HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	膜電位/細胞内カルシウム同時測定光学マッピング法を用いた肥大心の急性虚血における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の電気生理学的影響および催不整脈機序の解明［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	髙橋, 雅之
Description	配架番号：2467
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13453号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74700
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Masayuki_Takahashi_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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　髙　橋　雅　之

学 位 論 文 題 名

膜電位/細胞内カルシウム同時測定光学マッピング法を用いた肥大心の急性虚血における
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の電気生理学的影響および
催不整脈機序の解明

(Small-Conductance Calcium-Activated Potassium Channels Affect Electrophysiological States and Ventricular Arrhythmogenesis during Acute Hypoxia in Hypertrophied Hearts: Measurement by Dual Optical Mapping Technique)

【背景と目的】心室性不整脈は心臓突然死の主たる要因とされるが、肥大心や虚血心は電気生理学的なリモデリングからその不整脈基質となることが知られている。その背景にはカリウムチャネルの障害やカルシウム動態異常が関与しているとされ、肥大心では早期後脱分極や遅延後脱分極（DAD：delayed afterdepolarization）などの撃発活動が、また虚血心では心筋内の伝導遅延や活動電位持続時間（APD：action potential duration）の不均一性が催不整脈性に寄与するとされる。このような病的心においては、スモールコンダクタンスカルシウム感受性カリウム（SK）チャネルと呼ばれる電位非依存性のカリウムチャネルが機能的に発現していると報告されている。SK チャネルは不全心や肥大心、虚血心といった病的心で細胞内カルシウム濃度上昇に伴って活性化するとされ、SK チャネルが催不整脈性、もしくは抗不整脈性のどちらに働くかは未だ結論が出ていない。我々は、肥大心において SK チャネルが活性化していること、さらに急性虚血の合併した肥大心では正常心に比べ心室性不整脈発生率が高く、SK チャネル遮断薬が抗不整脈性に働くことを過去に報告した。しかしながら、肥大心の急性虚血における SK チャネルの心室性不整脈源生への関与と SK チャネル遮断薬の抗不整脈機序は十分に明らかになってない。そこで今回我々は、肥大心の急性虚血において心室性不整脈が発生するメカニズムを明らかにし、SK チャネル遮断薬が活動電位のみならずカルシウム動態異常を是正することで抗不整脈作用を発揮するのではないかという仮説を立て、検証することとした。
【対象と方法】肥大心モデルとして 18 から 24 週齢の遺伝的肥大心モデルラットである Spontaneously hypertensive rat（オス）を使用した。ランゲンドルフ灌流心を作成した後、低酸素/無グルコース Tyrode 液（100%窒素で飽和したグルコースを含まない Tyrode 液）を灌流することで急性全虚血状態とした。膜電位/細胞内カルシウム同時測定光学マッピングを用いて、左室前壁の心外膜面を観察対象とした活動電位およびカルシウムトランジエント（CaT：calcium transient）の同時評価を行い、APD や CaT 時間（CaTD：calcium transient duration）などを測定した。撮像に際しては、左室心尖部から 300 ms のペーシングサイクル長を基本とした頻拍ペーシング下でベースライン（非虚血状態）と全虚血 30 分の観察を行った。心室性不整脈誘発性および催不整脈機序解明のため、虚血作成後に心電図同時記録下でペーシング刺激間隔を 20 ないし 10 ms ずつを短縮していき、心室性不整脈が誘発されるか、ペーシング刺激と心室興奮が 1:1 で補足されなくなるまで頻拍ペーシングを行った。これらのプロトコルを対照群（薬物非投与群）と各薬物（アパミンおよび NS8593（SK チャネル遮断薬）、グリベンクラミド(アデノシン三リン酸感受性カリウムチャネル遮断薬)、

4-アミノピリジン（一過性外向きカリウム電流阻害薬)）投与群で行い比較検討した。
【結果】急性全虚血により APD_{80}（活動電位の最大振幅に対する 50%脱分極する点から 80%再分極するまでの時間）の短縮、$CaTD_{80}$（カルシウムトランジエントの最大振幅に対する上行脚の 50%の点から下降脚の 80%の点までの時間）の延長、さらに $CaTD_{80}$−APD_{80} の開大を認めたが、アパミンの投与によりこれらの変化は抑制された。また CaT 時定数（τ：カルシウムトランジエントの最大振幅に対する下降脚の 30%から 100%までを単一指数関数でフィッティングした時間）延長の抑制や、頻拍ペーシング時に観察される拡張期細胞内カルシウムレベル上昇度の減少などがアパミン投与により確認された。催不整脈性機序としては、異所性興奮による撃発活動がその主体的な起源として観察された。ペーシングに伴い対照群では全例で心室性不整脈が誘発されたのに対し、アパミン群では誘発率 37.5%と抗不整脈効果が認められた。SK チャネル遮断薬と SK チャネル非選択性カリウムチャネル遮断薬の効果を比較したところ、抗不整脈性を認めたのは SK チャネル遮断薬（アパミンと NS8593）のみであり、$CaTD_{80}$−APD_{80} 開大や τ 延長に対して抑制効果を認めたのも SK チャネル遮断薬のみであった。
【考察】本研究において、SK チャネルが活性化した急性全虚血状態の肥大心では、SK チャネル遮断薬が活動電位に加えカルシウム動態にも影響を与えることが初めて示唆された。今回、虚血に伴い CaTD−APD 開大が見られたが、SK チャネル遮断薬であるアパミンは APD 短縮と CaTD 延長を抑えることでその開大を抑制した。CaTD−APD 開大は活動電位再分極後に細胞内カルシウム濃度上昇が持続することを意味し、ナトリウム/カルシウム交換機構（NCX）を介した内向き電流の増加とナトリウム過負荷から DAD の発生を促すとされる。さらに我々はアパミンによるτ延長抑制を認めた。τ はカルシウム流出の遅い時相を反映することから NCX 機能のパラメーターであり、急性虚血では NCX の障害からτ延長を来すことが報告されている。以上の点から、アパミンによるカルシウム動態異常、特に NCX への影響が示唆された。また今回、抗頻拍ペーシングに伴う拡張期のカルシウムレベルの上昇度を定量化し比較したところ、アパミンで上昇度が有意に小さいことが明らかとなり、SK チャネル遮断薬のカルシウム動態への影響を示唆する所見の一つと考えられた。一方、肥大心の急性虚血に生じる心室性不整脈に対してアパミンが抗不整脈作用を示すことが確認された。心室性不整脈の契機としては主に撃発活動が捕らえられ、これは虚血に伴う CaTD−APD 開大により DAD の誘発性が高まっている背景と矛盾しない。過去には、DAD の発生に寄与する SK チャネルの活性化には筋小胞体からの自発的なカルシウム放出が必要であるということや、カルシウムの興奮が活動電位の興奮に先行するという所見を認めることも報告されている。しかしこれらの所見は心内膜側や局所的な虚血領域近傍からみられる所見とされており、今回の心外膜面の観察では捕らえられなかった可能性がある。
【結論】本研究は特に肥大心の急性虚血において、その催不整脈性に SK チャネルが寄与していること、SK チャネル遮断薬が活動電位だけでなくカルシウム動態の異常も是正することで抗不整脈作用を発揮すること、また心室性不整脈が撃発活動を主たる契機として発生していることを明らかにした点において有意義であると考える。SK チャネルは正常心の活動電位形成に寄与していないという報告もあることから、病的心特異的に作用する抗不整脈薬のターゲットになりうる。一方で今回我々が用いた SK チャネル遮断薬であるアパミンは神経毒として知られており、臨床応用の観点からは今後さらなる SK チャネルの研究とより安全な SK チャネル遮断薬の開発を期待したい。