

心力学的エネルギー学的性質と カルシウムハンドリングタンパク

奈良県立医科大学医学部医学科生理学第二講座・分子病理学講座 高木 都

(1) 背景

【Emax】菅 弘之博士は、ジョーンズ・ホプキンス大学佐川喜一教授のもとでの留学中に、イヌ摘出心臓の交叉灌流標本において、拍動する心臓の左心室圧を、左心室容積を生理的な範囲内で変えて計測し、左心室の収縮期末圧—容積関係を求めると直線を示すことを明らかにした。もちろん、生理的な範囲を超えた過大な容積を負荷すると曲線を示すようになり、不全心の場合も、同様に曲線を示すようになる。

この収縮期末圧—容積直線関係 (End-Systolic Pressure-Volume Linear Relation) は心臓の収縮様式 (非駆出等容積収縮または駆出収縮) によっても変わらず、その傾き Emax (Maximal Elastance; 最大容積弾性率) は、容積負荷に依存せず、一定の収縮性のもとでは一定である [1]。

心臓を機械的無負荷状態での左心室容積 (V_0) を支点とする可変弾性 (バネ) モデルと考えると、その弾性は時間の関数 $E(t)$ として表される。 $E(t)$ は、収縮期末に最大値をとるので Emax と定義された。Emax が提唱される前には、様々な収縮性の指標 (V_{max} , $+dp/dt_{max}$ など) が提唱されてきたが、菅のこの収縮性の指標としての Emax は、それらを凌駕するものとなった。陽性変力作用では Emax は大きくなり、陰性変力作用では Emax は小さくなる。

【PVA】収縮期末圧—容積面積 (systolic Pressure-Volume Area) で、心臓が一心拍でなす機械的仕事 (総機械エネルギー) を表す。等容積収縮時には、 V_0 を支点とする収縮期末圧—容積関係直線と任意の左心室容積 (V) における圧—容積

軌跡で囲まれた直角三角形の面積が PVA (= Potential energy) となり、駆出収縮時には、この面積 (= Potential energy) と外的仕事である圧—容積ループで囲まれる面積との総和が PVA となる (図 1)。

【 VO_2 】心筋エネルギーの 90-95% は、脂肪酸、ブドウ糖、乳酸などの酸化的リン酸化によって産生される ATP によって供給される。そのため 100 g 心筋は安静時に約 10ml/min の酸素を摂取する。したがって、酸素が十分に供給され、嫌気性代謝が起こらない正常な心臓であれば、心筋酸素消費量は心筋のエネルギー代謝を正確に示すことになる。 VO_2 は、一心拍あたりの心筋酸素消費量 (1 分間あたりの心筋酸素消費量を求め 1 分間あたりの心拍数で除する) を表す。

【 VO_2 -PVA 関係】左心室容積を生理的な範囲内で変えて得られる VO_2 を Y-軸にプロットし、PVA を X-軸にプロットすると直線関係を示す。この直線の傾きの逆数は、理論的には ATP という化学エネルギーを PVA という機械的仕事に変換する収縮効率 (30-50% 程度) と菅は提唱していたが [1]、実験的には収縮効率を表すと考えると矛盾する結果も得られたことから、そのような場合には、この直線の傾きを PVA の酸素コストとすることを高木は提唱した [2,3]。

(2) 歴史的展開：イヌからラット心臓へ

【ESPVR】イヌ摘出心臓は、収縮期末圧—容積直線関係 (End-Systolic Pressure-Volume Linear Relation) を示すが、それは生理的な左心室容積の範囲内であり、それを超えると曲線を示すようにな

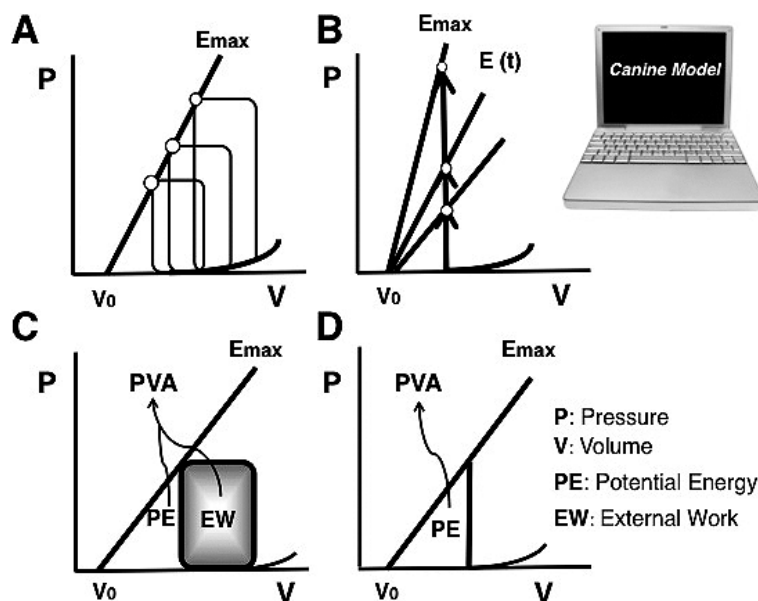


図1. イヌ心臓における左心室圧—容積関係 (A, B) と機械的仕事 (C, D)
 詳しい説明は本文を参照.

る。また、子犬の心臓、さらにカテコールアミンなどで収縮性が非常に亢進すると上に凸の曲線になる。虚血になっても下に凸の曲線になる。そもそもスターリングの法則を見いだしたカエル心臓においても収縮期末圧—容積関係は上に凸の曲線を示している。

このような背景から、むしろイヌ摘出心臓の収縮期末圧—容積直線関係は、様々な条件を満たした上での一種の特殊解であって、一般解は曲線であるのかもしれないと思うようになった。実際、ラット正常心臓の収縮期末圧—容積関係 (End-Systolic Pressure-Volume Relation ; ESPVR) は、生理的な左心室容積の範囲内でも上に凸の曲線を示している [4]。マウスも同様である [3]。そこで、新たな収縮性の指標を展開する必要性が求められた。

【VO₂-PVA】一方、ラット心臓の VO₂-PVA 関係は、勾配はイヌ心臓に比べるとやや小さい値を示すが、直線を示す。すなわち曲線を示す ESPVR からイヌ心臓と同様に VO₂-PVA 関係直線を得ることができた [5] (図2)。

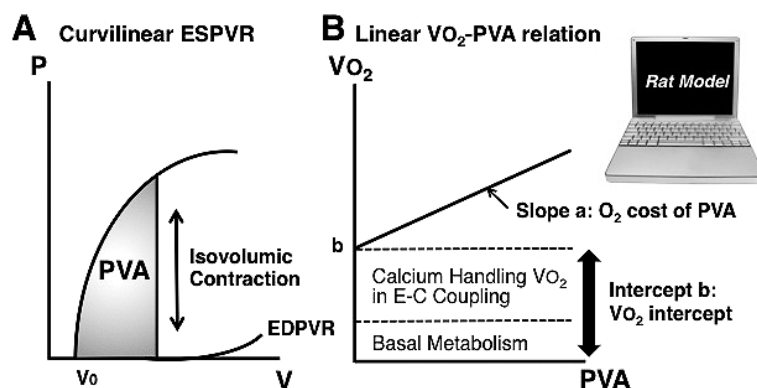
【eEmax】そこで、新たな収縮性の指標として、PVA という機械の仕事に等しい (equivalent) 面積の直角三角形を想定し、その三角形の傾きを equivalent (to PVA) maximal elastance, eEmax として提唱した [3, 6]。さらに、この eEmax は Emax とことなり幾分容積負荷依存性があるので、生理的な左心室容積の範囲内で、ほぼ中程度の左心室容積 (midrange left ventricular volume : mL_{LVV}) における eEmax_{mL_{LVV}} を新たな収縮性の指標として提唱した [3, 6]。

(3) ラット心臓における心力学的・エネルギー学的心機能評価とカルシウムハンドリングタンパクの役割の重要性

(A) 基本的な概念

ESPVR-PVA-VO₂-eEmax の枠組みによる心力学的・エネルギー学的心機能評価

ラット摘出心臓を血液交叉灌流系にのせて等容積収縮を行わせ、左心室圧、左心室容積、冠循環における冠灌流量と動静脈酸素濃度較差を測定する。これらのデータから ESPVR-PVA-VO₂ が求ま



ESPVR-PVA-VO₂ framework

図2. ラット心臓における左心室圧-容積曲線関係 (A) と一心拍あたりの心筋酸素消費量 (VO₂) と一心拍あたりの総機械エネルギー (PVA) の直線関係 (B)
 詳しい説明は本文を参照

る (図2). ESPVR と弛緩期末圧容積関係 (End-Diastolic Pressure-Volume Relation ; EDPVR) は指数関数で表し, V_0 から任意の左心室容積までの各積分値の差を求め, PVA とする. ESP_{mLVV} および PVA_{mLVV} は, 生理的な左心室容積の範囲内で, ほぼ中程度の容積 (mLVV) における ESP, PVA となる. VO_2 は, 冠灌流量と動静脈酸素濃度較差の積をペーシングレートで除して算出される. VO_2 -PVA 直線関係の VO_2 切片は, 機械的無負荷状態の一心拍あたりの心筋酸素消費量を表す. この心筋酸素消費量は, 興奮収縮連関に要する酸素消費と基礎代謝から構成される. VO_2 -PVA 直線関係の傾きは PVA の酸素コストを表す (図2). また, 収縮性を変化させたときの eE_{max} と興奮収縮連関に要する酸素消費量との関係直線の傾きは, 収縮性の酸素コストを表す [6, 7]. 収縮性の酸素コストは, 小さいほど心臓はエネルギー節約型になり, 心不全の治療にとっては理想的である (図3).

心拍数と ESPVR-PVA-VO₂- eE_{max} の枠組み

ESPVR-PVA-VO₂- eE_{max} の枠組みと心拍数の関係を検討するために, 240 beats per minute (bpm) と 300bpm でペーシングして比較したが, 正常心では, すべての心力学的・エネルギー学的

パラメータに差異はみられなかった [8]. この結果は, ラット左心室壁の X 線回折像によるリアルタイムでナノレベルのクロスブリッジ動態の解析をして得られた「収縮期末のクロスブリッジ形成度に 240bpm と 300bpm のペーシングで差異はみられない」という結果とよく一致している [9].

(B) カルシウムハンドリングタンパクの役割

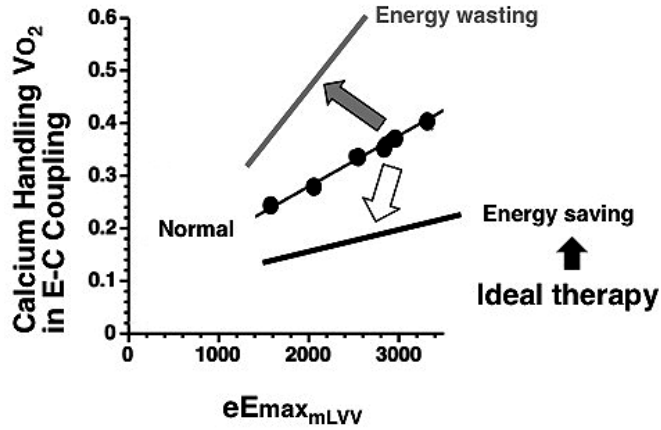
PVA 依存性の心筋酸素消費と PVA 非依存性の心筋酸素消費

拍動する心臓のエネルギー消費は, その機械的仕事に依存する (PVA 依存性の) 心筋酸素消費とその機械的仕事に依存しない (PVA 非依存性の) 心筋酸素消費で構成される. 前者はクロスブリッジサイクリングのためミオシン ATP アーゼにより使用され, 後者は興奮収縮連関におけるカルシウム取り扱いのためカルシウムハンドリングタンパクと基礎代謝により使用される (図4).

カルシウムハンドリングタンパクの役割

細胞膜の脱分極により L-型カルシウムチャネルから細胞内へ流入したカルシウムは筋小胞体のリアノジン受容体からの大量のカルシウム放出を促し, トロポニン C と結合してクロスブリッジの形成を促す. クロスブリッジの解離時にトロポニ

Slope: Oxygen cost of $eE_{max_{mLVV}}$



**Oxygen cost of $eE_{max_{mLVV}}$
= Ca^{2+} handling energy expenditure / LV contractility**

図3. ラット心臓における収縮性 ($eE_{max_{mLVV}}$) の酸素コスト
詳しい説明は本文を参照

PVA-dependent VO_2 : cross bridge cycling energy expenditure

Myosin ATPase

PVA-independent VO_2 : Ca^{2+} handling energy expenditure

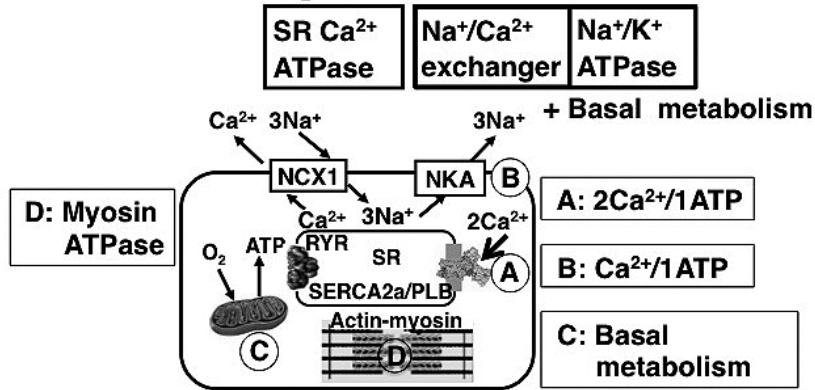


図4. ラット心臓におけるPVA-依存性の酸素消費とPVA-非依存性の酸素消費についての模式図
詳しい説明は本文を参照

ンCから離れたカルシウムは、ラット心室筋細胞ではほぼ80%以上の割合で筋小胞体のカルシウムポンプ (SERCA2a) によって1ATPで2個のカ

ルシウムが取り込まれる (図4A)。残りほぼ20%は細胞膜に存在するナトリウム-カルシウム交換体 (NCX1) により細胞外へ流出される。この時、

Possible mechanism for the transiently increased E-C coupling VO_2 after ischemic-reperfusion (IR)

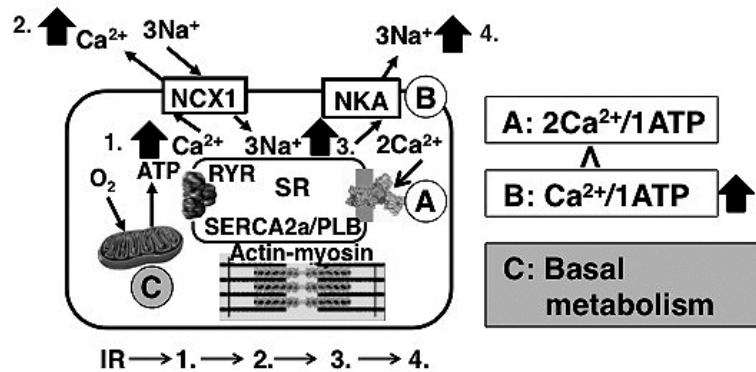


図5. 虚血再灌流 (IR) 時の一過性の興奮収縮連関における心筋酸素消費量の増加が起こるメカニズム
 1→4の順番に細胞内のイオンが動いてBの過程がAの過程よりも優勢に起こった結果、一過性の興奮収縮連関における心筋酸素消費量の増加が起こる。
 詳しい説明は本文参照。

代わりにナトリウムが流入し、ナトリウムはナトリウム-カリウムポンプ (NKA) によって1ATPで1個のカルシウムが細胞外へ排出される (図4 B)。SERCA2aはフォスフォランパン (PLB) のリン酸化によってその活性が制御されている。心臓の弛緩機能においてSERCA2aは極めて重要な役割を果たしている [3, 10, 11-13]。

(C) カルシウムハンドリング障害による不全心モデルの心学的・エネルギー学的心機能評価—カルシウムハンドリング障害はどのようにして起こるか？

虚血後再灌流障害による急性不全心モデル
 冠灌流の途絶による15分間の虚血後の再灌流60分後では、ESPVRは下方にシフトし、ESP_{mLV}とPVA_{mLV}は有意に減少し、各容積負荷でのVO₂-PVAデータは右斜め下方にシフトし、VO₂-PVA関係直線は下方に平行移動しVO₂切片は有意に減少した。心機能の低下を示している[14]。この時、カルシウム依存性中性プロテアーゼ、カルパインの基質で細胞骨格タンパクであるフォドリンの分解が有意に促進された。正常時には細胞膜の内側に分布しているフォドリンが分解して細胞質

全体に広がっている[14]。これらがすべて、カルパインの阻害剤によって抑制されたことから、このモデルの心機能の低下は、カルパインの活性化によるカルシウムハンドリング障害の結果起こったと想定される。(詳細なメカニズムは後述)

虚血後再灌流開始時に起こる一過性のカルシウムハンドリング異常

虚血後再灌流を開始してから5-20分後まで、PVA-非依存性のVO₂のうち興奮収縮連関におけるカルシウムハンドリングに要する酸素消費量が一過性に増加する[14, 15]。この増加は、NCX1阻害剤であるKB-R7943により完全にブロックされたことから、細胞内カルシウムの蓄積によりフォワードモードのNCX1がまず活性化されてカルシウムが細胞外へ流出され、代わりに細胞内へ流入してきたナトリウムによってNKAが活性化されるBの過程が、SERCA2aによるAの過程よりも優勢に起こった結果と考えられる[15](図5)。

(4) カルシウムハンドリング障害による不全心の心機能回復に向けての試み

(A) 遺伝子導入による急性不全心の心機能回復

高濃度カルシウムの冠動脈注入による急性不全心モデルを作成し、心力学的・エネルギー学的心機能評価を行い、カルシウムハンドリング障害による心機能障害が起こっていることを明らかにした[16]。このモデルでは、細胞内カルシウムの過負荷により、カルパインが活性化されるが、カルパインの基質の中で、L-型カルシウムチャンネルとリンクして、その活性を支える細胞骨格タンパクであるフォドリンのみが分解されている [16]。

アデノウイルスベクターを使ってアンチセンス PLB 遺伝子を新開発のバルーンによる経皮的動脈閉塞法を使って導入し、5-7 日経過後再び高濃度カルシウムの冠動脈注入による急性不全心モデルを作成し、心力学的・エネルギー学的心機能評価を行ったところ、心機能障害はほぼ完全に抑制された [17]。

この時、減少した VO_2 切片は正常レベルまで回復し、SERCA2a タンパクの発現レベルは変わらないで、PLB タンパクの発現レベルは有意に抑制されていた。SERCA2a の機能が亢進されることによって、細胞内カルシウムの過負荷が阻止された結果、カルパインの活性化が抑制され、フォドリン分解が 35% 抑制された。L-型カルシウムチャンネルとリンクしたフォドリンの分解が抑制されたので、L-型カルシウムチャンネルを介するカルシウム流入障害が阻止された結果、細胞内のトータルカルシウムハンドリングが回復して心機能障害が回復したと考えられる [17]。

(B) 遺伝子導入による慢性不全心の心機能回復

腹大動脈と下大静脈の間にシャントを作って 12 週間経過すると容積過負荷による遠心性の心肥大モデルが形成される [18]。このモデルでは、ESPVR は下方にシフトし、 VO_2 -PVA 関係直線は下方に平行移動し、 VO_2 切片は有意の減少を示し、心機能の低下が起こった。また、収縮性の酸素コストは高くなっているが、これは、心筋のカルシ

ウム感受性が低下している可能性がある [18]。

このモデルで、SERCA2a 遺伝子をアデノアソシエートウイルス 9 型ベクターでラット尾静脈から導入すると、SERCA2a タンパクの発現レベルは有意に回復し、この効果は数ヶ月持続した。この時に心機能評価を行うと、下方にシフトした ESPVR と下方に平行移動した VO_2 -PVA 関係直線は、共に偽手術をしたコントロールとほぼ同様のレベルに回復し、収縮性の酸素コストも小さくなり偽手術をしたコントロールとほぼ同様の値を示した。SERCA2a 遺伝子の導入により、SERCA2a タンパクの発現レベルをもとに戻し、その機能を回復させることによって、容積過負荷による慢性不全心の心機能を回復させることができた [19]。

(C) トランスジェニックラットにおける SERCA2a タンパク長期過剰発現による心力学的・エネルギー学的性質の変化

これまで心力学的・エネルギー学的研究に使用してきたウイスターラットの SERCA2a トランスジェニックラット (TG) を初めて作成し、SERCA2a タンパク長期過剰発現による心力学的・エネルギー学的性質の変化を 300bpm でペーシングを行って検討した。SERCA2a TG は、Vetter および Dillmann 博士から譲渡を受けたラット SERCA2a cDNA コンストラクト [11] を導入した受精卵(自然科学研究機構生理学研究所平林、富田博士により作成) から生まれたラットを交配して作成した [12]。

SERCA2a TG の SERCA2a タンパク発現量とリン酸化 PLB (p-PLB) と PLB の比率は、野生型 (WT) に比べて有意に増加していた。PLB タンパク発現量は一部の SERCA2a TG で有意に減少していたが、原因は不明である。

ESPVR は一部の TG で上方にシフトしていたが、残りの TG では予測と反して WT と変わらなかった。収縮機能は一部の TG では亢進していたが、ほかの TG では変わらなかった。しかし、 VO_2 -PVA 関係直線の傾き (PVA の酸素コスト) は WT に比べて有意に小さく、ATP の機械的仕事へのエネルギー変換効率は良くなっていた [12]。一心拍

あたりの心筋酸素消費量を示した VO_2 切片の値は、やや増加傾向を示したのみであるが、1 分間あたりの心筋酸素消費量で示した興奮収縮連関における酸素消費量の値は、TG では予測通り WT に比べて有意に大きい値を示した。このことは SERCA2a タンパクの発現量が増えているのみならず、SERCA2a 機能が亢進していることを示している [12]。総合的な収縮性の酸素コストは、300 bpm ペーシング下では、TG と WT で有意差はなかった [12]。

次にカルシウム耐容能を調べるために、カルシウム溶液の冠動脈注入を行い、 ESP_{mLVV} の変化を測定した。カルシウム過負荷により ESP_{mLVV} が下降し始めた時のカルシウム濃度は、TG では有意に高濃度を示し、カルシウム耐容能の亢進が認められた [12]。

このことは、カルシウム過負荷状態で膨張したミトコンドリアが TG では認められなかったという電顕的観察により、形態的にも確認された [12]。

(D) 心不全モデル TG における SERCA2a タンパク長期発現による心力学的・エネルギー学的性質の変化

正常な心機能を有する TG では、SERCA2a タンパク長期発現による有益な効果はそれほど目覚ましいものではなかった。そこで、SERCA2a タンパク発現が抑制されている心不全モデル TG ではもう少し有益な効果が期待できるのではと考えて心不全モデル TG での検討を進めた。対象とした心不全モデルは、交感神経が過剰に働いた状態を想定した β 刺激薬のイソプロテレノールを持続的に作用させた求心性心肥大をとまなう心不全モデルである。この不全心モデルについては、生体位心、血液交叉灌流摘出心、心筋スライス標本などで詳細な研究結果を報告している [20–25]。

実験は、ミニオスモポンプを頸部に埋め込んでイソプロテレノールを持続的に 1 週間 (1w) と 4 週間投与して作成した心肥大不全心モデル (4w) を対象とした。1 週間投与では代償性の心肥大モデルなので収縮不全は示さないが、弛緩不全を示すので 240bpm でペーシングを行った。4 週間投与 (WT-4w) では、弛緩不全のみならず

ESPVR は下方にシフトして収縮不全を呈する。

WT と TG で 6 群 (WT Control, WT-1w, WT-4w, TG Control, TG-1w, TG-4w) の心機能を比較すると、 ESP_{mLVV} と PVA_{mLVV} は共に WT-4w で WT Control よりも有意に小さく、TG-4w では有意に回復して WT Control と同じレベルの値を示した。すなわち、収縮機能と機械的仕事量は WT-4w で減少するが TG-4w ではそれらが正常に回復したということである [13]。

驚いたことに、240bpm でペーシングを行うと、WT-4w では各容積負荷における VO_2 -PVA 値はほかの群と比べて狭い範囲内に分布していたが、 VO_2 -PVA 関係直線は 6 群でほぼ同じ傾きと VO_2 切片の値を示した (VO_2 -PVA 関係のロバスト性!)。しかし、収縮性の酸素コストは、正常心では、TG と WT で有意差はなかったが、TG-4w の不全心モデルでは、収縮性の酸素コストはほかの群と比べて有意に小さい値を示した。これは単位収縮性変化あたりの興奮収縮連関に要する酸素消費量が少ないことを示しており、持続的な SERCA2a タンパク発現の亢進がエネルギー学的にみて有益に働いていることを示している [13]。

このメカニズムはまだわからないが、心筋の酸素消費量より ATP 産生量が優勢を示していることが関係しているかもしれない。すなわち、SERCA2a/PLB の比率の低下を示した WT-4w と比較すると TG-4w は有意な増加を示しているが、それ以外の群と比べると決して増加はしていない。ほぼ同じレベルである。SERCA2a/PLB の比率が SERCA2a の活性を示すとすると、心筋の酸素消費量は決して増加はしていないことを表す。さらに、ミトコンドリアの ATP 産生酵素のミトコンドリア転写因子 A (Mitochondrial Transcription Factor A : TFAM) は、NCX1 で標準化した比率を比較すると TG 群では全群で有意に大きな値を示している [13]。従って、TG-4w でも ATP の産生が有意に増加している可能性が高い (まだ測定はしていないが)。以上から、TG-4w において心筋の酸素消費量より ATP 産生量が優勢を示していると推定される。ATP 濃度の増加に伴う拡散速度の上昇なども関与しているかもしれない。

この SERCA2a タンパク発現が抑制されている心不全モデルでは弛緩機能も障害されている。原子間力顕微鏡で垂直方向の心筋細胞のステップネスを調べると WT-1w では上昇していた [26]。これは残存するクロスブリッジの増加による [26]。また、コラーゲン産生の増加も WT-1w, WT-4w, TG-1w, TG-4w でみられ、TG にすることによってコラーゲン産生の抑制は起こっていない。にもかかわらず、ロジスティック時定数で評価した弛緩機能 [27] は、TG-1w, TG-4w で改善していた。これは、SERCA2a 機能の亢進によると思われる。

以上の結果より、心不全モデル TG における長期的 SERCA2a タンパク過剰発現の効果は正常心 TG に比べてより有益であると結論される。

(5) まとめ

左心室圧—容積関係ならびに 1 心拍あたりの心筋酸素消費量と左心室圧—容積面積関係は、多様なスケール (DNA から個体レベルまで) の、多様な物理的過程 (心筋細胞膜の脱分極、カルシウムハンドリング、クロスブリッジサイクリング、ミトコンドリアの酸化リン酸化など) の心血管系科学を統合する主要な枠組みであり続けると確信している。

さらに、カルシウムハンドリングタンパクの中でも【SERCA2a タンパクは、心臓が正常に拍動するための鍵を握る分子である】ということ了我々の研究によって心力学的・エネルギー学的見地から明らかにすることができた。

(6) 今後の展開

全心臓標本におけるカルシウムハンドリングの直接計測とメカノエナジェティクスの同時計測、心筋スライス標本におけるカルシウムハンドリングの直接計測とメカノエナジェティクスの同時計測を成功させれば、機械的負荷状態と無負荷状態のあらゆる負荷状態におけるカルシウム動態と心臓の力学的・エネルギー学的性質の関係を明らかにすることができる。

遺伝的カルシウムセンサー (GCaMP) のトラン

スジェニックラットはすでに作成できているので、いくつかの関門をクリアすればこれらの研究の成功へとつながる可能性は高い。

また、SERCA2a と GCaMP のダブルトランスジェニックラットを作成すれば、SERCA2a の機能をリアルタイムのカルシウム動態としてとらえることも可能である。若手の共同研究者達の活躍を心から期待するものである。

研究の継承と発展を！

謝 辞

岡山大学医学部生理学第二講座時代および奈良県立医科大学生理学第二講座時代の多くの共同研究者に心から感謝いたします。

利益相反はありません。

文 献

1. Suga H: Ventricular Energetics. *Physiol Rev* **70**: 247-277, 1990
2. 高木 都(分担執筆): 菅 弘之, 高木 都, 後藤葉一, 砂川賢二編著: 心臓力学とエナジェティクス, 日本エム・イー学会編/ME教科書シリーズ B-1 コロナ社(高木 都分担執筆 5-6 章, 12 章), 2000
3. Takaki M: Review: Left ventricular mechanoenergetics in small animals. *Jpn J Physiol* **54**: 175-207, 2004
4. Hata Y, Sakamoto T, Hosogi S, Ohe T, Suga H & Takaki M: Linear O₂ use-pressure-volume area relation from curved end-systolic pressure-volume relation of the blood-perfused rat left ventricle. *Jpn J Physiol* **48**: 197-204, 1998
5. Hata Y, Sakamoto T, Hosogi S, Ohe T, Suga H & Takaki M: Effects of thapsigargin and KCl on the O₂ use of the excised blood-perfused rat heart. *J Mol Cell Cardiol* **30**: 2137-2143, 1998
6. Tsuji T, Ohga Y, Yoshikawa Y, Sakata S, Kohzuki H, Misawa H, Abe T, Tabayashi N, Kobayashi S, Kitamura S, Taniguchi S, Suga H & Takaki M: New index for oxygen cost of contractility from curved end-systolic pressure-volume relations in cross-circulated rat hearts. *Jpn J Physiol* **49**: 513-520, 1999
7. Tabayashi N, Abe T, Kobayashi S, Yoshikawa Y, Sakata S, Takenaka C, Misawa H, Taniguchi S & Takaki M: Oxygen cost of left ventricular contractility for dobutamine and Ca²⁺ in normal rat hearts and the cost for dobutamine in Ca²⁺-overloaded failing hearts. *Jpn J Physiol* **52**: 163-171, 2002
8. Sakata S, Ohga Y, Abe T, Tabayashi N, Kobayashi S, Tsuji T, Kohzuki H, Misawa H, Taniguchi S & Takaki

- M: No dependency of a new index for oxygen cost of left ventricular contractility on heart rates in the blood-perfused excised rat heart. *Jpn J Physiol* **51**: 177–185, 2001
9. Shimizu J, Takeshita D, Tamura Y, Matsuo T, Miyasaka T, Takaki M & Yagi N: Increasing heart rate decreased actin-myosin interaction in isolated beating rat whole heart. IUPS in Kyoto. *J Physiol Sci* **59** (Suppl.1): 362 (P3PM-3-7), 2009
 10. Takaki M: Review: Cardiac mechanoenergetics for understanding isoproterenol-induced rat heart failure. *Pathophysiology* **19**: 163–170, 2012
 11. Vetter R, Rehfeld U, Reissfelder C, Weiß W, Wagner K-D, Günther J, Hammes A, Tschöpe C, Dillmann W & Paul M: Transgenic overexpression of the sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} handling in normal and diabetic rat hearts. *FASEB J* **16**: 1657–1659, 2002
 12. Zhang GX, Obata K, Takeshita D, Mitsuyama S, Nakashima T, Kikuta A, Hirabayashi M, Tomita K, Vetter R, Dillmann WH & Takaki M: Evaluation of left ventricular mechanical work and energetics of normal hearts in SERCA2a transgenic rats. *J Physiol Sci* **62**: 221–231, 2012
 13. Mitsuyama S, Takeshita D, Obata K, Zhang GX & Takaki M: Left ventricular mechanical and energetic changes in long-term isoproterenol-induced hypertrophied hearts of SERCA2a transgenic rats. *J Mol Cell Cardiol* **59**: 95–106, 2013
 14. Yoshikawa Y, Hagihara H, Ohga Y, Nakajima-Takenaka C, Murata K, Taniguchi S & Takaki M: Calpain inhibitor-1 protects the rat heart from ischemic-reperfusion injury: analysis by mechanical work and energetics. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **288**: H1690–1698, 2005
 15. Hagihara H, Yoshikawa Y, Ohga Y, Takenaka C, Murata K, Taniguchi S & Takaki M: $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange inhibition protects the rat heart from ischemic-reperfusion injury by blocking energy-wasting processes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **288**: H1699–1707, 2005
 16. Tsuji T, Ohga Y, Yoshikawa Y, Sakata S, Abe T, Tabayashi N, Kobayashi S, Kohzaki H, Yoshida Y, Suga H, Kitamura S, Taniguchi S & Takaki M: Rat cardiac contractile dysfunction induced by Ca^{2+} overload: Possible link to the proteolysis of fodrin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **281**: H1286–1294, 2001
 17. Tsuji T, Del Monte F, Yoshikawa Y, Abe T, Shimizu J, Nakajima-Takenaka C, Taniguchi S, Hajjar RJ & Takaki M: Rescue of Ca^{2+} overload-induced left ventricle dysfunction by targeted ablation of phospholamban. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **296**: H310–317, 2009
 18. Takewa Y, Chemaly ER, Takaki M, Liang LF, Jin H, Karakikes I, Morel C, Taenaka Y, Tatsumi E & Hajjar RJ: Mechanical work and energetic analysis of eccentric cardiac remodeling in a volume overload heart failure in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **296**: H1117–1124, 2009
 19. Takewa Y, Chemaly ER, Takaki M, Taenaka Y, Tatsumi E & Hajjar RJ: Gene transfer of SERCA2a improves myocardial contractility in dilated failing heart. ASAIO in Chicago, 2008
 20. Kitagawa Y, Yamashita D, Ito H & Takaki M: The reversible effects of isoproterenol-induced hypertrophy on in situ left ventricular function in rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **287**: H277–285, 2004
 21. Takeshita D, Shimizu J, Kitagawa Y, Yamashita D, Tohne K, Nakajima-Takenaka C, Ito H & Takaki M: Isoproterenol-induced hypertrophied rat hearts: Does short-term Treatment correspond to long-term treatment? *J Physiol Sci* **58**: 179–188, 2008
 22. Shimizu J, Yamashita D, Misawa H, Tohne K, Matsuoka S, Kim B, Takeuchi A, Nakajima-Takenaka C & Takaki M: Increased O_2 consumption in excitation-contraction coupling in hypertrophied rat heart slices related to increased $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange activity. *J Physiol Sci* **59**: 63–74, 2009
 23. Nakajima-Takenaka C, Zhang GX, Obata K, Tohne K, Matsuyoshi H, Nagai Y, Nishiyama A & Takaki M: Left ventricular function of isoproterenol-induced hypertrophied rat hearts perfused with blood: mechanical work and energetics. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **297**: H1736–1743, 2009
 24. Shibata M, Takeshita D, Obata K, Mitsuyama S, Ito H, Zhang GX & Takaki M: NHE-1 participates in isoproterenol-induced down-regulation of SERCA2a and development of cardiac remodeling in rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **301**: H2154–2160, 2011
 25. Hattori H, Takeshita D, Takeuchi A, Kim B, Shibata M, Matsuoka S, Obata K, Mitsuyama S, Zhang GX & Takaki M: NHE-1 blockade reversed changes in calcium transient in myocardial slices from isoproterenol-induced hypertrophied rat left ventricle. *Biochem Biophys Res Commun* **419**: 431–435, 2012
 26. Yoshikawa W, Nakamura K, Miura D, Shimizu J, Hashimoto K, Kataoka N, Toyota H, Okuyama H, Miyoshi T, Morita H, Kusano K, Matsuo T, Takaki M, Kajiya F, Yagi N, Ohe T & Ito H: Increased passive stiffness of cardiomyocytes in the transverse direction and residual actin and myosin cross-bridge formation in hypertrophied rat hearts induced by chronic β -adrenergic stimulation. *Circulation Journal* **77**: 741–748, 2013
 27. Matsubara H, Takaki M, Yasuhara S, Araki J & Suga H: Logistic time constant of isovolumic relaxation pressure-time curve in the canine left ventricle: Better alternative to exponential time constant. *Circulation* **92**: 2318–2326, 1995