HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ミトコンドリアへのカルシウム取り込み亢進による心室性不整脈の抑制に関する研究［全文の要約］
Author(s)	萩原, 光
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 配架番号：2619 他
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14498号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/81738
Type	doctoral thesis
File Information	Hikaru_Hagiwara_summary.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文（要約）

ミトコンドリアへのカルシウム取り込み亢進　による心室性不整脈の抑制に関する研究

（**Enhanced calcium uptake into mitochondria mitigates ventricular arrhythmia in heart failure**）

2021 年 3 月

北海道大学

萩原　光

学位論文（要約）

ミトコンドリアへのカルシウム取り込み亢進　による心室性不整脈の抑制に関する研究

（**Enhanced calcium uptake into mitochondria mitigates ventricular arrhythmia in heart failure**）

2021 年 3 月

北海道大学

萩原　光

【背景と目的】人口の高齢化、生活習慣の変化に伴い、冠動脈疾患が増加していることなどから、本邦の心不全患者が、今後も増加していくことが予測されている。心不全患者において、心室性不整脈はしばしば致死的になることから、心室性不整脈への治療法の確立が望まれている。しかし、現在使用されている薬剤は心不全患者への使用において、左室収縮の抑制などの副作用が多く、抗不整脈薬の開発は依然として今後の課題である。心不全患者に起きる心室性不整脈の原因の一つとして、再分極終了直後の活動電位を伴う遅延後脱分極が知られている。遅延後脱分極とは、細胞内カルシウム濃度上昇を代償する過程での、ナトリウム―カルシウム交換を介するちいさな脱分極である。そのような細胞内カルシウム上昇の一因に、カルシウムウェーブが知られている。カルシウムウェーブは、小胞体からのカルシウム漏出に起因する。まず、ライアノジンレセプター 2 の構造的、機能的な障害により小胞体からカルシウムが漏出する。それが他の小胞体のライアノジンレセプターに結合することで、さらなるカルシウム放出を誘起させ、カルシウム放出が次々に伝播する現象である。細胞内カルシウムの調整には、小胞体、細胞膜のナトリウム―カルシウム交換機構以外に、ミトコンドリアの関与が知られている。カテコラミン誘発性多型性心室頻拍モデルマウスは、ライアノジンレセプター II 機能障害に起因したカルシウムウェーブによる心室性不整脈を発症する。最近、この動物モデルで、ミトコンドリアへのカルシウム取り込みを促進することにより、カルシウムウェーブが抑制され、最終的に抗不整脈作用を示すことが報告された。一方、心不全患者の心室性不整脈に対して、このようなカルシウム取り込み促進が効果的であるか否かは明らかにされていない。本研究は、心不全において、ライアノジンレセプター II から漏れ出たカルシウムをミトコンドリアに取り込ませることによる細胞内カルシウムと、心室性不整脈への影響について明らかにすることを目的とする。

【材料と方法】雄性 C57BL/6J マウスの左冠動脈前下行枝を結紮し、左室の前壁に心筋梗塞を作製した。術 4 から 6 週間後のマウスを心不全モデルマウス（HF 群）とし、偽手術をしたマウスをコントロール群（sham 群）とした。エコーで心機能、心室内腔、壁厚を計測した。ミトコンドリアへのカルシウム取り込みの促進は、主要なカルシウム流入経路と報告されている Mitochondrial calcium uniporter（MCU）を活性化するフラボノイドであるケンペロールを用いた。MCU タンパク質発現量をポリアクリルアミドゲル電気泳動法で評価した。単離したミトコンドリアでミトコンドリアへのカルシウムの取り込みについて評価した。単離心筋細胞を用い、落射蛍光顕微鏡でカルシウムウェーブを、共焦点レーザー顕微鏡でカルシウムスパーク、カルシウムトランジェントを、穿孔パッチクランプ法で活動電位の発生回数を測観察した。ランゲンドルフ潅流心で心室性不整脈の発症について、頸動脈から左室に挿入したマイクロマノメータチップカテーテルで左室内圧を測定し、血行動態について評価した。

【結果】HF 群は sham 群と比較して、左室の拡張と収縮率低下を認め、心重量、肺重量の増加を認めた。MCU タンパク質発現量は、HF 群と sham 群で有意差がなく、いずれの群もケンペロールによる、ミトコンドリアへのカルシウム取り込みの促進を認めた。sham 群で、30 秒間で 1 細胞当たりに認める拡張期のカルシウムウェーブの回数は β 受容体刺激であるイソプロテレノールの投与で増加しなかったが、HF 群では、カルシウムウェーブの回数の増加を認めた。イソプロテレノールに加えてケンペロールを添加すると、HF 群ではカルシウムウェーブの回数は、有意に低下した。また、HF 群において、MCU 阻害剤である Rutenium Red をさらに追加すると、カルシウムウェーブの回数は再度増加した。HF 群でのカルシウムスパークはカルシウムウェーブと同様に、イソプロテレノールで増加するが、ケンペロールの追加によって抑制された。拡張期にみとめる自発的な活動電位も同様の傾向で、ケンペロールにより抑制された。電気刺激による、カルシウム

トランジェントの振幅は変わらなかった。ケンペロールにより、ランゲンドルフ潅流心で発生する心室性不整脈の発生は抑制された。ケンペロールによる血行動態に対する急性効果はなかった。

【考察】本研究では、HF 群と sham 群で MCU タンパク質発現量に差を認めなかった。圧負荷誘発心不全においては、MCU タンパク質発現量の増加が報告されており、虚血性心不全と、圧負荷誘発心不全では、MCU タンパク質発現への影響が異なることが示唆された。不全心の単離心筋細胞において、MCU 作動薬であるケンペロールによって、イソプロテレノールによって形成されるカルシウムウェーブを抑制し、カルシウムスパークの発生頻度を抑制した。これは、ライアノジンレセプター II からのカルシウムの漏出により細胞質カルシウム濃度上昇が知られている、カテコラミン誘発多形性心室頻拍モデルマウスと同様であり、上昇したカルシウム濃度に対し、ミトコンドリアへのカルシウム取り込みの促進が代償的に働くという点で矛盾しない。ケンペロールは、MCU 選択的活性化剤ではないが、MCU の阻害薬をケンペロールの存在下に追加投与すると、カルシウムウェーブが抑制できなかったことから、ケンペロールによるカルシウムウェーブの抑制は、MCU の活性化が関与していたと考えられる。MCU 活性化によってカルシウムトランジェントの振幅に変化がなく、カルシウムトランジェントの振幅は心筋細胞の収縮と相関しており、細胞の収縮に関わる細胞質カルシウムの量に著しい変化はない考えられる。このことは、血行動態に変化がなかったことからも明らかで、投与後に心筋細胞の収縮を抑制する副作用がないと考えられ、安全に投与できる可能性が示唆される。

【結論】不全心において、ケンペロールによるミトコンドリアへのカルシウム取り込みは、小胞体からのカルシウムリークを代償し、致死性心室性不整脈を抑制する可能性が示唆された。従来の抗不整脈薬は催不整脈性を有し心不全患者に対する使用が制限されるが、ミトコンドリアへのカルシウム取り込み能を促進させる治療戦略は心不全における心室性不整脈治療への新らたな選択肢になることが期待される。