

平成 21 年 5 月 10 日現在

研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19790525  
 研究課題名（和文） 心肥大・心不全における悪性不整脈発生におけるアンジオテンシン受容体の役割の研究  
 研究課題名（英文） Examination for the contribution of the angiotensin II type1 receptor to the development of malignant arrhythmias in hypertrophied and failing hearts  
 研究代表者 中西 道郎  
 （なかにし みちお）  
 京都大学・医学研究科・非常勤講師  
 研究者番号：60378726

研究成果の概要：アンジオテンシンⅡタイプ 1a(AT1a)受容体欠損マウス (AT1a KO)を用いてレニン・アンジオテンシン系の頻拍性不整脈発生への関与とその分子機序を検討した。AT1a 欠損は肥大心において悪性不整脈の発生を減少させ、また心不全・突然死モデルマウスの生存率を改善し、その機序として gap junction を形成する connexin43 蛋白発現低下抑制が考えられた。以上よりレニン・アンジオテンシン系阻害薬の抗不整脈効果とその機序が明らかとなった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,700,000	0	1,700,000
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	480,000	3,780,000

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：アンジオテンシン、不整脈、心肥大

## 1. 研究開始当初の背景

心不全は近年の薬物療法の進歩にもかかわらず未だ死亡率の高い症候群であり、その直接の死亡原因の約半数を占めるのが致死性不整脈から引き起こされる突然死・不整脈死である。特に危険性の高い心室由来の頻拍性不整脈に対して、近年の抗不整脈薬物療法および非薬物療法の進歩も十分とは言えず、依然としてその発症機序の解明に基づいた有効な予防的薬物療法の確立が望まれる。

## 2. 研究の目的

現在までに、心不全の発症・進展には神経体液性因子の異常が関与していることが明ら

かとなっており、特に交感神経系と並び、レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系 (RAAS) の心不全発症・進展における重要性が種々の基礎的・臨床的研究や臨床試験の結果から示唆されている。事実 RAAS 抑制薬であるアンジオテン変換酵素阻害剤やアンジオテンシン受容体拮抗薬は、多くの大規模臨床試験によって心不全の治療薬として有効性が確立しており、また同時に突然死に対する抑制効果のあることが指摘されている。このことは RAAS が心不全において突然死の発症にも関与していることを示唆する。しかし一方で RAAS はその血管拡張作用および心室リモデリング抑制作用（心筋細胞肥大抑制およ

び抗線維化作用など)を解して心不全の進展を抑制することにより間接的に突然死発症を予防している可能性も考えられることから、RAASが直接的に頻拍性不整脈による突然死に関与しているかどうかはまだ明らかとはいえない。そこで本研究では、我々がこれまでに確立したマウス生体における電気生理学検査法を活用して、アンジオテンシン II タイプ 1a 受容体を欠失したマウス(AT1a ノックアウトマウス)を用いて RAAS の頻拍性不整脈発生への関与およびその分子機序について検討した。

### 3. 研究の方法

(1) **AT1a ノックアウトマウスと野生型マウスの圧負荷肥大心における頻脈性不整脈発生の差異の解析。** AT1a ノックアウトマウスと野生型マウスの圧負荷肥大心における電気生理学的形質の差異について解析した。具体的には、12~14 週齢の AT1a ノックアウトマウスと野生型マウスに対して、人工麻酔開胸下で大動脈弓縮窄術を施行し、術 4 週間後に両群で同等の心肥大・心筋線維化(構造的リモデリング)が生じることを確認した後、それぞれのマウスに電気生理学検査を施行、悪性不整脈の誘発頻度を比較した。また両者間での電気的リモデリングの差異について生化学的、分子生物学的、細胞電気生理学的な解析を行いその分子機序を検討した。

(2) **心不全・突然死モデルマウスにおける AT1a 受容体の意義の検討。** 我々の開発した心不全・突然死モデルマウスである dominant-negative NRSF transgenic マウスと AT1a ノックアウトマウスの交配を行い、dominant-negative NRSF transgenic マウスの突然死に対する影響を検討した。

### 4. 研究成果

(1) **AT1a ノックアウトマウスと野生型マウスの圧負荷肥大心における頻脈性不整脈発生の差異の解析。** まず AT1aKO では圧負荷モデルにおいて野生型と同等の心肥大(構造的リモデリング)を示すことを確認し、電気生理学的検査にて頻拍性不整脈の起こりやすさ(電気的リモデリング)を比較検討した。その結果、AT1aKO では圧負荷により野生型と同程度の心肥大、線維化が起こるにもかかわらず、不整脈誘発試験による悪性不整脈の発生が有意に少ないことが明らかとなった(Table1)。その機序を探るべく、各イオンチャネルの遺伝子や蛋白レベルでの発現をマイクロアレイなどを含む種々の方法で解析したところ、gap junction を形成するイオンチャネルである connexin43 の蛋白発現が、野生型マウスの圧負荷肥大心では低下しているにもかかわらず、AT1aKO では比較的維持

されていることが判明した。Connexin43 の蛋白発現の安定性に関与するチロシンリン酸化について検討した AT1aKO ではそのリン酸化の圧負荷による亢進が抑制されていることが明らかとなった(図 1)。これらのことから AT1a シグナルはおそらく src キナーゼを介して connexin43 をリン酸化し、その蛋白発現を低下させることで、悪性不整脈発生に関与している可能性が示唆された。

Table 1. VT Inducibility

	Total number of VT(+) mice	Induction rate of VT
WT-Sham (n=15)	0	0%
KO-Sham (n=13)	0	0%
WT-TAC (n=15)	11	73.3%
KO-TAC (n=13)	4	30.8%**

VT, ventricular tachyarrhythmia; WT-Sham, wild type mice subjected to sham operation;

KO-Sham, AT1aR-KO mice subjected to sham operation; WT-TAC, wild type mice subjected

to TAC; KO-TAC, AT1aR-KO mice subjected to TAC. \*\*p<0.05 vs. WT-TAC.

Table 1 AT1aKO では圧負荷肥大心における心室性頻拍の誘発率が野生型に比べて低下している

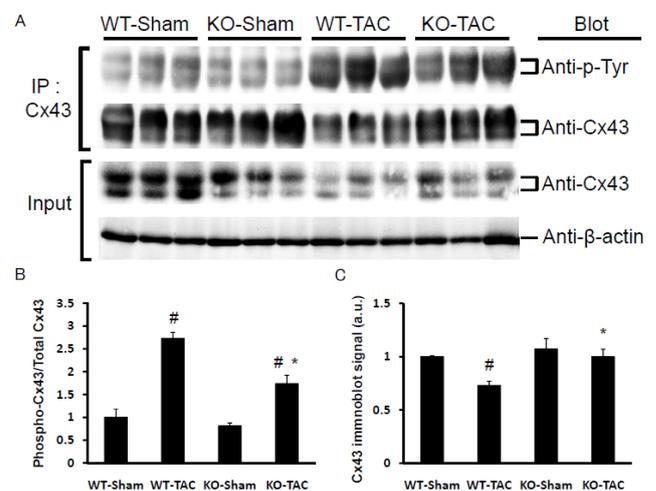


図 1 AT1aKO では圧負荷肥大心における connexin43 チロシンリン酸化亢進および蛋白発現減少が抑制されている

(2) **心不全・突然死モデルマウスにおける AT1a 受容体の意義の検討。** 申請者の研究室が作製した心不全・突然死モデルマウスである

dominant-negative NRSF transgenic (dnNRSF Tg) マウスと AT1aKO マウスを交配し、その突然死・不整脈発生への影響を検討したところ、AT1aKO;dnNRSF Tg は dnNRSF Tg より有意に生存率が改善していた(図 2)。

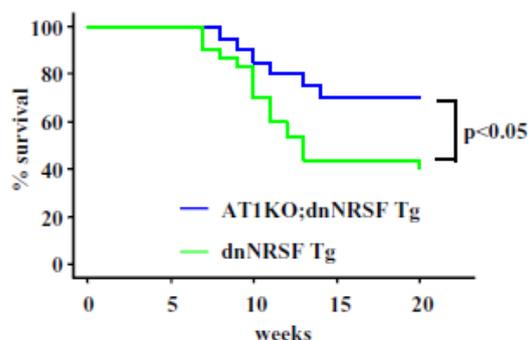


図 2 心不全・突然死マウス dnNRSF Tg において AT1a 欠損は生存率を改善させる

以上 (1) および (2) の結果より圧負荷肥大心および拡張型心筋症モデルにおいて AT1a 受容体シグナルは悪性不整脈の発生に重要な役割を果たすことが明らかとなった。本研究は RAS 系阻害薬の抗不整脈効果の分子機序の一端を明らかにすると同時に、悪性不整脈予防薬開発にかかわる標的を一つ明らかにしたものと考えている。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ①. Yasuno S, Usami S, Kuwahara K, Nakanishi M, Arai Y, Kinoshita H, Nakagawa Y, Fujiwara M, Murakami M, Ueshima K, Harada M, Nakao K. Endogenous cardiac natriuretic peptides protect the heart in a mouse model of dilated cardiomyopathy and sudden death. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2009 in press
- ②. Nakanishi M, Harada M, Kishimoto I,

Kuwahara K, Kawakami R, Nakagawa Y, Yasuno S, Usami S, Kinoshita H, Adachi Y, Fukamizu A, Saito Y, Nakao K. Genetic disruption of angiotensin II type 1a receptor improves long-term survival of mice with chronic severe aortic regurgitation. Circ J. 71(8):1310-6.2007

[学会発表] (計 2 件)

- ①. Functional inhibition of p300 in the post-natal heart leads to mitochondrial dysfunction and cell death in mice

Nakagawa Y, Kuwahara K, Akao M, Katoh M, Takemura G, Takano M, Harada M, Murakami M, Nakanishi M, Usami S, Yasuno S, Kinoshita H, Fujiwara M, Kuwabara Y, Kenji Ueshima K, Nakao K.

The 72nd Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. 2008.3.28-3.30. 福岡

- ②. 慢性腎臓病が血中BNP濃度に及ぼす影響  
中西道郎、原田昌樹、桑原宏一郎、中川靖章、宇佐美覚、木下秀之、藤原正隆、桑原佳宏、上嶋健治、中尾一和  
第 81 回日本内分泌学会学術総会  
2008.5.16-5.18(青森)

[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：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

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

〔その他〕  
ホームページ等  
URL：  
<http://www.kuhp.kyoto-u.ac.jp/~med2/jpn/research/cardio.html>

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者  
中西道郎 (なかにしみちお)  
京都大学・医学研究科・非常勤講師  
研究者番号：60378726

(2) 研究分担者  
( )

研究者番号：

(3) 連携研究者  
( )

研究者番号：