



Title	肥大心における β -アドレナリン受容体刺激を介した不整脈基質：カルシウムカルモジュリン依存性タンパク質キナーゼを介したスモールコンダクタンスカルシウム感受性カリウムチャネル活性化の役割〔論文内容及び審査の要旨〕
Author(s)	鎌田, 塁
Description	配架番号：2371
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12992号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70816
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Rui_Kamada_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 鎌田 暁

学 位 論 文 題 名

肥大心における β -アドレナリン受容体刺激を介した不整脈基質:カルシウムカルモジュリン依存性タンパク質キナーゼを介したスモールコンダクタンスカルシウム感受性カリウムチャネル活性化の役割

(Arrhythmogenic β -Adrenergic Signaling in Cardiac Hypertrophy: The Role of Small Conductance Calcium-Activated Potassium Channels via Activation of CaMKII)

【背景と目的】持続性の心室性不整脈は心臓突然死における主たる要因であるが、 β 遮断薬は心臓突然死を低下させることが知られている。一方で、致死性不整脈を発症した患者群では対照群に比し有意に交感神経活性が上昇していることや、交感神経の賦活化が致死性不整脈の発症に関連することも報告されている。不全心や肥大心といった病的心では細胞内カルシウム過負荷による撃発活動による催不整脈機序が報告されており calcium/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII)活性が関与しているとされる。また、 β -アドレナリン受容体刺激による催不整脈性の機序においても、CaMKII 活性を介した sarcoplasmic reticulum (SR)からのカルシウムリークを背景とした撃発活動によるものが指摘されている。また β -アドレナリン受容体刺激は電気生理学的な変化として活動電位時間 (APD)および有効不応期 (ERP)を短縮させることが報告されている。近年の報告では、ヒト不全心における β -アドレナリン受容体刺激によって顕著に APD が短縮することも報告されている。しかしながら、これらの電気生理学的な変化が催不整脈性に寄与しているのか、その機序は十分に検討されていない。不全心や肥大心といった病的心では Small - conductance Ca^{2+} - activated K^{+} (SK)チャネル電流が機能的に発現し、活動電位形成に寄与していることが報告されている。SK チャネル電流の増大が催不整脈性をもつのか、抗不整脈性をもつのかは十分に検討されていない。一方、我々は、肥大心における SK チャネル電流の機能的発現には CaMKII が関与していることを報告した。そこで、肥大心においては β -アドレナリン受容体刺激によって CaMKII 活性が上昇することで SK チャネル電流が増大し、その催不整脈性に関連しているのではないかという仮説を立て検証することとした。

【材料と方法】遺伝的肥大心モデルラットである Spontaneously hypertensive rat (SHR)を肥大心モデルとして、Wistar-Kyoto rat (WKY)を対照群として使用した。 β -アドレナリン受容体刺激は isoproterenol (ISO: 100nM)を用いてランゲンドルフ灌流を行い、実験を行った。ベースラインからの ISO 投与における APD ならびに細胞内カルシウム動態 (CaT: calcium transient)の変化および ISO 存在下のアパミン(SK チャネル阻害薬)投与における同変化を膜/細胞内カルシウム同時測定光学マッピング法にて検討した。また、ペーシング周期長を短縮させた際の APD を測定し APD restitution (APDR) curve を作成し、APDR curve の最大傾斜の解析を行った。また、薬物非投与、ISO 存在下、および ISO 存在下とアパミンの併用下に左室心尖部よりペーシングによる頻回刺激を行い、徐々に刺激周期長を短縮させ、心

室性不整脈の誘発性およびアパミン投与による抗不整脈効果の検討を行った。さらに、WKY 群、SHR 群の両群で ISO 投与群、非投与群における CaMKII 活性を測定した。

【結果】WKY 群および SHR 群共に ISO 存在下にて APD₉₀ (脱分極点から活動電位の最大振幅における 90%再分極点までの時間)、CaTD₉₀ (カルシウムトランジェントの始点からカルシウムトランジェントの最大振幅における 90%下行脚までの時間)の短縮を認めた。同刺激下にアパミンを投与したところ、WKY 群では APD₉₀ の変化を認めなかったが、SHR 群では有意に APD₉₀ が延長した。ISO 投与では CaTD₉₀ は両群で有意に短縮したがアパミン投与後は両群ともに有意な変化を認めなかった。CaT 波形の上行脚をピークの 10%から 90%までの時間を rise time として計測したが、ISO 投与にて両群ともに有意に短縮したが、アパミン投与では有意な変化を認めなかった。また、APDR curve の最大傾斜を対照群、ISO 投与、ISO+アパミン投与で測定したところ SHR 群でのみ ISO 投与にて APDR 曲線の最大傾斜が有意に急峻化し、アパミンの併用で有意に平坦化した。一方、WKY 群では薬剤投与による有意な変化を認めなかった。また連続ペーシング刺激による不整脈の誘発性の検討では、SHR 群でのみ ISO 投与によって催不整脈性が増大したが、アパミンの併用にて有意に心室性不整脈を抑制した。CaMKII 活性は SHR 群では ISO 投与にて有意に CaMKII 活性が上昇していたが、WKY 群では有意な活性の上昇を認めなかった。CaMKII 阻害薬である KN-93 を ISO 投与下に加え、アパミン投与による APD₉₀、CaT の変化を解析したが有意な変化を認めなかった。

【考察】本研究の重要な所見として、正常心ならびに肥大心における β -アドレナリン受容体刺激下では、APD は短縮するもののその機序は両群で異なり肥大心では ISO 存在下のアパミンによる APD の延長が特異的に観察され、その変化は CaMKII の阻害にて抑制された点にある。 β -アドレナリン受容体シグナルにおいて CaMKII はカルシウムハンドリングに重要な役割を担っているとされる。本研究では、特に肥大心において β -アドレナリン受容体刺激下では CaMKII 活性が上昇していた。SK チャネル電流の制御は細胞内カルシウム濃度の上昇のみではなく、SK チャネルタンパクへの修飾によるカルシウム感受性の変化が指摘されている。実際に我々は正常心の心筋細胞では、高濃度の細胞内カルシウム濃度でも SK チャネル電流は減弱していることを報告している。また過去の報告では、マウスの腸管平滑筋細胞においては、リン酸化 CaMKII の投与で SK チャネル活性が増大するとされている。我々は肥大心ではリン酸化 CaMKII が心室筋での SK チャネル電流を制御していることを報告した。本研究では、APD の変化と同時に細胞内カルシウム動態を観察したが、WKY 群、SHR 群ともに同様の細胞内カルシウム動態を示していた。すなわち、肥大心のみを観察された β -アドレナリン受容体刺激下におけるアパミンによる APD の延長は細胞内カルシウム動態の変化のみでは説明し得ない。また同変化は CaMKII 阻害薬の投与にて抑制されており、CaMKII の活性化が SK チャネルの細胞内カルシウム感受性を変化させ、 β -アドレナリン受容体刺激下の SK チャネル電流の制御を担っている可能性が示唆された。

【結論】今回の研究では、肥大心における β -アドレナリン受容体刺激下の活動電位の変化ならびに催不整脈性に CaMKII を介した SK チャネルの活性化が関与していることを明らかにした点において有意義である。 β 遮断薬の使用が副作用の観点から困難である際は β -アドレナリン受容体シグナルの下流にあると考えられる SK チャネル電流を選択的に阻害することで抗不整脈治療に有用である可能性が示唆される。そのため、より心臓特異的に SK チャネル電流を制御しうる治療に発展することを期待したい。