

平成 26 年 5 月 12 日現在

機関番号：17501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23790249

研究課題名(和文)糖尿病モデル動物の心房細動発生におけるIfチャネルリモデリングの役割

研究課題名(英文)Role of If channel remodeling in atrial fibrillation appearance in diabetes

研究代表者

篠原 徹二 (TETSUJI, SHINOHARA)

大分大学・医学部・助教

研究者番号：60457629

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円、(間接経費) 720,000円

研究成果の概要(和文)：洞結節自動能は、Ifチャネルを中心とした膜電流系のMembrane clockと細胞内Ca²⁺ サイクル系Ca²⁺ clockがそれぞれ相補的に活動することによって調節されている。1型糖尿病モデルラットを用いて実験を行ったところ、洞結節機能障害が生じていた。そして、Ifチャネルの構成蛋白であるHCN4とCa²⁺ clockを担っているリアノジンレセプターやホスホランバンのmRNA発現が抑制されていた。以上のことから、1型糖尿病ラットにおいては洞結節自動能におけるCa²⁺ clock機能障害が生じていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Both the membrane clock and the Ca²⁺ clock are important in the initiation of the heart beat, and malfunction of these two clocks leads to sinoatrial node (SAN) dysfunction. SAN function and arrhythmic events were evaluated in 14 weeks old male hereditary insulin-resistant Otsuka Long-Evans Tokushima fatty (OLETF) rats and control Long-Evans Tokushima Otsuka (LETO) rats. OLETF rats showed longer correct sinus node recovery time. The mRNA levels of HCN4, RyR2, and phospholamban were downregulated in OLETF rats compared with LETO rats (p<0.01). SAN dysfunction in insulin-resistant rats was associated with malfunction of both membrane clock and Ca clock.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学

キーワード：洞房結節 心房細動 糖尿病 洞不全症候群

1. 研究開始当初の背景

洞結節のリズム発生に関して、If チャンネルを中心とした membrane clock と筋小胞体からの spontaneous Ca²⁺ release による Ca clock が言われている。しかし、洞結節以外の心臓領域においてはそのリズム発生のメカニズムは十分には明らかにされていない。そこで、我々はイヌモデルに対して筋小胞体からの spontaneous Ca²⁺ release の抑制を行い、洞結節の Ca clock が障害された際に交感神経興奮によって誘発される異所性心房調律に If チャンネルが関与していることを報告した (Heart Rhythm, 2010)。

心不全患者においては、心室筋のリモデリングによる心室機能障害のみならず、洞不全症候群が多く引き起こされ、心房細動発生の危険因子であることが報告されている。そして、心房細動の治療として、現在ダウンストリーム治療として、Na や K チャンネルブロッカーの内服、および心房細動の発生原因となる肺静脈起源の興奮に対する電氣的隔離を目指すカテーテルアブレーション治療が行われている。しかし、その心房細動の原因となる異所性興奮の発生メカニズムへの If チャンネルの関与は明らかではなかった。そのため、我々は心室ペースング誘導心不全イヌモデルを作成し、検討を行った (Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010)。その結果、心不全状態において洞結節における Ca clock が障害されたために交感神経興奮時における洞結節機能活性化が抑制された。そしてその際誘発された異所性心房調律は If チャンネルをブロックすることにより有意に抑制された。このことより、心不全患者において認められる心房期外収縮および心房細動の発生に If チャンネルが関与している可能性が示唆された。

一方、心不全とともに糖尿病は心血管イベントの重要な危険因子であり、本邦での Niigata Preventive Medicine Study (Circulation, 2008)においてメタボリック症候群が心房細動発生に関与していることが明らかにされた。しかし、その発生メカニズムはまだ明らかではなく、現在有効な予防方法としては糖尿病治療を適切に行うことのみである。そのため、我々はこれからの研究課題として、糖尿病モデルにおける異所性心房調律のメカニズムを明らかにすることとした。

2. 研究の目的

糖尿病患者においては洞結節と心房筋に If チャンネル蛋白のリモデリングが起こっており、これにより心房細動が発生しやすくなっているのではないかと着想し、If チャンネルブロッカーの投与もしくは If チャンネル蛋白のリモデリングを抑制することで心房細動の発生を抑制できるという仮説をたて、研究す

ることとした。また、心不全モデルと同様に型糖尿病モデルラットにおいても、Ca clock が障害され、交感神経興奮時における洞結節機能活性化が抑制されているか否かを評価した。そして、そのことに Ca²⁺ ハンドリングに関わっているリアノジンレセプターやホスホランパンの蛋白発現が関与していると仮定して、実験を行った。

3. 研究の方法

モデルには、Otsuka Long-Evans Tokushima fatty (OLETF) ラットという型糖尿病モデルラットを使用した。そして、対照正常モデルとして Long-Evans Tokushima Otsuka (LETO) ラットを使用した。ブドウ糖負荷試験を行い、14 週齢においてインスリン抵抗性を有する糖尿病モデルになっていたため、本実験においては 14 週齢の OLETF ラットと LETO ラットをそれぞれ使用して実験を行った。これらのラットに対して麻酔鎮静下に内頸静脈経由の経静脈右房ペースングを行い、洞結節機能回復時間を評価した。さらに、quantitative reverse transcription PCR 実験において、洞結節組織および心房筋組織における細胞内の Ca²⁺ ハンドリングに関わっているリアノジンレセプターやホスホランパンおよび If チャンネルの構成成分である HCN4 の mRNA 発現量を評価した。そのほか、組織内における TNF- α やインターロイキン 6 といった炎症性サイトカインの定量も併せて行った。

4. 研究成果

(1) 生体心臓における洞結節機能の評価実験：

OLETF ラットでは、LETO ラットと比較して洞結節機能回復時間が有意に延長していた。さらに、イソプロテレノール添加時の心拍上昇率も障害されていた。

(2) 摘出心臓における洞結節組織および心房筋組織の quantitative reverse transcription PCR 実験：

洞結節組織の quantitative reverse transcription PCR 実験においては、リアノジンレセプターやホスホランパンの mRNA 発現量が OLETF ラットにおいて LETO ラットと比較して有意に低下していた。If チャンネルの構成成分である HCN4 の mRNA 発現は OLETF ラットにおいて LETO ラットと比較して有意に低下していた。

(3) 炎症性サイトカインの評価

TNF- α やインターロイキン 6 の mRNA 発現は、OLETF ラットにおいて LETO ラットと比較して有意に亢進していた。

(4) 結論

以上の結果から、型糖尿病ラットにおいては洞結節自動能におけるCa²⁺ clock機能障害が生じており、そのことが洞結節機能障害を引き起こしていることが確認された。さらに、これらのことに型糖尿病ラットにおける炎症性サイトカインの増加が関与している可能性が示唆された。

(5) 今後の展望

洞結節自動能におけるCa²⁺ clock機能障害の研究は、さまざまな病態から引き起こされる洞結節機能障害発生のメカニズムを明らかにできるかもしれない。そして、そのことが洞不全症候群に対する新たな治療法の開発につながることを期待できるため、今後さらなる研究が望まれる。

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 3 件)

1. Shinohara T, Ebata Y, Ayabe R, Fukui A, Okada N, Yufu K, Nakagawa M, Takahashi N. Combination therapy of cilostazol and bepridil suppresses recurrent ventricular fibrillation related to J-wave syndromes. Heart Rhythm. 2014. *in press*.

2. Shinohara T, Kim D, Joung B, Maruyama M, Vembaiyan K, Back TG, Wayne Chen SR, Chen PS, Lin SF. Carvedilol analog modulates both basal and stimulated sinoatrial node automaticity. Heart Vessels. 2014;29:396-403.

3. Fukui A, Takahashi N, Nakada C, Masaki T, Kume O, Shinohara T, Teshima Y, Hara M, Saikawa T. Role of leptin signaling in the pathogenesis of angiotensin II-mediated atrial fibrosis and fibrillation. Circ Arrhythm Electrophysiol. 2013;6:402-409.

[学会発表](計 5 件)

1. Fukui A, Kondo H, Saito S, Nishi S, Shinohara T, Teshima Y, Saikawa T, Takahashi N. Hyperleptinemia Exacerbates High Fat Diet-mediated Atrial Remodeling and Fibrillation. 日本循環器学会総会学術集会 2014年3月 東京

2. Kondo H, Takahashi N, Saito S, Fukui A, Nishio S, Aoki K, Shinohara T, Teshima Y, Hara M, Saikawa T. Role of Spleen-Derived Interleukin-10 in High-Fat-Diet-Induced Inflammatory Atrial Fibrosis and Fibrillation. 日本循環器学会総会学術集会 2014年3月 東京

3. Kondo H, Saito S, Fukui A, Nishio S, Shinohara T, Teshima Y, Takahashi N. Interleukin-10 Treatment Attenuates Sinus Node Dysfunction and Atrial Fibrillation Vulnerability Caused by Streptozotocin-Induced Hyperglycemia. 日本循環器学会総会学術集会 2014年3月 東京

4. Fukui A, Shinohara T, Takahashi N, Kondo H, Saito S, Teshima Y, Hara M, Saikawa T. Insulin-resistance modulate both Membrane clock and Ca²⁺ clock leading to sinus node dysfunction. 日本循環器学会総会学術集会 2013年3月 横浜

5. Fukui A, Takahashi N, Shinohara T, Saikawa T. Role of Leptin Signaling in Pathogenesis of Atrial Fibrosis and Fibrillation. 日本循環器学会総会学術集会 2012年3月 福岡

[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

6. 研究組織
(1)研究代表者
篠原 徹二(シノハラ テツジ)

研究者番号: 60457629

(2)研究分担者
()

研究者番号:

(3)連携研究者 ()

研究者番号：