

平成 22 年 4 月 13 日現在

研究種目：基盤研究(B)
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19390210
 研究課題名（和文） スパイラル・リエントリーの抜錨による致死性不整脈予防技術の開発
 研究課題名（英文） New strategies for treatment and prevention of life-threatening ventricular tachyarrhythmias by unpinning of spiral-wave reentry
 研究代表者
 児玉 逸雄 (KODAMA ITSUO)
 名古屋大学・環境医学研究所・教授
 研究者番号：30124720

研究成果の概要（和文）：心室細動・持続性心室頻拍の発生・維持にはスパイラル・リエントリーが重要な役割を果たしている。本研究では、活動電位光学マッピングを用いた動物実験とシミュレーションにより心室筋二次元スパイラル・リエントリーのダイナミクスを解析し、K チャネル遮断やギャップ結合機能の修飾、心筋の軽度可逆的冷却が心室スパイラル・リエントリーを解剖学的不連続構造から抜錨することにより、心室細動・頻拍の早期停止を促すことを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Spiral-wave reentry plays an important role in the initiation and maintenance of life-threatening ventricular tachyarrhythmias (fibrillation/tachycardia). In this study, we analysed, experimentally and theoretically, the dynamics of spiral-wave reentry in 2-dimensional ventricles and revealed that pharmacological K channel blockade, enhancement of gap junctional coupling and reversible moderate myocardial cooling facilitate early termination of ventricular tachyarrhythmias through unpinning of spiral-wave reentry from anatomical discontinuities.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
2008 年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
2009 年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
総計	14,100,000	4,230,000	18,330,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：致死性不整脈、スパイラル・リエントリー、光学マッピング、活動電位、興奮伝播、イオンチャネル、シミュレーション

1. 研究開始当初の背景

心臓突然死の主要な原因は心室細動 (ventricular fibrillation, VF) であり、その多くは心室頻拍 (ventricular tachycardia, VT) を契機として発生する。近年、膜電位感受性色素を用いて心臓の複雑な興奮を蛍光シグナ

ル画像として観察する光学マッピング実験の技術が進み、心室における渦巻き (スパイラル) 型の巡回興奮 (スパイラル・リエントリー) が VF や VT の機序であることがわかってきた。

スパイラル・リエントリーが形成・維持・

移動・分裂・停止する過程には、心筋組織の解剖学的・構造的な不均一性や、心筋細胞興奮の機能的・動的な不安定性（dynamic instability）が重要な役割を果たすと考えられている。しかし、これらは主に仮想心筋モデルを用いたコンピュータ・シミュレーション研究の結果に基づくものであり、生体心臓におけるスパイラル・リエントリーのダイナミクスについては未だ十分な解析が進んでおらず、その詳細はほとんど解明されていないのが現状である。

また、スパイラル・リエントリーの制御技術についても、これまでコンピュータ・シミュレーションによる理論的考察から様々な方法（カオス理論に基づく局所ペーシング法や、反復フィードバック刺激によるスパイラル興奮波の共鳴ドリフトなど）が提唱されてきたが、そのいずれもが動物実験で有用性を示すレベルには至っていない。

2. 研究の目的

我々は、高分解能の心筋活動電位光学マッピングシステムを用いて、実験動物の摘出心臓におけるスパイラル・リエントリーのダイナミクスを活動電位波形の面から詳しく解析することにより、その新たな制御方法・技術を提案し、致死性不整脈に対する予防・治療法としての有用性を実験的に検証することを目指して研究を行っている。

本研究では、イオンチャネル遮断作用を有する薬物や、ギャップ接合を介する心筋細胞間電気結合を変化させる薬物、心臓の軽度可逆的冷却（冷却のみ、あるいは冷却と電気刺激との組み合わせ）が心室筋における興奮伝播特性とスパイラル・リエントリーに及ぼす作用をウサギ摘出灌流心臓の活動電位光学マッピングを用いて解析し、その制御によるVF・VT治療・予防について検討した。

3. 研究の方法

(1) 心筋活動電位光学マッピング

心臓のスパイラル・リエントリーのダイナミクスを詳細に解析するためには空間・時間分解能に優れた心筋電気活動マッピングシステムが必要である。本研究では、高輝度発光ダイオード（LED）と高速度デジタルビデオカメラを組み合わせた心筋活動電位高分解能光学マッピングシステム（時間分解能 0.1-1ms, 空間分解能 0.1mm, S/N 比>10.8）を用いて、電位感受性色素（di-4-ANEPPS）で染色したウサギ摘出心臓の心室表面における心筋活動電位蛍光画像を撮影し、興奮波伝播ダイナミクスや活動電位波形変化について解析した（図1）。

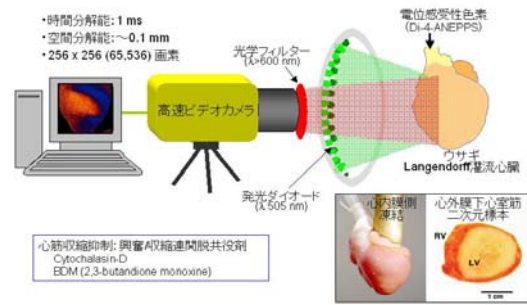


図1.心筋活動電位光学マッピングシステム

心筋壁に厚みのある心室ではスパイラル興奮波は複雑な三次元構造をとるため、常に心表面にスパイラル構造が現れるとは限らない。そこで実験系としては、Langendorff灌流した心臓の左室心内膜側を凍結アブレーションして心外膜下心筋層（厚さ約1mm）のみを残存させた心室筋二次元標本を用いた（図1）。

心室に直交電場(cross-field)刺激を加えて心室スパイラル・リエントリーを誘発した。そのダイナミクスの解析には、興奮前面の等時線解析、②位相マップによるスパイラル興奮波の旋回中心（位相特異点, PS）の解析などの手法を用いた（図2）。

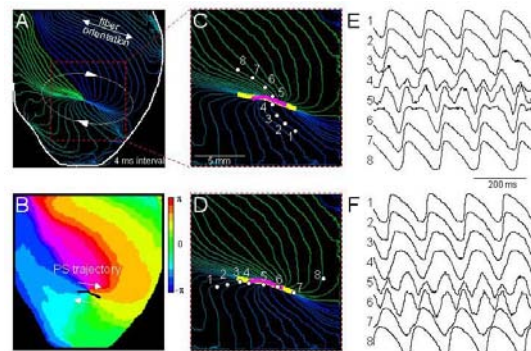


図2.心室スパイラル・リエントリーの解析方法.

A,C,D, 興奮前面の等時線マップ. 黄色の線は機能的ブロックを示す. B, 位相マップ. 旋回中心を表す位相特異点の軌跡を黒線で示す. この位相特異点(PS)の軌跡は機能的ブロックの中央部分(C,Dのピンク色の線)に重なる. E,F, 図C,Dのそれぞれ8点における活動電位光学シグナルを示す. 機能的ブロックライン上では二峰性電位が観察される(E5, F5.6のトレース). 興奮波が旋回する部分では、興奮前面における局所電流の source/sink ミスマッチの影響により、活動電位立ち上り速度が低下している(F3.4,7のトレース).

(2) コンピュータ・シミュレーション

ウサギ心室形状バドメインモデルを用いたコンピュータ・シミュレーションにより、心室スパイラル・リエントリーのダイナミクスを解析した。

4. 研究成果

(1) K チャネル遮断によるスパイラル・リエントリーの制御.

遅延整流 K 電流の速い活性化成分 (I_{Kr}) を選択的に遮断する抗不整脈薬 nifekalant (0.1 μM) は、心室スパイラル・リエントリーの持続時間を有意に短縮した。

Nifekalant 作用下の心室スパイラル・リエントリーの特徴は以下のようにまとめることができる (図 3)。①ブロックライン中央部分の電気緊張効果による機能的ブロックが著しく延長し、その形状は一拍毎に不規則に変化した。一方、ブロックライン両端部の局所伝導遅延による機能的ブロックには薬物添加前とほとんど変化を認めなかった。②スパイラル興奮波の興奮前面が再分極終末に追いついて、興奮波が分裂したり、リエントリーの巡回中心 (位相特異点) が突然大きく移動する現象が頻繁に観察された。③巡回中心が大きく移動して、弁輪部の興奮障壁に衝突してリエントリーが停止しやすくなった。

このように I_{Kr} の選択的遮断は心室スパイラル・リエントリーのダイナミクスを不安定にし、巡回中心が一ヶ所に留まることを妨げることにより (unpinning) リエントリーの早期停止を促すことが判明した。しかし I_{Kr} 遮断はスパイラル興奮波の分裂による VF への移行も促す危険性も併せ持っていると考えられる。

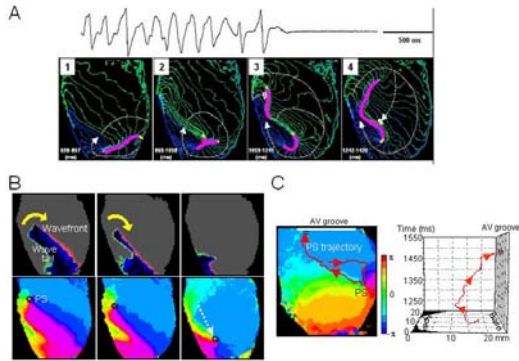


図 3. I_{Kr} 遮断によるスパイラル・リエントリーの制御.
Nifekalant 0.1 μM 作用下のスパイラル・リエントリーを示す. A, 上段は心電図, 下段は連続する 4 拍の興奮伝播等時線図. 機能的ブロック (ピンク色の線) の形状は一拍毎に変化している. B, 興奮前面 (wavefront) と再分極終末部 (wave tail) の相互作用. 下段はそれぞれの時点における位相マップを示す. Wavefront と wave tail との相互作用により巡回中心 (PS) が突然移動した. C, PS 移動の軌跡. PS が不規則に移動し、房室弁輪の興奮障壁と衝突してリエントリーが停止した.

(2) 心筋細胞間電気結合の増強によるスパイラル・リエントリーの制御.

ギャップ接合を介する心筋細胞間電気結合を減弱させる carbenoxolone (30 μM) は

電気刺激誘発 VT・VF の持続時間を有意に延長し、細胞間電気結合を増強する rotigaptide (0.1 μM) は VT・VF 持続時間を有意に短縮した。

Carbenoxolone 作用下のスパイラル・リエントリーでは巡回中心のさまよい運動が小さくなり、安定した巡回運動が持続した。一方、rotigaptide 作用下のスパイラル・リエントリーでは、巡回中心付近で伝導途絶が生じ、巡回中心が大きくドリフトする現象を認めた。その結果、巡回中心が房室弁輪部の興奮障壁と衝突してリエントリーが停止しやすくなった。以上の結果から、心筋細胞間電気結合の増強はスパイラル・リエントリーの unpinning による VT・VF 停止を促すことが判明した (図 4)。

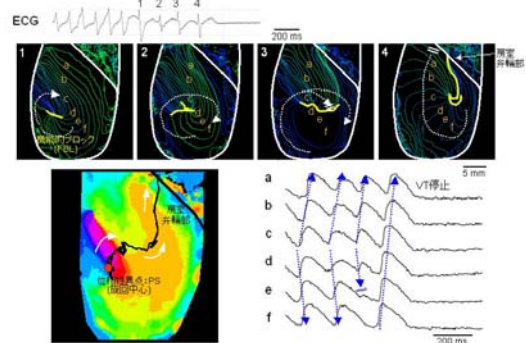


図 4. ギャップ結合機能促進によるリエントリーの制御.
Rotigaptide 0.1 μM 作用下のスパイラル・リエントリーを示す. 上段は心電図, 中段は VT 停止直前の 4 拍の興奮伝播等時線図を示す. 機能的ブロック (黄色の線) の形状は一拍毎に変化している. 下段左図は位相マップによる巡回中心 (PS) 移動の軌跡を示す. PS が不規則に移動し、房室弁輪の興奮障壁と衝突してリエントリーが停止した. 下段右図は等時線図の 6 点における活動電位シグナルを示す.

(3) 心筋冷却によるスパイラル・リエントリーの制御.

(3-1) 心臓の局所的冷却

ウサギ Langendorff 灌流心臓の表面に冷却用プローブを密着させて左室前面の一部 (直径 1cm 円形の領域) に軽度の可逆的冷却を加える (心筋温度を 4-5 $^{\circ}\text{C}$ 低下させる) と、冷却領域の興奮伝導速度が低下し活動電位持続時間が延長した。

局所的な心筋冷却を加えた状態でスパイラル・リエントリーを誘発すると、スパイラル興奮波の巡回中心が冷却領域の辺縁部を不規則に大きくさまよい運動するようになり (unpinning)、リエントリーが早期に停止することが観察された (図 5)。

更に、心臓に cross-field 電気刺激を加えて誘発した心室スパイラル・リエントリーによる持続性 VT (120 秒以上持続) に対して心臓局所冷却を加えると、約 70% で VT の停止が

認められた (図 5)。

心臓局所冷却のみで停止しなかった持続性 VT に対して様々な電圧 (20-100V) の電気刺激 (単相性パルス通電) を加えてその停止を試みたところ、心臓局所冷却下では冷却を加えない状態よりも低い電圧 (コントロールの 1/2 以下) の電気刺激で VT を停止させることができた (図 5)。

位相マップによるリエントリー・ダイナミクスの解析では、電気刺激によるスパイラル・リエントリーの停止様式が心筋局所冷却の有無で大きく異なることが判明した。即ち、冷却を加えないコントロール状態では、高電圧の電気刺激が心筋興奮の位相を全て揃えて (phase resetting) リエントリーを停止させるのに対して、局所冷却下では、弱い電気刺激で新たに形成された位相特異点がスパイラル興奮波の旋回中心と相互作用し、それを大きく移動させて (unpinning) リエントリーの停止を促すことが判明した (図 5)。

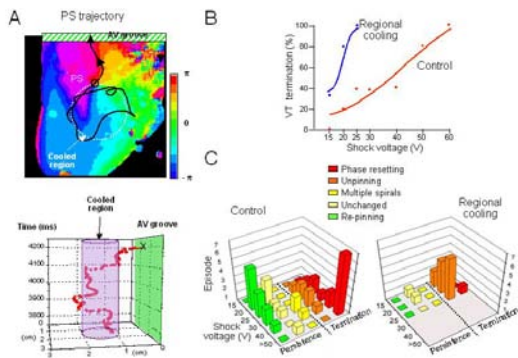


図 5. 心筋局所冷却によるスパイラル・リエントリー制御。A. 心臓局所冷却 (直径 1cm の円形の領域) 下で誘発したスパイラル・リエントリーでは、旋回中心が冷却領域の辺縁に沿って移動した後、そこから離れていき、房室弁輪の興奮障壁と衝突してリエントリーが停止した。B. 心臓局所冷却下 (regional cooling) では control よりも低い電圧の通電で VT を停止させることができた。C. 電気刺激によるスパイラル・リエントリーの停止様式。Control では phase resetting でリエントリーが停止することが多いのに対し、心臓局所冷却下ではスパイラル・リエントリーの unpinning による停止が多い。

(3-2) 心臓全体の冷却

心室筋全体の温度を 33°C までほぼ均一に低下させると、電気刺激により誘発した VT・VF が早期に停止した。興奮波ダイナミクスの解析では、心臓全体の冷却によるリエントリーの停止にも、心臓局所スパイラル・リエントリーの unpinning が深く関わっていることが判明した (図 6)。心筋温度を更に 30°C まで低下させると、スパイラル興奮波の分裂が著しく促進され、VT・VF はかえって停止しにくくなった。

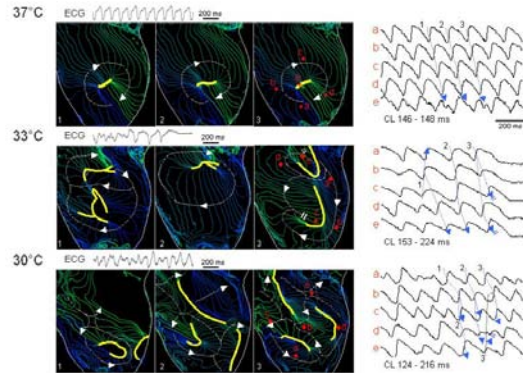


図 6. 心臓全体冷却によるスパイラル・リエントリーの制御。正常温度 (A, 37°C) および心臓全体の冷却下 (B, 33°C; C, 30°C) で誘発した心室スパイラル・リエントリーの興奮伝播等時線図を示す。黄色の線は機能的ブロックライン。それぞれの図における a-e の点から記録された活動電位光学シグナルを右図に示す。33°C ではスパイラル興奮波の旋回が不安定になり、リエントリーが早期に停止した。30°C ではスパイラル興奮波が多数共存した状態に移行し、リエントリーが長時間持続した。ECG、心電図波形。

(4) コンピュータ・シミュレーション

ウサギ心室形状バドメインモデルを用いたコンピュータ・シミュレーションにおいても、心筋 I_{Kr} 遮断、心筋細胞間電気的結合の増強および心筋の適度の冷却は、心室スパイラル・リエントリーの unpinning による早期停止を促すことが確かめられた。

(5) スパイラル・リエントリーの抜錨 (unpinning) による VF・VT の治療・防止

心室細動 (VF) の成立にスパイラル・リエントリーがどのようにかわるかについては二つの考え方があある。Mother rotor 仮説では、速い回転運動を示すスパイラル興奮波 (rotor) が心室の一部に存在し、そこから周囲に周期の短いスパイラル興奮波が不規則に伝播する (fibrillatory conduction) ことが VF の複雑性を作り出すと考えられている。

一方、dynamic wavebreak 仮説では、心筋電気興奮の動的不安定性に基づくスパイラル興奮波の不規則な分裂の繰り返しが VF を維持するとされている。最近では、この二つの概念は相反するものではなく、相補的であり、病態や心筋組織の状態によって両者の寄与が異なるとする考え方が主流である。Mother rotor 型の VF が持続するためには、スパイラル・リエントリーが心室の一部に定在化すること (pinning) が必要である。

I_{Kr} 遮断や心筋細胞間結合の増強、心筋の可逆的冷却 (局所あるいは心臓全体) は、スパイラル・リエントリーの pinning を妨げること (unpinning) によって VF の成立予防および停止に有効である可能性が考えられる (図

7)。しかし、スパイラル・リエントリーの unpinning は興奮波の分裂を促すことで、VT を dynamic wavebreak 型の VF へ移行させる危険性も併せ持つ。

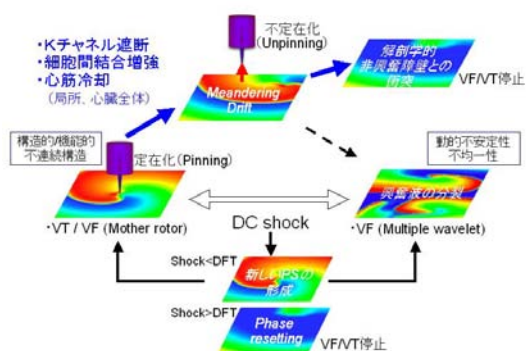


図 7. スパイラル・リエントリーの抜錨 (unpinning) による VF・VT の治療・防止

VF に対する最も有効な治療法は DC ショックであり、心臓突然死の予防には植込み型の電気的除細動器 (ICD) が臨床的に広く用いられている。強い DC ショックは心筋興奮の位相を全て揃えることによって (phase resetting) VF を停止させる。このような phase resetting が十分に生じない弱い通電では、仮想電極効果 (virtual electrode polarization) によって、新たなスパイラル・リエントリーが形成されて、除細動が不成功に終わる。 I_{Kr} 遮断や心臓局所冷却は、スパイラル・リエントリーの pinning を妨げることによって、リエントリーの停止を促し、電気ショックの除細動効率を高めると考えられる (図 7)。ICD が頻回に作動する electrical storm の状態においても、このようなスパイラル・リエントリーの unpinning の促進は DC ショックの効果を高め、electrical storm からの脱却に有効であると考えられる。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 17 件)

- ① Nakagawa H, Honjo H (5 名) Sakuma I, Kamiya K, Kodama I. Acute amiodarone promotes drift and early termination of spiral wave reentry. *Heart Vessels* (in press), 2010. (査読有)
- ② Yamazaki M (7 名) Honjo H, Kodama I (他 2 名). Mechanisms of stretch-induced atrial fibrillation in the presence and the absence of adrenergic stimulation: interplay between rotors and focal discharges. *Heart Rhythm* 6:1009-17,2009. (査読有)
- ③ Ishiguro YS, Honjo H (3 名) Sakuma I, Kamiya K, Kodama I. Early termination of spiral wave reentry by combined blockade of Na^+ and L-type Ca^{2+} currents in a perfused two-dimensional epicardial layer of rabbit

ventricular myocardium. *Heart Rhythm* 6: 684-92,2009. (査読有)

- ④ Harada M, Honjo H (4 名) Ashihara T, Sakuma I, Kamiya K, Kodama I. Moderate hypothermia increases the chance of spiral wave collision in favor of self-termination of ventricular tachycardia/fibrillation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 294:H1896-905, 2008. (査読有)
- ⑤ Ashihara T (2 名). Tunnel propagation of postshock activation as a hypothesis for fibrillation induction and isoelectric window. *Circ Res* 102:737-45,2008. (査読有)
- ⑥ Honjo H, Yamazaki M, Kamiya K, Kodama I. Modification of spiral wave reentry by K channel blockade. *Circ J* 71:A26-31,2007. (査読有)

[学会発表] (計 64 件)

- ① Takanari H (5 名) Honjo H, Sakuma I, Kamiya K, Kodama I. Bepridil destabilizes spiral-wave reentry and facilitates its early termination in cardiac muscle through an increase of intracellular coupling. Scientific Sessions 2009, American Heart Association, 2009.11.16, Orland, USA.
- ② Honjo H (3 名) Sakuma I, Kamiya K, Kodama I. Dynamics of spiral wave reentry. The 36th International Congress of Physiological Sciences (invited). 2009.7.30, Kyoto.
- ③ Kodama I, Honjo H (2 名) Sakuma I, Kamiya K. Pharmacological modification of spiral-wave reentry in rabbit heart: optical mapping analysis. 13th Congress of the International Society for Holter and Non-invasive Electrocardiology (invited). 2009.6.5, Yokohama.
- ④ Honjo H. Dynamics of spiral wave reentry. International Symposium on Arrhythmias (invited). 2008.11.29, Nagoya
- ⑤ Harada M (5 名) Honjo H, Kamiya K, Kodama I. Vulnerability to ventricular fibrillation in failing heart is the result of rate-dependent enhancement of dispersion of action potential duration and spatially discordant alternans. Scientific Sessions 2008, American Heart Association, 2008.11.10, Orland, USA
- ⑥ Ashihara T (5 名). Simulation studies of excitation conduction and cardiac arrhythmias. The 2nd ME International Symposium, 2007.12.7, Osaka
- ⑦ Honjo H (1 名) Sakuma I, Kamiya K, Kodama I. Moderate hypothermia facilitates termination of spiral wave reentry in the ventricle. Focused Meeting of the British Physiological Society (invited), 2007. 9.6,

Manchester, UK

- ⑧ Harada M (1 名) Sakuma I, Kamiya K, Kodama I. Moderate hypothermia increases the chance of spiral wave collision in favor of self-termination of ventricular tachycardia/fibrillation. Heart Rhythm 2007, 2007. 5.9, Denver, USA.

〔図書〕 (計 5 件)

- ① 本荘晴朗, 児玉逸雄 スパイラル・リエントリーと坑不整脈薬. 不整脈 2009. メディカルレビュー社 14-24,2009
- ② 児玉逸雄, 本荘晴朗. 薬物による心室スパイラル・リエントリーの制御. 別冊医学のあゆみ, 医歯薬出版 119-124,2007

6. 研究組織

(1) 研究代表者

児玉 逸雄 (KODAMA ITSUO)

名古屋大学・環境医学研究所・教授

研究者番号 : 30124720

(2) 研究分担者

本荘 晴朗 (HONJO HARUO)

名古屋大学・環境医学研究所・准教授

研究者番号 : 70262912

芦原 貴司 (ASHIHARA TAKASHI)

滋賀医科大学・医学部・助教

研究者番号 : 80396259

神谷 香一郎 (KAMIYA KAICHIRO)

名古屋大学・環境医学研究所・教授

研究者番号 : 50194973

(2008-2009 年: 連携研究者)

佐久間 一郎 (SAKUMA ICHIRO)

東京大学大学院・工学系研究科・教授

研究者番号 : 50178597

(2008-2009 年: 連携研究者)

(3) 連携研究者

神谷 香一郎 (KAMIYA KAICHIRO)

名古屋大学・環境医学研究所・教授

研究者番号 : 50194973

(2008-2009 年)

佐久間 一郎 (SAKUMA ICHIRO)

東京大学大学院・工学系研究科・教授

研究者番号 : 50178597

(2008-2009 年)