

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07091

研究課題名(和文) 肺静脈心筋の電気活動を選択的に抑制する薬理学的機序の解明

研究課題名(英文) Pharmacological methods to inhibit pulmonary vein automaticity

研究代表者

田中 光 (Tanaka, Hikaru)

東邦大学・薬学部・教授

研究者番号：40236617

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：心房細動は脳梗塞を誘発する治療必要性の高い不整脈であるが、現状では細動自体を治療する薬理学的手段は確立されていない。本研究の目的は、心房細動の最も重要な原因である肺静脈心筋の電気的自発活動が生じる機序をイオンチャネルやトランスポーターのレベルで明らかにし、新たな薬物治療法や治療薬の開発に繋げることである。モルモット、マウス等の実験動物の摘出肺静脈心筋を用いた検討により、肺静脈心筋の電気活動の源となる機序として、電位依存性Naチャンネル電流の持続的成分、細胞内Caオシレーションと運動したNa-Ca交換機構電流、の2つを見出した。これらの機序に基づく治療薬選択及び新薬開発に向けて研究を進展させたい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心房細動は心房が細かく震える不整脈の一種であり、心房内で出来た血栓が脳梗塞を誘発するため治療必要性が極めて高い。現状では治療の中心は血栓予防薬および外科的手法による心房の興奮予防であり、細動自体を治療する薬理学的手段は確立されていない。心房細動の根本原因は心房から続く肺静脈心筋の電気的自発活動であり、これを抑制する仕組みの解明と、薬物治療や創薬につなげることの意味は大きい。

研究成果の概要(英文)：Atrial fibrillation, which often leads to cerebral infarction, is a disease with a high need for treatment. At present, however, therapeutic agents with sufficient efficacy and safety is lacking. The goal of this study is to form a basis for the pharmacological treatment of atrial fibrillation. Using isolated pulmonary vein myocardium, the major site of the trigger for atrial fibrillation, we found two novel mechanisms for diastolic depolarization, the persistent Na current flowing through voltage dependent Na channels, and the Na-Ca exchanger current activated by intracellular Ca oscillation. Further studies for a novel drug usage and therapeutic agents are now in progress.

研究分野：Cardiovascular Pharmacology

キーワード：myocardium diastolic depolarization atrial fibrillation late sodium current sodium calcium exchanger ectopic pacemaker intracellular calcium

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

心房細動は患者数が多く(日本に130万人)、脳梗塞を誘発してQOLを損なうことから治療の必要性が高い不整脈である。近年、心房細動の原因の大半が肺静脈内に局在する心筋組織の異所性自動能(心臓本来のペースメーカーとして自動能を有する洞房結節とは異なる部位で生じてしまう好ましくない自動能)であることが判明した。この肺静脈心筋の自動能(自発的活動電位)こそが心房細動治療薬の真のターゲットであるが、その発生機序や薬理学的性質については未知の点が多い。既存の抗不整脈薬も肺静脈心筋に対する作用を有すると推測されるが、心臓のペースメーカーである洞房結節や心室筋の興奮・収縮を攪乱するリスクが高く、有効かつ安全な心房細動治療薬は未だ存在しない。異所性自動能が原因の疾患を薬理学的に治療するには、異所性自動能の発生機序をイオンチャネルやトランスポーターのレベルで解明し、さらに洞房結節の自動能や心室筋収縮との違いを捉えて異所性自動能のみを選択的に抑制する薬物を見出すことが必要である。

2. 研究の目的

肺静脈心筋自動能を理解して薬物治療につなげるため、“肺静脈心筋の自動能に特有のイオンチャネルやトランスポーターの働き”の解明を目指した。肺静脈自動能の機序をより詳細に解明し、さらに心臓拍動の源である洞房結節や心臓のポンプ機能の本体である心室筋の収縮に影響せずに肺静脈自動能を選択的に抑制する薬理学的機序を見出し、創薬や薬物治療への基盤構築を目指す。

3. 研究の方法

まず、洞房結節よりも肺静脈に対して強い自発活動抑制作用を示す薬物を探索するため、摘出肺静脈心筋標本および洞房結節標本にガラス微小電極法を適用して電氣的自発活動を記録し、各種薬物の作用を検討する。既存の不整脈治療薬に関しても肺静脈心筋に作用を有している可能性に期待し、同様の検討を行う。さらに、各種イオンチャネルやトランスポーターに対する作用が既知の薬物を使い、選択性が生じる機序を明らかにする。

上記の検討で肺静脈選択性を示した薬物の、収縮抑制作用の有無の検討のため、摘出心筋組織標本の収縮力や単離心室筋細胞の細胞内カルシウムイオン動態に対する作用を検討する。筋小胞体やミトコンドリアといった細胞内の作用天に対する作用も検討する。不整脈誘発作用の検討のため、ガラス微小電極法を用いて興奮伝導速度への影響や心室筋における異所性自発活動誘発作用の有無を検討する。

4. 研究成果

(1) 肺静脈心筋の電氣的自発活動を抑制する薬理学的機序

モルモット摘出肺静脈心筋組織標本の自発的電氣活動に対して、ナトリウムカルシウム交換機構阻害薬の SEA0400 および筋小胞体カルシウム放出チャネル阻害薬の ryanodine により自発活動の著明な抑制が見られた。この際、活動電位の緩徐脱分極の傾きが緩やかになる特徴的な変化が見られたが、活動電位の立ち上がり相や再分極相、最大拡張期電位に対してはほとんど作用が見られなかった。イノシトール3リン酸受容体チャネル遮断薬の xestospongine C、T型カルシウムチャネル遮断薬の R-(-)エホニジピンおよびカルシウム依存性クロライドチャネル遮断薬は弱いながらも同様の抑制作用を示した。肺静脈心筋細胞に細胞内カルシウムイオンをキレートする BAPTA-AM を作用させたところ、自発活動の抑制が見られたことから、上記薬物の作用に細胞内カルシウムイオン動態に対する作用が含まれていることが示唆された。筋小胞体およびミトコンドリアへのカルシウムイオンの取り込みを蛍光イメージングと薬理学的処置を組み合わせることで評価する実験系を確立して検討したところ、筋小胞体から放出されたカルシウムイオンが、細胞膜のナトリウムカルシウム交換機構やカルシウム依存性クロライドチャネルを介する内向き(脱分極性)電流を増大させ、これが肺静脈心筋の緩徐脱分極の傾きを増大させて電氣的自発活動を誘発していることが明らかになった。

既存の抗不整脈についてもナトリウムチャネルに対する作用を中心に検討した。心房筋のナトリウムチャネルに対する作用に基づく抗不整脈効果を期待して治療に用いられる第1群抗不整脈薬について検討したところ、aprilidine、flecainide、propafenone は高濃度で肺静脈心筋の緩徐脱分極の傾きを緩やかにして自発活動を抑制したが、cibenzoline、disopyramide、pilsicainide は作用を示さなかった。そこで、モルモット肺静脈から心筋細胞を単離する方法を確立した後、膜電位固定法を適用してナトリウム電流に対する作用を詳細に検討したところ、ナトリウム電流の一過性成分に対しては全ての第1群抗不整脈薬が遮断作用を示したが、持続性成分に関しては、肺静脈心筋自発活動を抑制した3種の薬物のみが遮断作用を示した。これらの結果から、肺静脈心筋の電氣的自発活動にはナトリウム電流の持続性成分が寄与しており、これを遮断することで自発活動を抑制できることが明らかになった。

(2) 肺静脈心筋に対する選択性

肺静脈心筋の電氣的自発活動に寄与することが明らかになった上記の2つの機序を薬理的に抑制することが、心臓本来のペースメーカーである洞房結節の自発活動および心臓のポンプ機能の本体である心室筋の収縮力に影響を及ぼすか否かを検討した。

モルモット洞房結節組織標本および単離細胞は安定した自発活動を示したが、BAPTA-AM、SEA0400 および ryanodine による自発活動の抑制は、肺静脈心筋の場合と比べるとほとんど抑制作用を示さなかった。細胞外液を低ナトリウム液に置換すると、細胞内カルシウムイオン濃度のわずかな上昇が見られたが、自発活動の頻度には影響が見られなかった。電位依存性ナトリウムチャンネルの持続性成分に対する抑制作用を有する化合物 GS458967 は洞房結節組織標本および単離細胞の拍動に影響を及ぼさなかった。これらの結果から、細胞内カルシウムイオンとナトリウムカルシウム交換機構の連動、電位依存性ナトリウム電流の持続性成分、いずれの機序も、洞房結節の歩調とりにはほとんど寄与しないことが明らかになった。

モルモット摘出心室筋標本の収縮力を指標として、各種薬理的処置が心臓のポンプ機能を低下させるリスクを有するか否かを検討した。ナトリウムカルシウム交換機構阻害薬の SEA0400 は、収縮力に対して抑制作用を示さず、むしろ収縮力をわずかに増大させた。Ryanodine によって収縮力の中程度の低下が見られたが、xestospongin C ではほとんど影響は見られなかった。既存の9種類の第1群抗不整脈薬では収縮力の低下が見られたが、その程度は薬物により大きく異なっていた。抑制作用の強さは、propafenone > aprindine > cibenzoline > flecainide > ranolazine > disopyramide > pilsicainide > mexiletine > GS458967 の順であった。この効力順はナトリウム電流の一過性成分を遮断する強さとは全く相関せず、むしろ電位依存性カルシウムチャンネルを遮断する強さと相関した。これらの結果から、ナトリウムカルシウム交換機構、電位依存性ナトリウム電流の持続性成分、いずれの機序も、心室筋の収縮力にはほとんど寄与しないことが明らかになった。

(3) 結論

これらの結果から、ナトリウムカルシウム交換機構を阻害および電位依存性ナトリウム電流の持続性成分の遮断という2つの薬理的機序は、心臓本来の歩調とりやポンプ機能を損なわずに肺静脈心筋の自発活動を強力かつ選択的に抑制することが明らかになった。この知見をもとに心房細動の治療薬が開発され、薬物治療が最適化されることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Hamaguchi Shogo, Abe Kohei, Komatsu Momoka, Kainuma Jun, Namekata Iyuki, Tanaka Hikaru	4. 巻 44
2. 論文標題 Positive Lusitropic Effect of Quercetin on Isolated Ventricular Myocardia from Normal and Streptozotocin-Induced Diabetic Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 1894 ~ 1897
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b21-00580	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Namekata Iyuki, Jitsukata Kento, Fukuda Ayumi, Odaka Ryosuke, Hamaguchi Shogo, Tanaka Hikaru	4. 巻 12
2. 論文標題 Intracellular Ca ²⁺ -Mediated Mechanisms for the Pacemaker Depolarization of the Mouse and Guinea Pig Sinus Node Tissue	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 377 ~ 377
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom12030377	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Irie Masahiko, Hiiro Haruhito, Kato Shu, Kuramochi Mizuki, Hamaguchi Shogo, Namekata Iyuki, Tanaka Hikaru	4. 巻 143(4)
2. 論文標題 Differential effects of class I antiarrhythmic drugs on the guinea pig pulmonary vein myocardium: Inhibition of automatic activity correlates with blockade of a diastolic sodium current component	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of pharmacological sciences	6. 最初と最後の頁 325-329
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2020.05.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Namekata Iyuki, Odaka Ryosuke, Hamaguchi Shogo, Tanaka Hikaru	4. 巻 43(12)
2. 論文標題 KB-R7943 Inhibits the Mitochondrial Ca ²⁺ Uniporter but Not Na ⁺ -Ca ²⁺ Exchanger in Cardiomyocyte-Derived H9c2 Cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biological & pharmaceutical bulletin	6. 最初と最後の頁 1993-1996
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b20-00747	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hamaguchi Shogo, Kariya Marin, Ozaki Aya F., Namekata Iyuki, Tanaka Hikaru	4. 巻 44(3)
2. 論文標題 Contribution of ATP-Mediated Positive Feedback to Sympathetic Nerve-Induced Positive Inotropy in Guinea Pig Ventricular Myocardium	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biological & pharmaceutical bulletin	6. 最初と最後の頁 458-460
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b20-00732	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Namekata Iyuki, Odaka Ryosuke, Hamazaki Shunsuke, Nisaka Hina, Hamaguchi Shogo, Tanaka Hikaru	4. 巻 44(1)
2. 論文標題 Fluorescence Discrimination of Pharmacological Effects on the Na ⁺ -Ca ²⁺ Exchanger and Sarco-Endoplasmic Reticulum Ca ²⁺ -ATPase in Mouse Ventricular Cardiomyocytes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biological & pharmaceutical bulletin	6. 最初と最後の頁 154-157
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b20-00701	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計9件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 田中光、行方衣由紀、瀧口正悟、金江春奈、野口和雄
2. 発表標題 心筋弛緩の薬理学的研究：弛緩を促進する天然由来化合物の探索
3. 学会等名 第22回応用薬理シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 斎藤太郎、大場亜衣子、高野裕大、瀧口正悟、行方衣由紀、田中光
2. 発表標題 ATX-11はNa ⁺ /Ca ²⁺ 交換機構の逆方向回転モードの活性化を介して肺静脈心筋細胞の細胞内Na ⁺ およびCa ²⁺ 濃度を上昇させる
3. 学会等名 第30回日本バイオイメーシング学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 尾高 椋介、瀧口正悟、行方衣由紀、田中光
2. 発表標題 自発的 Ca ²⁺ transient の発生における Na ⁺ /Ca ²⁺ exchanger の役割 モルモット洞房結節細胞での検討
3. 学会等名 第30回日本バイオイメーjing学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 栗山 恵弥、深井 梨沙、宮園佳歩、泉佐和、山口真由、田中光、田中直子
2. 発表標題 ショウガ辛辣成分ショウガオールが骨格筋の運動機能の質に与える影響
3. 学会等名 第30回日本バイオイメーjing学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 尾高 椋介、瀧口正悟、行方衣由紀、田中光
2. 発表標題 Low Na ⁺ 液がモルモット洞房結節の自発的な電気活動とCa ²⁺ 動態に及ぼす影響
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 行方衣由紀、石岡沙奈恵、宮原万里那、塚田航平、川添彩可、瀧口正悟、田中光
2. 発表標題 モルモット摘出大動脈標本における 群抗不整脈薬のアドレナリン 受容体遮断作用
3. 学会等名 第143回日本薬理学会関東部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋藤太郎、大場亜衣子、高野裕大、瀧口正悟、行方衣由紀、田中光
2. 発表標題 モルモット肺静脈心筋細胞におけるATX- による細胞内イオン濃度変化とNa ⁺ /Ca ²⁺ 交換機構の関与
3. 学会等名 第94回日本薬理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 尾高棕介、瀧口正悟、行方衣由紀、田中光
2. 発表標題 モルモット洞房結節細胞の自発的Ca ²⁺ transientに対するNa ⁺ /Ca ²⁺ 交換機構の寄与の検討
3. 学会等名 日本薬学会141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 瀧口正悟、行方衣由紀、田中光
2. 発表標題 心筋興奮収縮機構の発達変化
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会 第98回日本生理学会大会 合同大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------