
総 説

カルシウムハンドリングの変調をもたらす虚血再灌流障害

新 谷 香*

京都府立医科大学大学院医学研究科法医学

Altered Calcium Handling Causes Ischemia-Reperfusion Injury

Kaori Shintani-Ishida

*Department of Forensic Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine**Graduate School of Medical Science***抄 録**

虚血再灌流障害は、急性心筋梗塞に対する再灌流療法後など虚血に陥っていた臓器に血流が再開した時、かえって組織傷害が増悪するパラドックスな現象のことを言う。虚血再灌流後の心筋では、収縮帯壊死が特徴的な病理組織所見として認められ、心筋細胞の過収縮が再灌流障害の重要因子だと考えられてきたが、細胞死に至る機序は十分解明されてない。細胞内へのカルシウム (Ca^{2+}) の流入は虚血中から起こるが、再灌流後一気に加速する。細胞内 Ca^{2+} の過負荷は、心筋の過収縮やカルパイン活性化によってサルコレンマの破綻を引き起こす。一方、ミトコンドリアの Ca^{2+} 過負荷はミトコンドリア膜透過性遷移孔 (mPTP) を開口し細胞死へと誘導する。最近、筋小胞体からミトコンドリアへ、マイクロドメインを介して Ca^{2+} 過負荷が伝達されることが証明された。再灌流後細胞内に大量に流入した Ca^{2+} が筋小胞体を介してミトコンドリアの Ca^{2+} 過負荷を引き起こし、mPTP を開口させる。心筋の虚血再灌流障害には Ca^{2+} ハンドリングの変調が大きく関与しているようだ。

キーワード：虚血再灌流障害、カルシウム、細胞死、ミトコンドリア、心筋梗塞。

Abstract

Ischemia-reperfusion injury is a paradoxical phenomenon where reperfusion following ischemia, such as thrombolysis or angioplasty in acute myocardial infarction, exacerbates tissue injury. Contraction band necrosis is a characteristic finding of reperfused myocardium on histopathological examination. Although hypercontracture is believed to contribute to reperfusion injury, the essential mechanism leading to cell death is still not fully elucidated. Ischemia induces intracellular Ca^{2+} influx, which is exacerbated by reperfusion. Intracellular Ca^{2+} overload causes hypercontracture and calpain activation, resulting in sarcolemma disruption. Mitochondrial Ca^{2+} overload opens mitochondrial permeability transition pores (mPTP), leading to cell death. Recently, it was demonstrated that Ca^{2+} overload is transferred from the sarcoplasmic reticulum (SR)

平成30年7月25日受付 平成30年8月16日受理

*連絡先 新谷 香 〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路上ル梶井町465番地
kaori@koto.kpu-m.ac.jp

to mitochondria via microdomains. Cytosolic Ca^{2+} influx following reperfusion induces mitochondrial Ca^{2+} overload through SR, which opens mPTP. Therefore, altered Ca^{2+} handling may considerably contribute to myocardial ischemia-reperfusion injury.

Key Words: Ischemia-reperfusion injury, Calcium, Cell death, Mitochondria, Myocardial infarction.

はじめに

虚血再灌流障害とは、虚血状態にある臓器や組織に血流が再開されたときに起こる組織損傷のことをいう。急性心筋梗塞後の血栓溶解や経皮的冠状動脈インターベンションによる心筋再灌流は、冠動脈閉塞が短時間であれば梗塞サイズを縮小するのに最も効果的な治療であるが、虚血が遷延すると血流再開はかえって心筋傷害を増悪させる。虚血再灌流後の心筋梗塞巣では、収縮帯壊死が特徴的な組織所見として認められること、電顕観察でミトコンドリアに過剰な遊離カルシウム (Ca^{2+}) の沈着を認めること¹⁾²⁾ などから、細胞内 Ca^{2+} に依存した心筋細胞の過収縮が虚血再灌流障害の重要因子であると古くから考えられてきた。虚血再灌流障害は再灌流時の介入による予防が可能と考えられ、過収縮の

抑制や細胞内 Ca^{2+} 濃度の制御を目的とした研究が盛んに行なわれてきた。最近、筋小胞体とミトコンドリアの近接部にあるマイクロドメインを介した Ca^{2+} 伝達の存在が明らかになり、細胞質と細胞内 Ca^{2+} 貯蔵器官との間の Ca^{2+} ハンドリングの連関が虚血再灌流障害を理解する上で重要であることが明らかになってきた。

虚血中の Ca^{2+} ハンドリング

血流が遮断されると、細胞のエネルギー代謝は酸素を必要とするミトコンドリアの酸化的リン酸化から嫌氣的解糖へとシフトし、乳酸が過剰に産生され細胞内の pH が急激に低下する (図 1)。細胞内プロトン (H^+) の上昇はナトリウム (Na^+)/ H^+ 交換体 (Na^+/H^+ -exchanger: NHE) による H^+ のくみ出しを促進する結果、細胞内に Na^+ が流入する³⁾。 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換体 ($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -

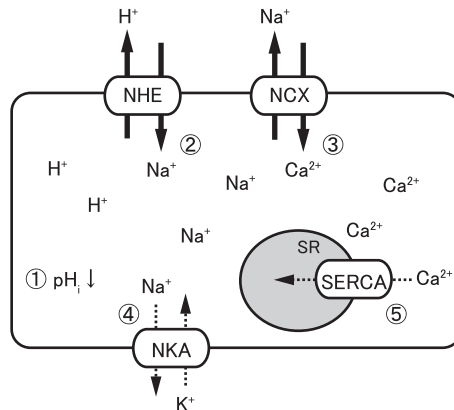


図1 虚血中に起こる心筋細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇のメカニズム

①嫌氣解糖による乳酸産生で細胞内 pH (pH_i) が低下する。②増加した細胞内プロトン (H^+) を Na^+/H^+ 交換体 (NHE) がくみ出す結果、細胞内に Na^+ が流入する。③流入した Na^+ を $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換体 (NCX) がくみ出す結果、細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇する。ミトコンドリアのエネルギー代謝低下による ATP 量減少は、④ Na^+/K^+ -ATP アーゼ (NKA) や⑤筋小胞体 (SR) の Ca^{2+} -ATP アーゼ (SERCA) の活性を低下させる。太い矢印は促進、点線の矢印は抑制を意味する。

exchanger: NCX) は低pHでは活性が低下することから、NCXのNa⁺くみ出し (Reverse mode) は虚血中機能していないと考えられていたが⁴⁾、MurphyらはNCX阻害剤であるアミロライドを用いて、高Na⁺濃度環境下では低pHでもNCX活性は維持され、Na⁺くみ出しの結果、細胞内Ca²⁺濃度が上昇することを明らかにし、H⁺、Na⁺、Ca²⁺の交換機構が虚血によるCa²⁺過負荷の一部を担っていることを証明した⁵⁾。

また、虚血中はミトコンドリアのエネルギー代謝が抑制されるのでATP量が低下する。Na⁺くみ出しポンプである筋細胞膜 (サルコレンマ) のNa⁺/K⁺-ATPアーゼやCa²⁺取り込みポンプである筋小胞体のCa²⁺-ATPアーゼ (sarco/endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase: SERCA) の活性低下も細胞内Na⁺やCa²⁺の過負荷に貢献している。

ラット灌流心のNMR分析では、細胞内Ca²⁺濃度は虚血後10分までに上昇することが確認されているが⁶⁾、サルコレンマ破綻の所見はこの時点では認められない。

再灌流後のCa²⁺ハンドリング

上述のように、細胞内Ca²⁺の上昇は虚血早期に発現し維持されるが、再灌流後に一気に加速し、収縮帯壊死という特徴的な細胞死を引き起こす。血流の回復により、ATP合成が再開され、細胞外の過剰な乳酸は洗い流され細胞環境は正常化に向かう一方で、細胞内ではCa²⁺の過負荷が加速し、致死的な細胞障害に陥る (図2)。

pH回復からNa⁺過負荷、そしてCa²⁺の過負荷へ

再灌流後、虚血中に蓄積した細胞外の乳酸が除去されると、乳酸/H⁺共輸送体、NHE、Na⁺/

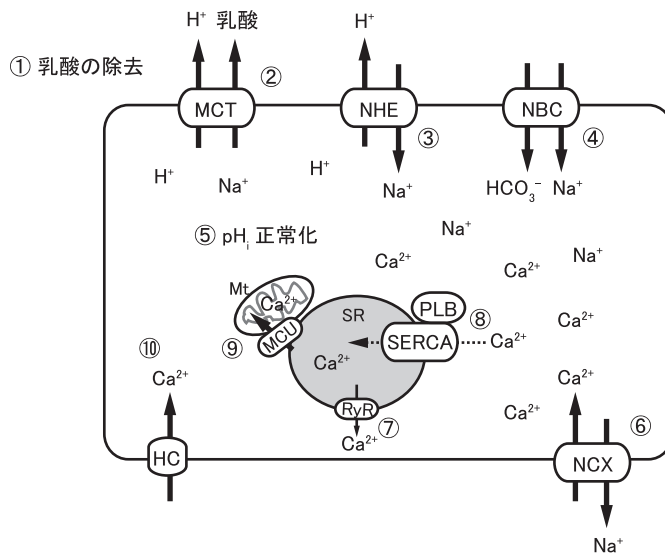


図2 再灌流後に起こる心筋細胞Ca²⁺過負荷のメカニズム

①再開した血流によって、細胞外の乳酸が除去されると、②乳酸/H⁺共輸送体 (MCT)、③Na⁺/H⁺交換体 (NHE)、④Na⁺/重炭酸イオン共輸送体 (NBC) が活性化し、⑤細胞内pH (pHi) が正常化する。代償として、⑥増加した細胞内Na⁺をNa⁺/Ca²⁺交換体 (NCX) がくみ出す結果、さらに大きなCa²⁺過負荷を誘導する。⑦過剰な細胞内Ca²⁺によって、筋小胞体 (SR) のCa²⁺-ATPアーゼ (SERCA) とリアノジン受容体 (RyR) を介したCa²⁺振動は増幅され、再灌流後の過収縮を増大する。一方、⑧虚血によって脱リン酸化したフォスホランバン (PLB) はSERCAのCa²⁺取り込みを阻害する。⑨SRの過剰なCa²⁺はCa²⁺単輸送体 (MCU) を介して、ミトコンドリア (Mt) にも取り込まれる。⑩細胞膜上に存在するヘミチャンネル (HC) は細胞内外のCa²⁺濃度によって制御されている。

重炭酸イオン共輸送体が直ちに再活性化し、細胞内pHを正常化する。しかしこれは、代償として Na^+ 過負荷を惹起し、続いて起こるReverse modeのNCX交換機構によって、さらに大きな Ca^{2+} 過負荷を誘導する。ラット灌流心では、NCXがReverse modeで作用している再灌流後数分間の間にNCX阻害剤KB-R7943を投与すると、過収縮や心筋細胞死を抑制できるが、その後細胞内Na濃度が正常化し、NCXがForward modeに戻るころまでKB-R7943投与を延長すると、逆に細胞死が増大する⁷⁾ことから、NCXが再灌流障害のトリガーとして関与していると考えられる。

筋小胞体を介した Ca^{2+} 振動

心筋細胞の主要な Ca^{2+} 貯蔵器官である筋小胞体は、 Ca^{2+} の放出と取り込みによって興奮収縮連関を制御している。T管膜の脱分極によってL型電位依存性 Ca^{2+} チャンネルを介して細胞外から Ca^{2+} が流入すると、T管に接した筋小胞体の膜に存在するリアノジン受容体(ryanodine receptor: RyR)が活性化して開口し、筋小胞体に大量に貯蔵されていた Ca^{2+} を細胞質に放出する結果、心筋細胞は収縮する⁸⁾。放出された Ca^{2+} はSERCAによって再び筋小胞体に取り込まれ、一部はNCXによって細胞外に排出されると、細胞質内 Ca^{2+} 濃度は定常状態に戻り細胞は弛緩する。心筋細胞の細胞質 Ca^{2+} 濃度はこのように常に振動し、収縮と弛緩を繰り返しているが、虚血再灌流では、NCXを介して細胞外から流入した過剰な Ca^{2+} が筋小胞体に取り込まれるため、著大な Ca^{2+} 振動が発生する。再灌流直後に起こる最初の過収縮は Ca^{2+} 流入によるものだが、続く筋小胞体の Ca^{2+} 取り込みによって生じる Ca^{2+} 振動によって過収縮が延長、増大すると考えられている⁹⁾。

フォスフォランバンの脱リン酸化

フォスフォランバン (PLB) はSERCAの Ca^{2+} 取り込みを調節するタンパク質で、プロテインキナーゼGによってリン酸化され活性化する。生理的条件下では、リン酸化PLBは細胞内 Ca^{2+}

濃度に応じて筋小胞体への結合と解離を繰り返して筋小胞体の Ca^{2+} 取り込みを調節することにより Ca^{2+} 振動を防いでいる¹⁰⁾。一方、PLBは脱リン酸化すると、細胞質内 Ca^{2+} 濃度とは無関係にSERCAと結合し、筋小胞体の Ca^{2+} 取り込みを阻害する。虚血再灌流において、PLBは虚血中に脱リン酸化してしまう¹¹⁾ので、再灌流後にSERCAが再活性化しても、過剰な細胞内 Ca^{2+} を筋小胞体に取り込むことができなくなる¹²⁾¹³⁾。この脱リン酸化PLBも過収縮発症に関与しているようで、抗PLB抗体を心筋に導入し、SERCAとの結合を阻害すると、虚血再灌流後の収縮帯形成を有意に抑制することができる¹¹⁾。

筋小胞体とミトコンドリアの Ca^{2+} 連関

ミトコンドリアには一時的な Ca^{2+} 貯蔵能があり、ミトコンドリア内膜に存在する Ca^{2+} 単輸送体(mitochondria Ca^{2+} uniporter: MCU)を介して Ca^{2+} を取り込む¹⁴⁾。興奮収縮連関で大量に使用されるATPの産生はミトコンドリア Ca^{2+} の調節を受けており、細胞質の Ca^{2+} 振動と連動している¹⁵⁾。以前は、細胞質からミトコンドリアに Ca^{2+} が流入すると考えられていたが、最近、ミトコンドリア Ca^{2+} 特異的指示薬を用いた実験で、興奮収縮連関に伴うミトコンドリアの Ca^{2+} トランジェントは、T管接合部の筋小胞体近傍の局所的な高濃度 Ca^{2+} 領域(マイクロドメイン)において強く敏速に起こっていること¹⁶⁾、マイクロドメインには筋小胞体の Ca^{2+} 放出を担うRyRが局在しており、これを遺伝子欠損させるとミトコンドリアの Ca^{2+} 濃度やATP合成量が低下すること¹⁷⁾、などが報告され、細胞質の Ca^{2+} 振動は、筋小胞体を介してミトコンドリアとも連関していることが明らかとなった。

虚血再灌流時にはミトコンドリア内にも Ca^{2+} の蓄積が認められ、過収縮との間に相関が見られる¹⁸⁾。再灌流後のミトコンドリア Ca^{2+} の蓄積はMCU阻害剤によって抑制される¹⁹⁾。

ヘミチャンネルからの細胞外 Ca^{2+} の流入

心筋細胞の介在版にはギャップジャンクション(gap junction: GJ)と呼ばれる細胞の連結通

路が存在する。GJを介してイオンや小分子を細胞間でやり取りすることで、心筋の同期性収縮に寄与している²⁰⁾。細胞膜上にはヘミチャンネルと呼ばれるコネキシン43 (Cx43) タンパク質の6量体で形成される前駆体のチャンネルが存在し、これが隣接する細胞同士で結合すると、GJとなり細胞間伝達を可能にする。一方、ヘミチャンネルの一部はGJを形成せず²¹⁾、細胞外Ca²⁺やK⁺の流入²²⁾、ATP²³⁾やNAD⁺²⁴⁾といった細胞内代謝物の放出などを担っている。

ヘミチャンネルの開閉は細胞内外のCa²⁺濃度によって制御されている。ヘミチャンネルの制御には二面性があり、適度な細胞内Ca²⁺濃度上昇はヘミチャンネルを開口させるが、過剰になるとヘミチャンネルは閉口する²⁵⁾。心筋細胞に擬似虚血モデルである低酸素・グルコース欠乏負荷をかけると、ヘミチャンネルは開口し、筋小胞体のCa²⁺ハンドリングとは独立して細胞内Ca²⁺濃度上昇に寄与するが、その上昇が閾値を越えると一転、閉口し細胞保護に働く²⁶⁾。

細胞内Ca²⁺ハンドリングの変調がもたらす細胞障害

細胞内Ca²⁺ハンドリングの変調は、心筋細胞の過収縮、Ca²⁺依存性タンパク質分解酵素によるサルコレンマの破綻、ミトコンドリア膜透過性遷移孔の開口など細胞死の直接因子となる障害を引き起こす。

心筋細胞の過収縮

虚血再灌流後の心筋には収縮帯壊死が特徴的な所見として認められる²⁷⁾ことから、心筋細胞の過収縮がネクローシスを引き起こすという仮説が古くから支持されてきた。収縮帯壊死は虚血部と非虚血部の境界に集簇して観察されることが多く、過収縮という機械的要因が細胞死に寄与していると推測される²⁸⁾。これを裏付けるように、未接着の心筋細胞をCa²⁺欠乏液を用いた再灌流障害モデルに負荷しても、Ca²⁺振動に応じた単収縮が起こるだけで無傷だが、細胞を接着させ機械的ストレス下におくと、Ca²⁺流入によって過収縮が惹起され、サルコレンマが破

綻する²⁹⁾。ブタ冠状動脈結紮モデルでは、拡張終末期に心筋セグメント長の短縮が認められ、梗塞サイズや収縮帯壊死の範囲と強い相関があった³⁰⁾。過収縮は再灌流直後に惹起されるが、再灌流直前の収縮阻害剤2,3-Butanedione monoxime (BDM)投与で抑制することができ³¹⁾、収縮阻害剤による過収縮の抑制は収縮帯壊死の範囲と梗塞サイズを縮小させる³²⁾。

カルパイン活性化

カルパインは細胞内Ca²⁺要求性のシステインプロテアーゼで、様々な機能タンパク質や構造タンパク質を限定分解する³³⁾。多くの疾患への関与が明らかになっており³⁴⁾、虚血再灌流障害においても、カルパイン阻害剤が心筋梗塞サイズを縮小することが報告されている^{35,37)}。

再灌流で活性化したカルパインは細胞骨格タンパク質である α フオドリンや³⁸⁾、 α フオドリンの細胞膜裏打ちに寄与するアンキリン³⁹⁾を分解し、介在板やサルコレンマの脆弱性を高める結果、再灌流時に起こる過収縮や細胞膨化といった機械的ストレスに対する耐性を低下させる。アンキリンはNa⁺/K⁺-ATPアーゼの α サブユニットと高い親和性を持つ結合領域を持ち⁴⁰⁾、細胞膜のNa⁺/K⁺-ATPアーゼを細胞骨格の α フオドリンにアンカーさせることでポンプ活性を調節している⁴¹⁾。カルパインによる α フオドリンやアンキリンの分解によって、Na⁺/K⁺-ATPアーゼは細胞膜裏打ち構造から解離し、不活性化する⁴²⁾。Na⁺/K⁺-ATPアーゼの不活性化は上述のように、Na⁺過負荷からNCXを介したCa²⁺過負荷を引き起こすので、カルパインの活性化は細胞膜を脆弱にするだけでなく、Ca²⁺ハンドリングの変調を助長して細胞死に寄与しているようだ。さらに、虚血再灌流で活性化したカルパインはRyR⁴³⁾やSERCA⁴⁴⁾を分解することが明らかになっており、これらのタンパク質の機能不全もCa²⁺ハンドリングの変調に貢献している可能性がある。

ミトコンドリア膜透過性遷移孔の開口

ミトコンドリアの外膜と内膜の接触部位には

ミトコンドリア膜透過性遷移孔 (mitochondrial permeability transition pore: mPTP) が存在し、ミトコンドリアの外膜と内膜を貫通している。生理的条件下ではmPTPは閉口しているが、開口すると1.5 kDa以下の分子を非選択的に通過させる⁴⁵⁾。Ca²⁺はmPTP開口の主要因子で、ミトコンドリア内のCa²⁺濃度が上昇するとmPTPは開口する⁴⁶⁾。mPTPの開口はミトコンドリアの脱分極、酸化的リン酸化の脱共役、Ca²⁺などのイオンや細胞内代謝物の放出、ミトコンドリアの膨化を引き起こし、ネクロシスやアポトーシスを誘導する⁴⁷⁾。ネクロシスとアポトーシスのどちらが誘導されるかは、mPTP開口時のATP量に依存している⁴⁷⁾。

虚血再灌流障害においては、mPTPは虚血中閉口しているが、再灌流後数分で開口する⁴⁸⁾。再灌流による酸素供給の復活で、呼吸やATP合成などミトコンドリア機能は再活性化する一方、虚血によるアデニンヌクレオチドの枯渇や、再灌流による細胞内pHの急激な正常化、活性酸素種の生成、ミトコンドリアCa²⁺過負荷などによって、mPTPは開口しミトコンドリア不全を引き起こす。さらに、著者らは心筋細胞のミトコンドリアマトリックスにもカルパインが存在し、ミトコンドリアCa²⁺過負荷により活性化してmPTP開口に一部関与していることを見出している⁴⁸⁾。開口したmPTPはミトコンドリアのCa²⁺を細胞質に放出し、過収縮を加速させ⁴⁹⁾、ネクロシスへと導く。mPTPが虚血再灌流で開口することは1995年にGriffithsらがすでに明らかにしていたが⁵⁰⁾、mPTP開口が虚血再灌流障害に大きく貢献していることが明らかになったのは2002～2003年になってからである⁵¹⁾⁵²⁾。

過収縮は細胞死の原因か結果か

上述のように、収縮阻害剤BDMは再灌流時の過収縮を抑制し、心筋梗塞を防ぐ。しかしながら、BDMはミオシンATPアーゼに作用し⁵³⁾、単収縮力を抑制するだけでなく、筋小胞体からのCa²⁺放出を抑制する⁵⁴⁾ことから、過収縮が細胞死の直接原因かどうかは明らかでない。著者らは、虚血中に脱リン酸化するPLBに対する抗体を心筋に導入すると、SERCAのCa²⁺取り込みを促進し、再灌流時の収縮帯形成が抑制されることを見出した¹¹⁾。ところが、この介入では心筋梗塞サイズはむしろ拡大した。これは、SERCAの活性化によって筋小胞体に流入したCa²⁺がMCUを介してミトコンドリアに伝達し、ミトコンドリアのCa²⁺過負荷を引き起こした結果、mPTPが開口して心筋梗塞を進展させたと考えられた⁵⁵⁾。また、mPTP開口は再灌流時の細胞質Ca²⁺濃度上昇と過収縮を加速させる⁴⁹⁾ことから、現在のところ、細胞死の決定因子としてmPTPが主要な役割を担っていると考えられている⁵⁶⁾⁵⁷⁾。

さいごに

虚血再灌流において、細胞内へのCa²⁺流入が心筋の過収縮だけでなく、筋小胞体からミトコンドリアへのCa²⁺過負荷の伝達がmPTP開口を引き起こし、細胞死を導くことが明らかになった。最近、経皮的冠動脈形成術前の患者に対してmPTP阻害剤を投与する臨床研究が行われた。しかし、有意な治療効果は得られておらず⁵⁸⁾⁶⁰⁾、治療法の確立にはさらなる研究が必要である。

開示すべき潜在的利益相反状態はない。

文 献

- 1) Kloner RA, Ganote CE, Whalen Jr DA, Jennings RB. Effect of a transient period of ischemia on myocardial cells. II. Fine structure during the first few minutes of reflow. *Am J Pathol* 1974; 74: 399-422.
- 2) Bush LR, Shlafer M, Haack DW, Lucchesi BR. Time-dependent changes in canine cardiac mitochondrial function and ultrastructure resulting from coronary occlusion and reperfusion. *Basic Res Cardiol* 1980; 75: 555-571.
- 3) Anderson SE, Murphy E, Steenbergen C, London RE,

- Cala PM. Na-H exchange in myocardium: Effects of hypoxia and acidification on Na and Ca. *Am J Physiol* 1990; 259: C940-C948.
- 4) Philipson PD, Bersohn MM, Nishimoto AY. Effects of pH on Na⁺-Ca²⁺ exchange in canine cardiac sarcolemmal vesicles. *Circ Res* 1982; 50: 287-293.
 - 5) Murphy E, Perlman M, London RE, Steenbergen C. Amiloride delays the ischemia-induced rise in cytosolic free calcium. *Circ Res* 1991; 68: 1250-1258.
 - 6) Steenbergen C, Murphy E, Levy L, London RE. Elevation in cytosolic free calcium concentration early in myocardial ischemia in perfused rat heart. *Circ Res* 1987; 60: 700-707.
 - 7) Inserte J, Garcia-Dorado D, Ruiz-Meana M, Padilla F, Barrabés JA, Pina P, Agulló L, Piper HM, Soler-Soler J. Effect of inhibition of Na⁺/Ca²⁺ exchanger at the time of myocardial reperfusion on hypercontracture and cell death. *Cardiovasc Res* 2002; 55: 739-748.
 - 8) Fabiato A. Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum. *Am J Physiol* 1983; 245: C1-C14.
 - 9) Siegmund B, Schlack W, Ladilov YV, Baiser C, Michael Piper H. Halothane protects cardiomyocytes against reoxygenation-induced hypercontracture. *Circulation* 1997; 96: 4372-4379.
 - 10) Asahi M, McKenna E, Kurzydowski K, Tada M, MacLennan DH. Physical interactions between phospholamban and sarco (endo) plasmic reticulum Ca²⁺-ATPases are dissociated by elevated Ca²⁺, but not by phospholamban phosphorylation, vanadate, or thapsigargin, and are enhanced by ATP. *J Biol Chem* 2000; 275: 15034-15038.
 - 11) Shintani-Ishida K, Yoshida K. Ischemia induces phospholamban dephosphorylation via activation of calcineurin, PKC- α , and protein phosphatase 1, thereby inducing calcium overload in reperfusion. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1812: 743-751.
 - 12) Sande JB, Sjaastad I, Hoen IB, Bokenes J, Tonnessen T, Holt E, Lunde PK, Christensen G. Reduced level of serine¹⁶ phosphorylated phospholamban in the failing rat myocardium: a major contributor to reduced SERCA2 activity. *Cardiovasc Res* 2002; 53: 382-391.
 - 13) Schwinger RH, Munch G, Bolck B, Karczewski P, Krause EG, Erdmann E. Reduced Ca²⁺-sensitivity of SERCA 2a in failing human myocardium due to reduced serin-16 phospholamban phosphorylation. *J Mol Cell Cardiol* 1999; 31: 479-491.
 - 14) Kirichok Y, Krapivinsky G, Clapham DE. The mitochondrial calcium uniporter is a highly selective ion channel. *Nature* 2004; 427: 360-364.
 - 15) Hajnóczky G, Robb-Gaspers LD, Seitz MB, Thomas AP. Decoding of cytosolic calcium oscillations in the mitochondria. *Cell* 1995; 82: 415-424.
 - 16) Lu X, Ginsburg KS, Kettlewell S, Bossuyt J, Smith GL, Bers DM. Measuring local gradients of intramitochondrial [Ca²⁺] in cardiac myocytes during sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ release. *Circ Res* 2013; 112: 424-431.
 - 17) Bround MJ, Wambolt R, Luciani DS, Kulpa JE, Rodrigues B, Brownsey RW, Allard MF, Johnson JD. Cardiomyocyte ATP production, metabolic flexibility, and survival require calcium flux through cardiac ryanodine receptors in vivo. *J Biol Chem* 2013; 288: 18975-18986.
 - 18) Henry PD, Schuchleib R, Davis J, Weiss ES, Sobel BE. Myocardial contracture and accumulation of mitochondrial calcium in ischemic rabbit heart. *Am J Physiol* 1977; 233: H677-H684.
 - 19) de JG, Guerrero-Hernandez A, Guerrero-Serna G, Rodriguez-Zavala JS, Zazueta C. Inhibition of the mitochondrial calcium uniporter by the oxo-bridged dinuclear ruthenium amine complex (Ru360) prevents from irreversible injury in postischemic rat heart. *FEBS J* 2005; 272: 3477-3488.
 - 20) Rohr S. Role of gap junctions in the propagation of the cardiac action potential. *Cardiovasc Res* 2004; 62: 309-322.
 - 21) Goodenough DA, Paul DL. Beyond the gap: functions of unpaired connexon channels. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003; 4: 285-294.
 - 22) Li F, Sugishita K, Su Z, Ueda I, Barry WH. Activation of connexin-43 hemichannels can elevate [Ca²⁺] i and [Na⁺] i in rabbit ventricular myocytes during metabolic inhibition. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33: 2145-2155.
 - 23) Zhao HB, Yu N, Fleming CR. Gap junctional hemichannel-mediated ATP release and hearing controls in the inner ear. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 18724-18729.
 - 24) Bruzzone S, Guida L, Zocchi E, Franco L, De FA. Connexin 43 hemi channels mediate Ca²⁺-regulated transmembrane NAD⁺ fluxes in intact cells. *FASEB J* 2001; 15: 10-12.
 - 25) De VE, Decrock E, Cabooter L, Dubyak GR, Naus CC, Evans WH, Leybaert L. Intracellular calcium changes trigger connexin 32 hemichannel opening.

- EMBO J 2006; 25: 34-44.
- 26) Shintani-Ishida K, Uemura K, Yoshida K. Hemichannels in cardiomyocytes open transiently during ischemia and contribute to reperfusion injury following brief ischemia. *Am J Physiol* 2007; 293: H1714-H1720.
 - 27) Miyazaki S, Fujiwara H, Onodera T, Kihara Y, Matsuda M, Wu DJ, Nakamura Y, Kumada T, Sasayama S, Kawai C. Quantitative analysis of contraction band and coagulation necrosis after ischemia and reperfusion in the porcine heart. *Circulation* 1987; 75: 1074-1082.
 - 28) Solares J, Garcia-Dorado D, Oliveras J, Gonzalez MA, Ruiz-Meana M, Barrabes JA, Gonzalez-Bravo C, Soler-Soler J. Contraction band necrosis at the lateral borders of the area at risk in reperfused infarcts. Observations in a pig model of in situ coronary occlusion. *Virchows Arch* 1995; 426: 393-399.
 - 29) Frank JS, Brady AJ, Farnsworth S, Mottino G. Ultrastructure and function of isolated myocytes after calcium depletion and repletion. *Am J Physiol* 1986; 250: H265-H275.
 - 30) Barrabés JA, Garcia-Dorado D, Ruiz-Meana M, Piper HM, Solares J, González MA, Oliveras J, Herrejón MP, Soler Soler J. Myocardial segment shrinkage during coronary reperfusion in situ - Relation to hypercontracture and myocardial necrosis. *Pfluegers Arch* 1996; 431: 519-526.
 - 31) Siegmund B, Kliez T, Schwartz P, Piper HM. Temporary contractile blockade prevents hypercontracture in anoxic-reoxygenated cardiomyocytes. *Am J Physiol* 1991; 260: H426-H435.
 - 32) Garcia-Dorado D, Theroux P, Duran JM, Solares J, Alonso J, Sanz E, Munoz R, Elizaga J, Botas J, Fernandez-Aviles F. Selective inhibition of the contractile apparatus. A new approach to modification of infarct size, infarct composition, and infarct geometry during coronary artery occlusion and reperfusion. *Circulation* 1992; 85: 1160-1174.
 - 33) Suzuki K, Imajoh S, Emori Y, Kawasaki H, Minami Y, Ohno S. Calcium-activated neutral protease and its endogenous inhibitor Activation at the cell membrane and biological function. *FEBS Letters* 1987; 220: 271-277.
 - 34) Vanderklish PW, Bahr BA. The pathogenic activation of calpain: A marker and mediator of cellular toxicity and disease states. *Int J Exp Pathol* 2000; 81: 323-339.
 - 35) Iwamoto H, Miura T, Okamura T, Shirakawa K, Iwatate M, Kawamura S, Tatsuno H, Ikeda Y, Matsuzaki M. Calpain inhibitor-1 reduces infarct size and DNA fragmentation of myocardium in ischemic/reperfused rat heart. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999; 33: 580-586.
 - 36) Khalil PN, Neuhof C, Huss R, Pollhammer M, Khalil MN, Neuhof H, Fritz H, Siebeck M. Calpain inhibition reduces infarct size and improves global hemodynamics and left ventricular contractility in a porcine myocardial ischemia/reperfusion model. *Eur J Pharmacol* 2005; 528: 124-131.
 - 37) Yoshikawa Y, Zhang G, Obata K, Ohga Y, Matsuyoshi H, Taniguchi S, Takaki M. Cardioprotective effects of a novel calpain inhibitor SNJ-1945 for reperfusion injury after cardioplegic cardiac arrest. *Am J Physiol* 2010; 298: H643-H651.
 - 38) Yoshida K, Inui M, Harada K, Saïdo TC, Sorimachi Y, Ishihara T, Kawashima S, Sobue K. Reperfusion of rat heart after brief ischemia induces proteolysis of calpectin (nonerythroid spectrin or fodrin) by calpain. *Circ Res* 1995; 77: 603-610.
 - 39) Yoshida K, Harada K. Proteolysis of erythrocyte-type and brain-type ankyrins in rat heart after postischemic reperfusion. *J Biochem* 1997; 122: 279-285.
 - 40) Jordan C, Püschel B, Koob R, Drenckhahn D. Identification of a binding motif for ankyrin on the α -subunit of Na^+ , K^+ -ATPase. *J Biol Chem* 1995; 270: 29971-29975.
 - 41) Rubtsov AM, Lopina OD. Ankyrins. *FEBS Letters* 2000; 482: 1-5.
 - 42) Inerte J, Garcia-Dorado D, Hernando V, Soler-Soler J. Calpain-mediated impairment of Na^+/K^+ -ATPase activity during early reperfusion contributes to cell death after myocardial ischemia. *Circ Res* 2005; 97: 465-473.
 - 43) Pedrozo Z, Sánchez G, Torrealba N, Valenzuela R, Fernández C, Hidalgo C, Lavandero S, Donoso P. Author information Calpains and proteasomes mediate degradation of ryanodine receptors in a model of cardiac ischemic reperfusion, *Biochim Biophys Acta* 2010; 1802: 356-362.
 - 44) French JP, Quindry JC, Falk DJ, Staib JL, Lee Y, Wang KKW, Powers SK. Ischemia-reperfusion-induced calpain activation and SERCA2a degradation are attenuated by exercise training and calpain inhibition. *Am J Physiol* 2006; 290: H128-H136.
 - 45) Haworth RA, Hunter DR. The Ca^{2+} -induced membrane transition in mitochondria. II. Nature of the Ca^{2+}

- trigger site. Arch Biochem Biophys 1979; 195: 460-467.
- 46) Hunter DR, Haworth RA, Southard JH. Relationship between configuration, function, and permeability in calcium treated mitochondria. J Biol Chem 1976; 251: 5069-5077.
- 47) Lemasters JJ, Nieminen A, Qian T, Trost LC, Elmore SP, Nishimura Y, Crowe RA, Cascio WE, Bradham CA, Brenner DA, Herman B. The mitochondrial permeability transition in cell death: A common mechanism in necrosis, apoptosis and autophagy. Biochim Biophys Acta 1998; 1366: 177-196.
- 48) Shintani-Ishida K, Yoshida K. Mitochondrial m-calpain opens the mitochondrial permeability transition pore in ischemia-reperfusion. Int J Cardiol 2015; 197: 26-32.
- 49) Ruiz-Meana M, Abellan A, Miro-Casas E, Garcia-Dorado D. Opening of mitochondrial permeability transition pore induces hypercontracture in Ca^{2+} overloaded cardiac myocytes. Basic Res Cardiol 2007; 102: 542-552.
- 50) Griffiths EJ, Halestrap AP. Mitochondrial non-specific pores remain closed during cardiac ischaemia, but open upon reperfusion. Biochem J 1995; 307: 93-98.
- 51) Hausenloy DJ, Maddock HL, Baxter GF, Yellon DM. Inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening: A new paradigm for myocardial preconditioning? Cardiovasc Res 2002; 55: 534-543.
- 52) Javadov SA, Clarke S, Das M, Griffiths EJ, Lim KHH, Halestrap AP. Ischaemic preconditioning inhibits opening of mitochondrial permeability transition pores in the reperfused rat heart. J Physiol 2003; 549: 513-524.
- 53) Higuchi H, Takemori S. Butanedione monoxime suppresses contraction and ATPase activity of rabbit skeletal muscle. J Biochem 1989; 105: 638-643.
- 54) Gwathmey JK, Hajjar RJ, Solaro RJ. Contractile deactivation and uncoupling of crossbridges. Effects of 2,3-butanedione monoxime on mammalian myocardium. Circ Res 1991; 69: 1280-1292.
- 55) Shintani-Ishida K, Inui M, Yoshida K. Ischemia-reperfusion induces myocardial infarction through mitochondrial Ca^{2+} overload. J Mol Cell Cardiol 2012; 53: 233-239.
- 56) Zoratti M, Szabò I. The mitochondrial permeability transition. Biochim Biophys Acta 1995; 1241: 139-176.
- 57) Crompton M. The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. Biochem J 1999; 341: 233-249.
- 58) Cung T, Morel O, Cayla G, Rioufol G, Garcia-Dorado D, Angoulvant D, Bonnefoy-Cudraz E, Guérin P, Elbaz M, Delarche N, Coste P, Vanzetto G, Metge M, Aupetit J, Jouve B, Motreff P, Tron C, Labeque J, Steg PG, Cottin Y, Range G, Clerc J, Claeys MJ, Coussement P, Prunier F, Moulin F, Roth O, Belle L, Dubois P, Barragan P, Gilard M, Piot C, Colin P, De Poli F, Morice M, Ider O, Dubois-Randé J, Untersee T, Le Breton H, Béard T, Blanchard D, Grollier G, Malquarti V, Staat P, Sudre A, Elmer E, Hansson MJ, Bergerot C, Boussaha I, Jossan C, Derumeaux G, Mewton N, Ovize M. Cyclosporine before PCI in patients with acute myocardial infarction. N Engl J Med 2015; 373: 1021-1031.
- 59) Atar D, Arheden H, Berdeaux A, Bonnet J, Carlsson M, Clemmensen P, Cuvier V, Danchin N, Dubois-Randé J, Engblom H, Erlinge D, Firat H, Halvorsen S, SteenHansen H, Hauke W, Heiberg E, Koul S, Larsen A, Le Corvoisier P, Nordrehaug JE, Paganelli F, Pruss RM, Rousseau H, Schaller S, Sonou G, Tuseth V, Veys J, Vicaut E, Jensen SE. Effect of intravenous TRO40303 as an adjunct to primary percutaneous coronary intervention for acute ST-elevation myocardial infarction: MITOCARE study results. Eur Heart J 2015; 36: 112-119.
- 60) Ottani F, Latini R, Staszewsky L, La Vecchia L, Locuratolo N, Sicuro M, Masson S, Barlera S, Milani V, Lombardi M, Costalunga A, Mollicelli N, Santarelli A, De Cesare N, Sganzerla P, Boi A, Maggioni AP, Limbruno U. Cyclosporine A in Reperfused Myocardial Infarction the Multicenter, Controlled, Open-Label CYCLE Trial. J Am Coll Cardiol 2016; 67: 365-374.

著者プロフィール



新谷 香 Kaori Shintani-Ishida

所属・職：京都府立医科大学大学院医学研究科法医学・准教授

略 歴：1995年3月 大阪市立大学大学院理学系研究科前期博士課程修了

1995年4月 大阪市立大学大学院医学研究科法医学教室・技術職員

2002年7月 東京大学大学院医学系研究科法医学・医療情報経済学講座・助手

2007年4月 東京大学大学院医学系研究科法医学・医療情報経済学講座・助教

2009年10月 東京大学大学院医学系研究科法医学・医療情報経済学講座・講師

2014年4月～現職

専門分野：法医学（病態生理学，法中毒学，法医血清・DNA学）

- 主な業績：1. [Shintani-Ishida K](#), Nakajima M, Uemura K, Yoshida K. Ischemic preconditioning protects cardiomyocytes against ischemic injury by inducing GRP78. *Biochem Biophys Res Commun*, **345**: 1600-1605, 2006.
2. [Shintani-Ishida K](#), Uemura K, Yoshida K. Hemichannels in cardiomyocytes open transiently during ischemia and contribute to reperfusion injury following brief ischemia. *Am J Physiol*, **293**: H1714-H1720, 2007.
3. [Shintani-Ishida K](#), Zhu BL, Maeda H, Uemura K, Yoshida K. A new method for ABO genotyping to avoid discrepancy between genetic and serological determinations. *Int J Legal Med*, **122**: 7-9, 2008.
4. [Shintani-Ishida K](#), Unuma K, Yoshida K. Ischemia enhances translocation of connexin43 and gap junction intercellular communication, thereby propagating contraction band necrosis after reperfusion. *Circ J*, **73**: 1661-1668, 2009.
5. [Shintani-Ishida K](#), Harada K, Nakajima M, Yoshida K. Usefulness of blood vessels as a DNA source for PCR-based genotyping based on two cases of corpse dismemberment. *Legal Med*, **12**: 8-12, 2010.
6. [Shintani-Ishida K](#), Yoshida K. Ischemia induces phospholamban dephosphorylation via activation of calcineurin, PKC- α , and protein phosphatase 1, thereby inducing calcium overload in reperfusion. *Biochim Biophys Acta*, **1812**: 743-751, 2011.
7. [Shintani-Ishida K](#), Inui M, Yoshida K. Ischemia-reperfusion induces myocardial infarction through mitochondrial Ca^{2+} overload. *J Mol Cell Cardiol*, **53**: 233-239, 2012.
8. [Shintani-Ishida K](#), Saka K, Yamaguchi K, Hayashida M, Nagai H, Takemura G, Yoshida K. MDMA induces cardiac contractile dysfunction through autophagy. *Biochim Biophys Acta*, **1842**: 691-700, 2014.
9. [Shintani-Ishida K](#), Nakamura M, Tojo M, Idota N, Ikegaya H. Identification and quantification of 4'-methoxy- α -pyrrolidinobutphenone (4-MeOPBP) in human plasma and urine using LC - TOF-MS in an autopsy case. *Forensic Toxicol*, **33**: 348-354, 2015.
10. [Shintani-Ishida K](#), Yoshida K. Mitochondrial m-calpain opens the mitochondrial permeability transition pore in ischemia-reperfusion. *Int J Cardiol*, **197**: 26-32, 2015.
11. [Shintani-Ishida K](#), Kakiuchi Y, Ikegaya H. Successful quantification of 4'-methyl- α -pyrrolidino-hexanophenone (MPHP) in human urine using LC - TOF-MS in an autopsy case. *Forensic Toxicol*, **34**: 398-402, 2016.
12. [Shintani-Ishida K](#), Saka K, Nakamura M, Yoshida K, Ikegaya H. Experimental study on the postmortem redistribution of the substituted phenethylamine, 25B-NBOMe. *J Forensic Sci*, **63**: 588-591, 2018.