

令和元年6月7日現在

機関番号：11301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H06525

研究課題名(和文)肺高血圧症患者の不整脈発生におけるミトコンドリアへのカルシウム流入の役割

研究課題名(英文)Role of Ca<sup>2+</sup> within the mitochondria for arrhythmia in PAH

研究代表者

佐藤 遥 (Sato, Haruka)

東北大学・医学系研究科・助教

研究者番号：90803883

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：モノクロタリン投与により肺高血圧症ラットを作成し、肥大した右室心筋から多細胞心室筋であるトラベクラを摘出し、発生張力・細胞内カルシウム変化および不整脈の発生について測定した。肺高血圧症ラットでは細胞内カルシウム濃度が上昇しカルシウムの伝播も速く大きくなっていった。Ru360を用いてミトコンドリアへのカルシウム流入を抑制すると、肥大が進行した右室の多細胞心室筋で特に、細胞内カルシウムの伝播速度が低下し、不整脈の発生が抑制されることを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺高血圧症の右室心筋は異常な心筋収縮を呈し、頻脈性不整脈や突然死をきたしうる。カルシウム・ユニポーターを介したミトコンドリアへのカルシウム流入の抑制は、不整脈発生を抑制する。本研究では、肺高血圧動物モデルにおけるミトコンドリアへのカルシウム流入が、右室肥大を呈した傷害心筋における不整脈の発生に関与するか検討した。

今回の結果は、肺高血圧症患者の不整脈の発生機序の解明につながる可能性があり、難治性疾患である肺高血圧症患者の予後を改善する可能性もある。さらに今後、ミトコンドリア内膜に存在するカルシウム・ユニポーターの抑制による不整脈治療という新しい発想からの治療や創薬につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Rats were given a subcutaneous injection of 60 mg/kg monocrotaline (MCT-rats) as PAH model rats. We dissected trabeculae (length = 1.45±0.07 mm, width = 334±27 \*μm, thickness = 114±6 \*μm) from the RV. Trabeculae were electrically stimulated and force was measured using a silicon strain gauge.

MCT-rats showed a wider action potential, a higher diastolic intracellularCa<sup>2+</sup> (Cai), and faster and larger Cai waves. Ru360, a mitochondrial calcium uptake inhibitor, decreased the velocity of Cai waves and the inducibility of arrhythmias in more severe RV hypertrophy rats.

研究分野：肺高血圧症

キーワード：肺高血圧症 カルシウム ミトコンドリア 不整脈

## 1. 研究開始当初の背景

### 肺高血圧症と不整脈

肺高血圧症はさまざまな原因により肺動脈圧が持続的に上昇した病態であり、右心不全・呼吸不全が進行する予後不良の難治性疾患として知られている。肺高血圧症では、肺動脈圧の上昇に伴う圧負荷・容量負荷のため右室機能の低下と右心不全をきたす。

その過程で頻脈性不整脈の発生と右心不全の進行によって予後が悪化する症例、また突然死する症例が存在する。肥大した右室では正常心筋とさまざまな程度に傷害された病的な心筋とが混在することによる異常な心筋収縮を呈し、頻脈性不整脈や突然死をきたしうる。一般的に、心臓内に正常心筋と病的な心筋とが混在する場合、正常心筋のより強い収縮・弛緩によって、病的な心筋領域では受動的な伸展・短縮が生じる。伸展によって活性酸素が産生され、受動的短縮によって生じたカルシウム波が撃発性不整脈を誘発することを申請者の所属する研究室では報告してきた。

### 不整脈発生におけるミトコンドリアの役割

心臓はミトコンドリアに富んだ臓器であり、その容量の約 30% をミトコンドリアが占めている。近年、ミトコンドリアへのカルシウムの流入は ATP 産生に必須であるばかりでなく、細胞内カルシウムの急激な上昇に対する緩衝作用としての役割を持つことも報告されている。2011 年ミトコンドリア内膜に存在するカルシウム・ユニポーター (MCU) を特定したことが *Nature* 誌に報告され (図 1)、このカルシウム・ユニポーターが病態生理において果たす役割に注目が集まってきた。ミトコンドリアへのカルシウムの過剰な流入は、ミトコンドリア内のカルシウム濃度を上昇させ、細胞死を引き起こす。その一方で、この取込みは傷害心筋における急激な細胞質内のカルシウム上昇を抑えることにより、不整脈の発生を抑制する可能性もある。現在のところ、ミトコンドリア内膜におけるカルシウム・ユニポーターが、肺高血圧症患者における不整脈の発生にどのように関与するのかは知られていない。

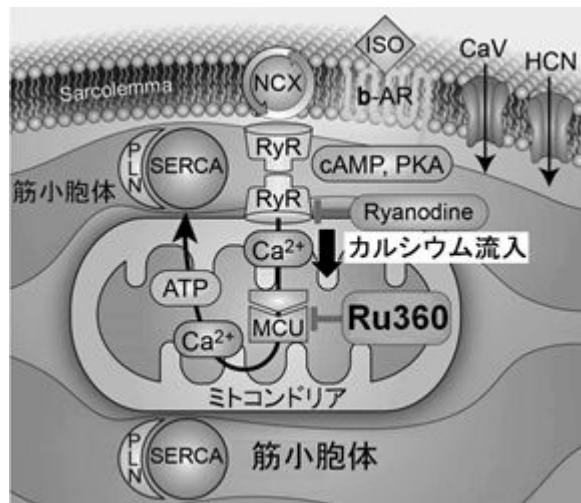


図 1. ミトコンドリアにおけるカルシウム流入の略図

Wu Y, et al. *Nat Commun.*;6:6081 より改変。

MCU: カルシウム・ユニポーター、RyR: 筋小胞体 Ca 放出チャネル、SERCA: 筋小胞体 Ca ポンプ

## 2. 研究の目的

本研究では肺高血圧症患者における右室心筋障害が不整脈の発生に関与することを明らかにし、同時に、肺高血圧動物モデル (図 2) を用いてミトコンドリアへのカルシウム流入が肺高血圧実験モデルにおける不整脈の発生にどのように関与するのかを明らかにすることである。

## 3. 研究の方法

### ラット肺高血圧モデルを用いたミトコンドリアへのカルシウム流入

ラットにモノクロタリン (MCT) を皮下注すると、4 週間後には約 25% が右心不全のために死亡し、生き残ったラットは右室拡大と心不全を呈する。この生存ラットの右心室から多細胞心室筋 (トラベクラ) を摘出し、カトランスデューサーに固定する。

## 1) Ru360 による張力と細胞内カルシウムの変化

Ru360 はミトコンドリア内膜に存在するカルシウム・ユニポーターを阻害することでミトコンドリアへのカルシウム流入を抑制することが報告されている。正常と肺高血圧ラットに  $10\ \mu\text{mol/L}$  の Ru360 を投与し、張力と細胞内カルシウムがどのように変化するかを記録する。

## 2) Ru360 によるカルシウム波と催不整脈性の変化

正常と肺高血圧ラットの右心室から摘出したトラベクラに butane dione monoxime (BDM、ミオシン ATPase 活性阻害薬)あるいは  $10\text{mmol/L}$  カルシウム液を局所灌流し、カルシウム波を誘発する。Ru360 の投与によって、カルシウム波がどのように変化するかを記録することにより、ミトコンドリアへのカルシウム流入が筋小胞体からのカルシウム・リークに与える影響を明らかにする。さらに、刺激薬であるイソプロテレノールの投与によって不整脈を誘発し、Ru360 によるミトコンドリアへのカルシウム流入がこの不整脈の発生にどのような影響を与えるかを明らかにする。TMRM 蛍光を用いてミトコンドリア膜電位を記録し、Ru360 投与によるミトコンドリア膜電位変化と催不整脈性との関係をも明らかにする。

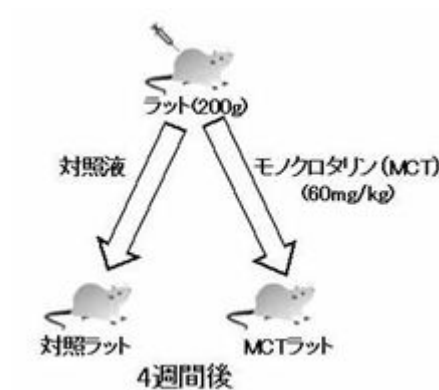


図2. 肺高血圧ラットモデルの作製

## 4 . 研究成果

モノクロタリン投与により肺高血圧症ラットを作成したところ、4 週後には約 25%が死亡した。生存したラットの肥大した右室心筋から多細胞心室筋であるトラベクラを摘出し、発生張力・細胞内カルシウム変化および不整脈の発生について測定した。肺高血圧症ラットでは細胞内カルシウム濃度が上昇しカルシウムの伝播も速く大きくなっていった。また、一部のラットでは、催不整脈性が亢進していた。Ru360 を用いてミトコンドリアへのカルシウム流入を抑制すると、肥大が進行した右室の多細胞心室筋で特に、細胞内カルシウムの伝播速度が低下し、不整脈の発生が抑制されることを確認した。以上の結果から、肥大した右室心筋では筋小胞体からのカルシウム放出が増加するために細胞内カルシウムが上昇し不整脈発生につながる可能性があり、また、肥大した右室心筋ではミトコンドリア内カルシウムが不整脈発生に関与している可能性があると考えられた。以上の結果については、**2018** 年度アメリカ心臓病学会および **2019** 年日本循環器学会学術集会において報告した。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

**Yui Takahashi, Taiki Hasegawa, Natsuki Morita, Ayana Matsumoto, Haruka Sato, Masahito Miura, Effect of  $\text{Ca}^{2+}$  within the mitochondria on the occurrence of arrhythmias in rat right ventricular hypertrophy, 2019 日本循環器学会学術集会**  
**Yui Takahashi, Taiki Hasegawa, Natsuki Morita, Ayana Matsumoto, Haruka Sato, Masahito Miura,  $\text{Ca}^{2+}$  within the mitochondria affects the occurrence of arrhythmias in rat right ventricular hypertrophy, 2018 米国心臓病学会 (国際学会)**

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。