

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：11401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16116

研究課題名（和文）リークK+電流による心房細動抑制効果の分子機構

研究課題名（英文）Molecular Mechanisms of Atrial Fibrillation Suppression by Leak K+ Current

研究代表者

岡本 洋介（Okamoto, Yosuke）

秋田大学・医学系研究科・講師

研究者番号：50758224

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は心臓心房におけるリークK電流の生理機能を解明することである。ラットラット心房不整脈誘発モデルではリークK電流の活性化により不整脈が抑制される。リークKチャンネルのコンディショナルノックアウト（CKO）マウスでは交感神経刺激で心房性不整脈が遷延する事が確認された。現在、リークKチャンネルの膜電位安定化作用を細胞レベルで検証中である。また、リークKチャンネルと相互作用する新規分子を同定した。この分子のCKOを作出するためfloxマウスとCreマウスを入手した。このCKOではリークK電流が間接的に影響を受ける事が予想されるがまだ実験に至っていない。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は心房筋の膜電位の安定に、心室筋細胞とは違う機構が存在する可能性を示唆している。心室筋では強力に膜電位を固定している内向き整流性K電流があるが、心房筋ではこの電流は比較的小さい。一方で、リークK電流を活性化すると不整脈が抑制され、ノックアウトすると不整脈が増える事実は、心臓生理学に新しい知見をもたらす可能性がある。また、上室性不整脈に対するリークK電流の影響は明らかでないため、病態生理学的、あるいは新規抗不整脈薬の開拓にも意義があるものと思われる。

研究成果の概要（英文）：In a rat model of induced atrial arrhythmias, activation of leaky K currents suppresses arrhythmias. In conditioned knockout (CKO) mice of the leaky K channel, atrial arrhythmias were observed to be prolonged by sympathetic nerve stimulation. We are currently examining the membrane potential stabilizing effects of leaky K channels at the cellular level. We have also identified a novel molecule that interacts with leaky K channels. To generate CKO of this molecule, we obtained floxed and Cre mice. This CKO is expected to indirectly affect the leaky K current, but this has not yet been tested.

研究分野：生理学

キーワード：心房性不整脈 リークK電流 ノックアウトマウス

## 1. 研究開始当初の背景

心房細動は最も頻度の高い不整脈であり、我が国では心房細動患者は約 170 万人いるとされている。心房細動に伴うリズム異常は、心不全や心筋梗塞等の心疾患患者の予後を大きく左右するのみでなく、脳梗塞や認知症といった心外疾患を引き起こす原因ともなっている。1998 年、心房細動の起源は実は心房ではなく肺静脈に存在する心筋細胞から生じる異所性興奮であるという画期的な発見が報告されて以来 (Haissaguerre, *N Engl J Med.* 1998)、肺静脈心筋を左房から電氣的に隔離する肺静脈焼灼術など、心房細動治療は大きく進歩した。肺静脈における異常興奮発生のメカニズムについても、実験動物を使った電気生理学的なアプローチによりいくつかの新たな知見が提出されていた。それにもかかわらず、世界的規模で患者数は増加の一途であり、新規治療法の開拓は常に国際的な関心事項である。申請者は、ラットの肺静脈心筋細胞を単離する技術を開発し、肺静脈研究に分子生物学実験を導入することに成功した。この技術を用いた研究により、(1) 肺静脈心筋におけるノルエピネフリン誘発性自動能の発生機構 (Okamoto, *et al. J Mol Cell Cardiol.* 2012)、(2) 肺静脈心筋細胞における新規 Cl<sup>-</sup>電流の不整脈促進機序 (Okamoto, *et al. J Mol Cell Cardiol.* 2014)、(3) その新規 Cl<sup>-</sup>電流の分子実態 (Okamoto, *et al. J Biol Chem.* 2019)を発見・発表した。このように、肺静脈で生じる異所性興奮の分子機構は、一部ではあるが、申請者の研究により明らかにされた。しかし、肺静脈における不整脈トリガーは病態の構成要素に過ぎず、心房基質自体における、機能性不整脈の分子機構はほとんど未解明なままである。

## 2. 研究の目的

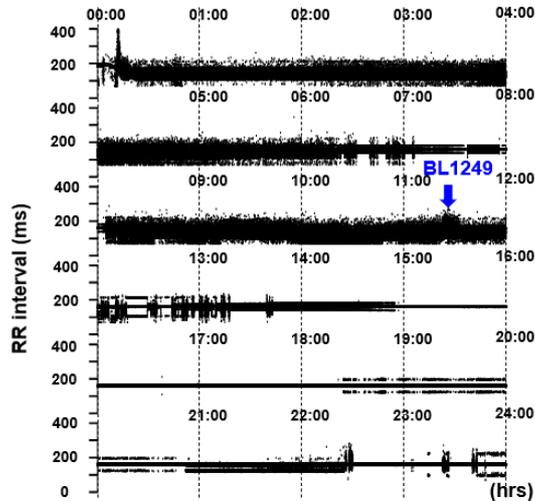
本研究の目的は、(1) 心室以外の心筋細胞における直列ポアドメイン K<sup>+</sup>チャンネルの制御機構を解明し、(2) リーク K<sup>+</sup>電流の心臓における生理機能を観察し、(3) ヒト疾患としての心房細動の病態生理・薬理学研究に応用しようとするものである。以上に述べたように、申請者はこれまで肺静脈から発生する不整脈トリガーの分子機構を解明してきたが、依然、心房細動治療に特化した抗不整脈薬の発見には至っていない。研究対象を肺静脈に限らず、上大静脈や心房全体に拡大し、なおかつ未開の分子に着目することで先駆的な研究を目指した。

## 3. 研究の方法

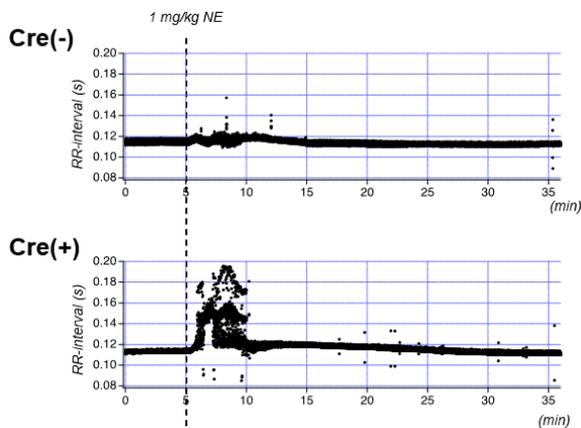
- (1) ラット心房性不整脈誘発モデルにリーク K<sup>+</sup>電流活性化薬を投与する事で、K<sup>+</sup>電流の不整脈に対する効果を確認する。
- (2) TREK-1 心臓特異的 KO マウスを使って、リーク K<sup>+</sup>電流が無いと不整脈が起きやすいことを確認する。
- (3) 複数の動物種を使って、TREK-1 チャンネルを制御する分子を確認する。

## 4. 研究成果

ラットラット心房不整脈誘発モデルではリーク K 電流の活性化薬 (BL1249) の投与により不整脈が抑制される【下図】。



リーク K チャンネルのコンディショナルノックアウト (CKO) マウスでは交感神経刺激で心房性不整脈が遷延する事が確認された【下図】。



現在、リーク K チャンネルの膜電位安定化作用を細胞レベルで検証中である。

また、リーク K チャンネルの共免疫沈降物の質量分析解析でリーク K チャンネルと相互作用する新規分子を同定した。この相互作用は、マウス、ラットならびにヒトサンプルで確認してある。この分子の CKO を作出するため flox マウスと Cre マウスを入手入手した。この CKO ではリーク K 電流が間接的に影響を受ける事が予想されるがまだ実験に至っていない。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7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 Okamoto Yosuke, Ono Kyoichi	4. 巻 12
2. 論文標題 Molecular Pathogenesis of Cardiac Arrhythmia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 1393 ~ 1393
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom12101393	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 Okada Daigo, Okamoto Yosuke, Ito Toshiro, Oka Miho, Kobayashi Daiki, Ito Suzuka, Yamada Ryo, Ishii Kuniaki, Ono Kyoichi	4. 巻 12
2. 論文標題 Comparative Study of Transcriptome in the Hearts Isolated from Mice, Rats, and Humans	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 859 ~ 859
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom12060859	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 Okamoto Yosuke, Aung Naing Ye, Tanaka Masahiro, Takeda Yuji, Takagi Daichi, Igarashi Wataru, Ishii Kuniaki, Yamakawa Mitsunori, Ono Kyoichi	4. 巻 12
2. 論文標題 Preferential Expression of Ca <sup>2+</sup> -Stimulable Adenylyl Cyclase III in the Supraventricular Area, including Arrhythmogenic Pulmonary Vein of the Rat Heart	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 724 ~ 724
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom12050724	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 Kiichi Takahashi, Takayoshi Ohba, Yosuke Okamoto, Atsuko Noguchi, Hiroko Okuda, Hatasu Kobayashi, Kouji H Harada, Akio Koizumi, Kyoichi Ono, Tsutomu Takahashi	4. 巻 7(6)
2. 論文標題 E44Q mutation in Na V 1.7 in a patient with infantile paroxysmal knee pain: electrophysiological analysis of voltage-dependent sodium current	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Heliyon	6. 最初と最後の頁 e07396
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.heliyon.2021.e07396	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 Fumiaki Nasu, Yutaro Obara, Yosuke Okamoto, Hiroaki Yamaguchi, Kazuya Kurakami, Ikuo Norota, Kuniaki Ishi	4. 巻 269
2. 論文標題 Azelnidipine treatment reduces the expression of Cav1.2 protein	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Life Sciences	6. 最初と最後の頁 119043
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.lfs.2021.119043	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 Fukuda Y, Higashiya M, Obata T, Basaki K, Yano M, Matsumura K, Ono K, Ohba T, Okamoto Y, Nishijima K, Seki S	4. 巻 ioab059
2. 論文標題 Small-volume vitrification and rapid warming yield high survivals of one-cell rat embryos in cryotubes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biol Reprod	6. 最初と最後の頁 ioab059
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/biolre/ioab059	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 岡本 洋介	4. 巻 40(3)
2. 論文標題 肺静脈におけるカテコラミン誘発性不整脈の分子基盤	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 心電図 (日本不整脈心電学会誌)	6. 最初と最後の頁 141 - 148
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5105/jse.40.141	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	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 岡本 洋介, Naing Ye Aung, 小林 大礎, 尾野 恭一
2. 発表標題 心臓上室区域に特化して発現するCa <sup>2+</sup> 刺激性アデニル・シクラーゼAC3の肺静脈不整脈への関与
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小林 大礎, 岡本 洋介, 岡田 大瑚, 尾野 恭一, 石井 邦明.
2. 発表標題 マウス, ラット, ヒトにおける心臓トランスクリプトームの比較研究.
3. 学会等名 第32回循環薬理学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岡本 洋介, 岡田 大瑚, 小林 大礎, 尾野 恭一, 石井 邦明.
2. 発表標題 マウス, ラット, およびヒトにおける心臓トランスクリプトームの比較研究.
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会・第43回日本臨床薬理学会学術総会 同時開催
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡本 洋介, 岡田 大瑚, 小林 大礎, 石井 邦明, 尾野 恭一.
2. 発表標題 マウス, ラット, ヒトの心臓トランスクリプトームの比較研究.
3. 学会等名 生理学研究会-比較統合生理学的観点からの循環生理の解析
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Okamoto Y, Okada D, Tarasov KV, Tarasova YS, Ziman DZ, Lakatta EG, Io T, Shinozaki K, Kobayashi D, Yamada R, Ono K.
2. 発表標題 Comparative study on transcriptome in the hearts isolated from mouse, rat, and human.
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡本 洋介, Naing Ye Aung, 高木 大地, 五十嵐 亘, 尾野 恭一
2. 発表標題 肺静脈動能に関するアデニル酸シクラーゼ
3. 学会等名 第53回東北生理談話会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡本 洋介, Naing Ye Aung, 高木 大地, 五十嵐 亘, 尾野 恭一
2. 発表標題 カテコラミン誘発性肺静脈自動能におけるCa <sup>2+</sup> 刺激性アデニル酸シクラーゼの関与
3. 学会等名 生理学研究所研究会「比較統合生理学的観点からの循環生理の解析」
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡本洋介, 福田康義, 尾野恭一
2. 発表標題 KCNK2とアクチン-トロポミオシン骨格の相互作用
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術大会第98回日本生理学会大会合同大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡本洋介, 高木大地, 福田康義, 尾野恭一
2. 発表標題 肺静脈の不整脈発生機構
3. 学会等名 第52回東北生理談話会
4. 発表年 2020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
研究協力者	岡田 大瑚  (Okada Daigo)  (10911852)	京都大学    (14301)	

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			
米国	オハイオ州立大学			