₂-PVA 関係については、傾きは変化せず、下方に平行移動し、VO₂ 切片は低下した (Fig. 5B)。

7 例の高濃度 Ca²⁺負荷後の結果をまとめると、ESP,

Fig. 5 High Ca^{2+} infusion-induced Ca^{2+} overload failing heart. (Modified from AJP Heart Circ Physiol. 2001; 281:H1286-1294. Ref. 20)

Fig. 6 High Ca^{2+} infusion-induced Ca^{2+} overload failing heart. A: ESP_{mLVV} , B: PVA_{mLVV} , C: slope of VO_2 -PVA relation, D: VO_2 intercept.

PVA 共にコントロールに比べ有意に低下した。また、 VO_2 -PVA 関係の傾きは有意差を認めなかったが、 VO_2 切片は有意に低下した (Fig. 6)。 VO_2 切片の減少は興奮収縮連関での心筋酸素消費の減少によるものである。

VO_2 切片の低下と細胞骨格タンパクの α -フォドリンの関係を調べるため、高濃度 Ca^{2+} 負荷を 17 例の心臓で行な

い、両者について検討を行った。 VO_2 切片に関して分けると、17 例中 13 例で VO_2 切片が減少しており、変化のないものは 4 例であった。各群についてウエスタン・プロットによりフォドリン分解の程度を調べてみると、 VO_2 切片が減少しているものでフォドリン分解が顕著に生じており、 VO_2 切片の低下とフォドリン分解には強い

Fig. 7 Downward-shift of VO₂-intercept is related to fodrin proteolysis in Ca²⁺-overload rat hearts. (Modified from AJP Heart Circ Physiol. 2001;281:H1286-1294. Ref. 20)

関連を認めた (Fig. 7). しかし, 虚血再灌流障害でしばしば報告されているアンキリン, コネクシン 43, トロポニン I の分解 (25~28) は認めなかった. つまり, 主としてフォドリン分解が生じた結果, 興奮収縮連関における Ca²⁺ ハンドリング障害が生じ, その結果 VO₂ 切片の低下が生じたと考えられた.

以上より, 選択的に Ca²⁺ 過負荷のみを起こした Ca²⁺ 過負荷不全心では, ①PVA の減少, ②興奮収縮連関における総 Ca²⁺ ハンドリングに要する心筋酸素消費量の減少 (3, 24), ③細胞骨格タンパクの分解 (29, 30) という変化が生じることが示唆された.

ここでフォドリン分解を起こす Ca²⁺ 依存性中性プロテアーゼであるカルパインの活性を抑制するため, カルパイン阻害薬を 1%CaCl₂ と同時投与し同様の実験を行った. カルパイン阻害薬を同時投与すると, ESP, PVA の低下が抑えられ, また VO₂-PVA 関係の傾きは変わらずに, VO₂ 切片の減少が抑えられた.

また, ウェスタン・ブロットで調べたフォドリン分解の程度に関しても, カルパイン阻害薬を同時投与することでフォドリン分解が顕著に抑制されていることが示された.

以上の実験結果から高濃度 Ca²⁺ 負荷による Ca²⁺ 過負荷急性不全心形成機序について考察を加えてみる. 心筋細胞に興奮が起こると高濃度の Ca²⁺ が膜電位依存性の L 型 Ca²⁺ チャンネルを介して細胞内に流入する. その結果, 細胞内 Ca²⁺ 濃度上昇をきたす. ラット心筋では SERCA2 に

よる Ca²⁺ 取り込み率が高く心拍数も 300 bpm と多い. そこで細胞内 Ca²⁺ が, SERCA2 による Ca²⁺ 取り込み能力の限界を超えた濃度に達すると, SERCA2 はもはや Ca²⁺ の取り込みが出来なくなり Ca²⁺ 過負荷の状態が引き起こされる. 重度の Ca²⁺ 過負荷が起こると, カルパインの活性化により細胞骨格タンパクであるフォドリンの分解が起こり (29, 30), その結果, Ca²⁺ チャンネルの立体構造に変化を生じその働きが抑制される. その結果, 細胞内への Ca²⁺ 流入が減少し, 細胞内でハンドリングされる Ca²⁺ 総量の減少が生じ, VO₂-PVA 関係は下方に平行移動すると考えている (Fig. 8).

PVA の酸素コスト (VO₂-PVA 関係の傾き) が変わっていないこと, トロポニン I の分解が起こっていないこと, さらに電顕による筋原線維の観察では形態的な異常は見られないことから, アクチン-ミオシンからなる収縮機構そのものに障害を来しているとは考えにくい. 一方, ミトコンドリアの形態を電顕で観察すると, 一部のミトコンドリアに顕著な膨潤が生じており, 一過性の Ca²⁺ 過負荷状態が生じ, Ca²⁺ 緩衝系としてのミトコンドリアが Ca²⁺ を取り込み, その結果膨潤を起こしたと思われる. またミトコンドリア呼吸機能も酸化的リン酸化の脱カップリングを起こしており, ADP/O 比, チャンスの state III O₂ や呼吸調節比 (RCI) は測定不能であった.

(2) 虚血再灌流

Ca²⁺ 過負荷を生じる現実的なモデルとして虚血再灌流

Fig. 8 Total calcium handling in Ca^{2+} -overload acute failing hearts. TnC: troponin C, TnI: troponin I, RF: recirculation fraction, SM: sarcomere, PKA: protein kinase A, p: phosphorylation.

(IR) 障害による急性不全心モデルを 15 分の虚血後、60 分の再灌流を行い作製した。この IR 急性不全心モデルでも Ca^{2+} 過負荷不全心と同様に、ESPVR および VO_2 -PVA 関係は下方に平行移動した。IR 後、mLVV での ESP, PVA は有意に減少し、PVA の酸素コスト (VO_2 -PVA 関係の傾き) は変化せず、 VO_2 切片は減少した。

虚血再灌流後の心臓標本のフォドリン分解率をウエスタン・プロットにて測定すると、IR 後 VO_2 -PVA 関係が下方に平行移動したものでは 150, 145 kDa のフォドリン分解産物が正常心臓に比べてより高率に認められた。

カルパイン阻害薬を用いることによって、IR に起因する収縮機能不全の形成、興奮収縮連関での総 Ca^{2+} ハンドリングに要する心筋酸素消費量の低下、細胞膜フォドリンの分解が、完全ではないが抑制されたことから、IR 障害による心機能の急性不全の主たる原因は興奮収縮連関における総 Ca^{2+} ハンドリングの抑制とカルパインの活性化による細胞骨格タンパク、 α -フォドリンの分解であると考えられる。

(3) 遺伝子導入による Ca^{2+} 過負荷不全心に対する効果

これまでの研究で、慢性、急性にかかわらず不全心形成

に心筋細胞内での Ca^{2+} ハンドリング障害が大きく関わっていることが明らかになった。

そこで、この Ca^{2+} ハンドリング障害を遺伝子治療によって修復することを試みた (Massachusetts General Hospital, MGH, Dr. Roger Hajjar らとの共同研究)。あらかじめ、in vivo での遺伝子導入 (31~35) を行ったラットの摘出心臓で高濃度 Ca^{2+} の冠動脈注入を行ない Ca^{2+} 過負荷不全心の形成が抑えられるかどうかを検討した。遺伝子導入にはさまざまなベクターが用いられるが、安価で発現が早期に期待でき、しかも感染率が高く、高力価の E1 欠損のアデノウイルスを用いた。E1 欠損アデノウイルスを用いると、遺伝子導入 4-5 日目に発現ピークを認めるためそれに合わせて交叉灌流実験を行った。

PLB/SERCA2a 比をターゲットとし、この比を小さくすることにより筋小胞体 Ca^{2+} ATPase の活性を亢進させ Ca^{2+} ハンドリングを活性化させる遺伝子の導入を考えた。ラット正常心臓ではすでに SERCA2a は十分に発現していることが予測されるので、SERCA2a を過剰発現させる (36~40) よりは、PLB に対するアンチセンスストラテジーにより (37, 41)、 Ca^{2+} 過負荷不全心形成に対する予防効果をみた。

コントロール実験として β -gal を導入したラット摘出心では高濃度 Ca^{2+} の冠動脈注入により Ca^{2+} 過負荷不全心が形成された。ESPVR は下方にシフトし, EDPVR は上方にシフトしたが, アンチセンス PLB を導入したラット摘出心では同量の Ca^{2+} 冠動脈注入を行った後も ESPVR, EDPVR は変化しなかった。さらに, VO_2 -PVA 関係においても, β -gal を導入したものでは下方に平行移動したが, アンチセンス PLB を導入したものでは変化はなかった。

以上の結果から, *in vivo* での遺伝子導入により筋小胞体 Ca^{2+} ATPase の活性を高めることにより, 細胞内 Ca^{2+} ハンドリング障害による収縮機能および拡張機能障害を起こす Ca^{2+} 過負荷不全心の形成を予防できる可能性が示唆された。

5. おわりに

糖尿病, 甲状腺機能低下症ラットにおける慢性不全心の心臓左心室の収縮機能, 拡張機能障害とそれに関連した左室のエネルギー学的変化は, 主に筋小胞体 Ca^{2+} ATPase の Ca^{2+} 取り込み機能障害に起因していた。 Ca^{2+} 過負荷による急性不全心における心臓左心室の収縮機能障害は, 興奮収縮連関における総 Ca^{2+} ハンドリングの抑制, カルパインの活性化による細胞膜 α -フォドリンの分解に起因していた。急性, 慢性にかかわらず不全心の形成機序において, Ca^{2+} ハンドリング障害は心機能障害発生のメカニズムにおいて重要な役割を担っているといえる。

文 献

- 1) Takaki M, Matsubara H, Araki J, et al. Mechanoenergetics of acute failing hearts characterized by oxygen costs of mechanical energy and contractility. In: Sasayama S, editor. New horizons for failing heart syndrome. Tokyo: Springer-Verlag; 1996. p. 133-164.
- 2) Hata Y, Sakamoto T, Hosogi S, Ohe T, Suga H, Takaki M. Linear O_2 use-pressure-volume area relation from curved end-systolic pressure-volume relation of the blood-perfused rat left ventricle. *Jpn J Physiol.* 1998;48:197-204.
- 3) Tsuji T, Ohga Y, Yoshikawa Y, et al. New index for oxygen cost of contractility from curved end-systolic pressure-volume relations in cross-circulated rat hearts. *Jpn J Physiol.* 1999;49:513-520.
- 4) Hata Y, Sakamoto T, Hosogi S, Ohe T, Suga H, Takaki M. Effects of thapsigargin and KCl on the O_2 use of the excised blood-perfused rat heart. *J Mol Cell Cardiol.* 1998;30:2137-2144.
- 5) Tachibana H, Takaki M, Lee S, Ito H, Yamaguchi H, Suga H. New mechanoenergetic evaluation of left ventricular contractility in *in situ* rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1997;272:H2671-H2678.
- 6) Takaki M, Tachibana H, Hata Y, Sakamoto T, Suga H. Mechanoenergetics of rat left ventricles in *in situ* and excised blood-perfused hearts and in unloaded rat left ventricular slices. *Heart Vessels Suppl.* 1997;12:100-102.
- 7) Kawano K, Hirashima T, Mori S, Saito Y, Kurosumi M, Natori T. Spontaneous long-term hyperglycemic rat with diabetic complications: Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) strain. *Diabetes.* 1992;41:1422-1428.
- 8) Abe T, Ohga Y, Tabayashi N, et al. Left ventricular diastolic dysfunction in type 2 diabetes mellitus model rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002;282:H138-H148.
- 9) Mizushige K, Yao L, Noma T, et al. Alteration in left ventricular diastolic filling and accumulation of myocardial collagen at insulin-resistant prediabetic stage of a type 2 diabetic rat model. *Circulation.* 2000;101:899-907.
- 10) Zarain-Herzberg A, Yano K, Elimban V, Dhalla NS. Cardiac sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase expression in streptozotocin-induced diabetic rat heart. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994;203:113-120.
- 11) Holubarsch C, Goulette RP, Litten RZ, Martin BJ, Mulieri LA, Alpert NR. The economy of isometric force development, myosin isoenzyme pattern and myofibrillar ATPase activity in normal and hypothyroid rat myocardium. *Circ Res.* 1985;56:78-86.
- 12) Ohga Y, Sakata S, Takenaka C, et al. Cardiac dysfunction in terms of left ventricular mechanical work and energetics in hypothyroid rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002;283:H631-H641.
- 13) Black SC, McNeill JH, Katz S. Cardiac sarcoplasmic reticulum calcium transport activity of thyroidectomized rats: the role of endogenous myocardial acylcarnitines and calcium pump protein. *Pharmacology.* 1993;46:130-141.
- 14) Bluhm WF, Meyer M, Sayen MR, Swanson EA, Dillmann WH. Overexpression of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase improves cardiac contractile function in hypothyroid mice. *Cardiovasc Res.* 1999;43:382-388.
- 15) Holt E, Sjaastad I, Lunde PK, Christensen G, Sejersted OM. Thyroid hormone control of contraction and the Ca^{2+} -ATPase/phospholamban complex in adult rat ventricular myocytes. *J Mol Cell Cardiol.* 1999;31:645-656.
- 16) Kimura Y, Otsu K, Nishida K, Kuzuya T, Tada M. Thyroid hormone enhances Ca^{2+} pumping activity of the cardiac sarcoplasmic reticulum by increasing Ca^{2+} ATPase and decreasing phospholamban expression. *J Mol Cell Cardiol.* 1994;26:1145-1154.
- 17) Kiss E, Brittsan AG, Edes I, Grupp IL, Grupp G, Kranias EG. Thyroid hormone-induced alterations in phospholamban-deficient mouse hearts. *Circ Res.* 1998;83:608-613.
- 18) Kiss E, Jakab G, Kranias EG, Edes I. Thyroid hormone-induced alterations in phospholamban protein expression. Regulatory effects on sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} transport and myocardial relaxation. *Circ Res.* 1994;75:245-251.
- 19) Rohrer D, Dillmann WH. Thyroid hormone mark-

- edly increases the mRNA coding for sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase in the rat heart. *J Biol Chem.* 1988;263:6941-6944.
- 20) Tsuji T, Ohga Y, Yoshikawa Y, et al. Rat cardiac contractile dysfunction induced by Ca^{2+} overload: possible link to the proteolysis of fodrin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001;281:H1286-H1294.
 - 21) Hata K, Goto Y, Kawaguchi O, et al. Hypercapnic acidosis increases oxygen cost of contractility in the dog left ventricle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1994;266:H730-H740.
 - 22) Hata K, Takasago T, Saeki A, Nishioka T, Goto Y. Stunned myocardium after rapid correction of acidosis: increased oxygen cost of contractility and the role of Na^+ - H^+ exchange system. *Circ Res.* 1994;74:794-805.
 - 23) Ohgoshi Y, Goto Y, Futaki S, Yaku H, Kawaguchi O, Suga H. Increased oxygen cost of contractility in stunned myocardium of dog. *Circ Res.* 1991;69:975-988.
 - 24) Araki J, Takaki M, Namba T, et al. Ca^{2+} -free, high Ca^{2+} coronary perfusion suppresses contractility and excitation-contraction coupling energy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1995;268:H1061-H1070.
 - 25) McDonough JL, Arrell DK, Van Eyk JE. Troponin I degradation and covalent complex formation accompanies myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circ Res.* 1999;84:9-20.
 - 26) Yoshida K, Harada K. Proteolysis of erythrocyte-type and brain-type ankyrins in rat heart after postischemic reperfusion. *J Biochem.* 1997;122:279-285.
 - 27) Yoshida K, Inui M, Harada K, et al. Reperfusion of rat heart after brief ischemia induces proteolysis of caldesmon (nonerythroid spectrin or fodrin) by calpain. *Circ Res.* 1995;77:603-610.
 - 28) Yoshida K, Sorimachi Y, Fujiwara M, Hironaka K. Calpain is implicated in rat myocardial injury after ischemia or reperfusion. *Jpn Circ J.* 1995;59:40-48.
 - 29) Bennett V. Spectrin-based membrane skeleton: a multipotential adaptor between plasma membrane and cytoplasm. *Physiol Rev.* 1990;70:1029-1065.
 - 30) Lazarides E, Nelson WJ. Erythrocyte and brain forms of spectrin in cerebellum: distinct membrane-cytoskeletal domains in neurons. *Science.* 1983;220:1295-1296.
 - 31) Hajjar RJ, Schmidt U, Matsui T, et al. Modulation of ventricular function through gene transfer in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998;95:5251-5256.
 - 32) del Monte F, Hajjar RJ. Efficient viral gene transfer to rodent hearts in vivo. *Methods Mol Biol.* 2003;219:179-193.
 - 33) Bernecker OY, Del Monte F, Hajjar RJ. Gene therapy for the treatment of heart failure-calcium signaling. *Semin Thorac Cardiovasc Surg.* 2003;15:268-276.
 - 34) del Monte F, Hajjar RJ. Targeting calcium cycling proteins in heart failure through gene transfer. *J Physiol.* 2003;546:49-61.
 - 35) Hajjar RJ, del Monte F, Matsui T, Rosenzweig A. Prospects for gene therapy for heart failure. *Circ Res.* 2000;86:616-621.
 - 36) Hajjar RJ, Kang JX, Gwathmey JK, Rosenzweig A. Physiological effects of adenoviral gene transfer of sarcoplasmic reticulum calcium ATPase in isolated rat myocytes. *Circulation.* 1997;95:423-429.
 - 37) Hajjar RJ, Schmidt U, Kang JX, Matsui T, Rosenzweig A. Adenoviral gene transfer of phospholamban in isolated rat cardiomyocytes. Rescue effects by concomitant gene transfer of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase. *Circ Res.* 1997;81:145-153.
 - 38) del Monte F, Williams E, Lebeche D, et al. Improvement in survival and cardiac metabolism after gene transfer of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase in a rat model of heart failure. *Circulation.* 2001;104:1424-1429.
 - 39) Schmidt U, del Monte F, Miyamoto MI, et al. Restoration of diastolic function in senescent rat hearts through adenoviral gene transfer of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase. *Circulation.* 2000;101:790-796.
 - 40) Miyamoto MI, del Monte F, Schmidt U, et al. Adenoviral gene transfer of SERCA2a improves left-ventricular function in aortic-banded rats in transition to heart failure. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000;97:793-798.
 - 41) del Monte F, Harding SE, Dec GW, Gwathmey JK, Hajjar RJ. Targeting phospholamban by gene transfer in human heart failure. *Circulation.* 2002;105:904-907.

Abstract - Energy utility of failing heart. Yoshiro YOSHIKAWA¹⁾ and Miyako TAKAKI²⁾ (¹⁾Department of Surgery III and ²⁾Department of Physiology II, Nara Medical University, Kashihara 634-8521, Japan)
Folia Pharmacol. Jpn. (Nippon Yakurigaku Zasshi) **123**, 77 ~ 86 (2004)

We investigated left ventricular (LV) mechanoenergetics in acute and chronic failing hearts, induced by high Ca^{2+} , ischemic-reperfusion injury, diabetes mellitus (DM), and hypothyroidism, using cross-circulated excised rat heart preparations. After high Ca^{2+} or ischemic-reperfusion, there was a contractile failure associated with a parallel downward shift of the linear relation between myocardial O_2 consumption per beat (VO_2) and systolic pressure-volume area (PVA). This result indicated a decrease in VO_2 for total Ca^{2+} handling in E-C coupling. We found proteolysis of a cytoskeletal protein, α -fodrin. A calpain inhibitor significantly suppressed contractile failure, decreased VO_2 for total Ca^{2+} handling, and membrane α -fodrin degradation. In DM, the LV relaxation rate was significantly slower, resulting in the decreased O_2 consumption per min for total Ca^{2+} handling in E-C coupling. In hypothyroidism, there were systolic and diastolic failures associated with the decreased O_2 consumption per beat for total Ca^{2+} handling in E-C coupling. The protein level of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase (SERCA2) was significantly lower in DM and hypothyroidism. We conclude that suppression of O_2 consumption for total Ca^{2+} handling, mainly utilized by SERCA2, is a major cause of failing hearts, mediated through degradation of membrane α -fodrin via activation of calpain or suppressed expression of SERCA2.

Keywords: mechanoenergetics; SERCA2; phospholamban; α -fodrin; calpain inhibitor

著者プロフィール

吉川 義朗 (よしかわ よしろう)

奈良県立医科大学外科学講座第三, 助手.

1990 年奈良県立医科大学医学部医学科卒業, '98 年より現職.

研究テーマ: 血液交叉灌流摘出心標本を用いた不全心の機能評価.

趣味: ドライブ.

高木 都 (たかき みやこ)

奈良県立医科大学生理学講座第二, 教授.

1970 年京都大学薬学部薬学科卒業, '73 年京都大学大学院薬学研究科修士課程 (薬理学専攻) 修了, '73 年岡山大学医学部助手 (生理学講座第二), '94 年岡山大学医学部講師 (生理学講座第二), '95 年岡山大学医学部助教授 (生理学講座第二) を経て, '96 年 11 月より現職.

研究テーマ: 循環器系と消化器系の機能の自律神経による制御機構の解明. 趣味: ウォーキング.

E-mail: mtakaki@naramed-u.ac.jp, HP: <http://www.naramed-u.ac.jp/~2phy/>