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_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　髙橋　雅之

主査　教授　大場　雄介
審査担当者　副査　教授　園下　将大
副査　教授　松居　喜郎
副査　教授　野口　昌幸

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）

申請者は、肥大心ラットである SHR の急性全虚血心を作製し、その電気生理学的変化におけるスモールコンダクタンス Ca^{2+}感受性 K^+チャネル（SK チャネル）の役割および心室性不整脈の催不整脈機序について検討を行った。虚血肥大心において、①活動電位持続時間（APD）の短縮、②カルシウムトランジエント時間（CaTD）の延長、③CaTD-APD の開大を認めたが、SK チャネル遮断薬であるアパミンはそれらを有意に抑制した。催不整脈機序に関しては、④Ca^{2+}過負荷に伴う撃発活動が主たる原因として捉えられ、⑤アパミンは抗不整脈効果を示した。またアパミンの Ca^{2+}動態への影響として、⑥CaT の時定数（τ）延長および⑦拡張期 Ca^{2+}レベル上昇の抑制効果を認めた。最後に SK チャネル遮断薬と SK 非選択性 K^+チャネル遮断薬で比較したが、⑧抗不整脈効果や CaTD-APD 延長抑制、τ 延長抑制は SK チャネル遮断薬のみで見られた。以上より、肥大心の急性虚血において SK チャネル遮断薬が活動電位短縮を抑制するだけでなく、Ca^{2+}動態の異常も是正することで、Ca^{2+}過負荷に伴う撃発活動を契機とした心室性不整脈に対して抗不整脈作用を発揮することを明らかにした。

これらのことから申請者は以下の通り考察を行った。1)アパミンによる Ca^{2+}動態への影響として Ca_i/V_m uncoupling および τ に着目した。どちらも Na^+/Ca^{2+}交換機構（NCX）の活性指標とされ、撃発活動が催不整脈機序であったことも併せると、アパミンが NCX への影響を介して Ca^{2+}動態を是正すると考えられた。また拡張期 Ca^{2+}レベルの比較から、アパミンが Ca^{2+}過負荷を軽減する可能性も示唆された。2）Ca^{2+}過負荷を背景として撃発活動の特徴的な所見として、過去に“筋小胞体からの自発的な Ca^{2+}放出”といった報告がある。これらは観察範囲や虚血様式の点から本研究では観察できなかったものと考えられた。　SK チャネルは正常心の活動電位形成に寄与しておら

ず、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可能性があることから、本研究は今後の心室性不整脈に対しる新規治療ターゲットを示唆する重要な研究と考えられた。

以上の研究結果において、審査においてまず副査の園下教授から NCX への影響を考えた理由、今後考えられる介入法について質問があった。申請者は得られた傍証から SK チャネルが NCX に影響を与えると考えたが、考察でも述べたように直接的には NCX 機能を評価できておらず、NCX 遮断薬投与下での変化を検証することが一つの方法と考えられると回答した。また統計学的検討をする際のポイントの抽出法について質問があったが、今回はランダムに任意の 9 点を抽出しその平均値で検討を行い、その平均値が通常解析の方法として用いられるマップ全体の中央値と大きく変わらなかったと回答した。続いて副査の野口教授より薬剤の効果を比較検討した際、薬剤濃度を 1 種類ではなく複数で効果を検証するべきではなかったかと質問があった。申請者は、既報に基づいて十分有効とされる濃度を用いて実験したと回答した。グリベンクラミドは糖尿病薬でありその抗不整脈作用について質問があったが、当グループの過去の研究で統計学的に有意ではなかったが虚血肥大心において同薬に抗不整脈傾向が見られたと回答した。副査の松居教授より“全”虚血のせいで Ca^{2+}先行の興奮を捕らえられなかったのかという質問があった。実験の過程で左室側壁や下壁、右室自由壁なども観察したが捕らえられなかったことを考えると、心内膜側が興奮の真の起源の可能性があったと回答した。またアパミンの臨床応用について質問があったが、アパミン自体は毒で痙攣発作を誘発する可能性があるため臨床応用のためにはより安全な SK チャネル遮断薬開発が必要であると回答した。主査の大場教授より、正常心での SK 発現について質問があった。過去の当グループの研究で正常心では SK チャネルが発現しておらず、肥大心では蛋白レベルで発現が増加していることが示されていると回答した。オプティカルで得られたデータを数値化し差を出しているが、蛍光強度は一定か質問があった。同じ量の蛍光色素を使用してはいるが各個体の蛍光強度は異なり、F_0を基準に換算しているため直接比較可能である回答した。SK チャネルが NCX に影響を与えると結論付けている根拠についての質問があった。SK チャネル遮断薬が NCX に関わるパラメータを修飾したことから SK チャネルが NCX に作用すると考察したが、考察でも述べたように直接 NCX 機能が観察できていないので、正直なところ推察の域をでないと回答した。

その他のそれぞれの質問に対しても、自己の実験データや文献的考察に基づいて、概ね適切に返答した。審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。