

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 27 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24790214

研究課題名(和文)心筋Naチャンネルの細胞内再分布の致死性不整脈発生における役割：インシリコ研究

研究課題名(英文)Roles of subcellular sodium channel redistribution in the generation of lethal arrhythmia: in silico study

研究代表者

津元 国親(Tsumoto, Kunichika)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：70353331

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：心臓は、心筋細胞の電氣的興奮と正確な興奮伝播によって、生命維持に必要な血液循環ポンプとしての機能を発揮する。その興奮発生と興奮伝播に重要な役割を担うナトリウム(Na)チャンネルは、先天的ないし後天的な異常によって、細胞内での発現分布を変化させる。コンピュータシミュレーションを用いて、この細胞内Naチャンネル分布変化の致死的不整脈発生への影響を調べた。その結果、興奮伝導障害やリエントリー性頻拍が、心筋細胞のNaチャンネル分布依存的に発生することを明らかにした。本成果は、これまで考慮されてこなかったイオンチャンネルの細胞内分布が、致死的不整脈の発生に関与する可能性を示すことに初めて成功した。

研究成果の概要(英文)：The contractile function in the heart results from the accurate propagation of action potentials in cardiomyocytes. The voltage-gated sodium (Na) channels, playing key roles in the action potential initiation and the propagation, alters the distribution within a myocyte in congenital and acquired disorder. We considered effects of changes in subcellular Na channel distribution on the occurrence of lethal arrhythmia. Using computer simulation, we showed that the conduction disorder and the initiation of reentrant tachyarrhythmia may be partly attributable to the subcellular Na channel distribution. These results suggest that not only the function of ion channels but also the subcellular distribution may be partly responsible for the occurrence of lethal arrhythmia.

研究分野：計算生理学

キーワード：ナトリウムチャンネル 心筋細胞モデル 興奮伝播 コンピュータシミュレーション リエントリー性頻拍 Phase-2 リエントリー

1. 研究開始当初の背景

心臓突然死の原因の多くは、致死性不整脈の発生にあると考えられている。その致死性不整脈発生の背景には、先天的ないし後天的な異常による心筋イオンチャネルの機能変化とそれに伴う心筋細胞の電氣的挙動の変化にあることが多数報告されてきた。しかしながら、致死性不整脈の発生機序は未だ完全には解明されていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、心室筋細胞における電氣的興奮と伝導に重要な役割を担うナトリウム(Na)チャネルの細胞内分布変化が致死性不整脈の発生にどのような影響を及ぼすかを検討することにある。

心筋イオンチャネルの機能変化が、細胞レベルでの電氣的な活動を如何に変えるかについての理解は進んだものの、臓器レベルでの電氣的挙動である不整脈がどのように誘発されるのか、つまりイオンチャネルの機能変化と不整脈発生との間の関係については未だ不明な点が多い。先行研究によれば、虚血によって心臓がダメージを受けると、心筋細胞の細胞膜全体に分布していた Na チャネルが細胞内で偏在化し、Na チャネルの細胞内再分布が起こる。また Na チャネルの細胞内分布に異常を来たす遺伝子変異も知られている。そこで、心筋細胞内での Na チャネル分布の変化が興奮伝播を如何に変化させるのか、心室頻拍・細動といった致死性不整脈の発生にどのように寄与するのかについて検討する。

3. 研究の方法

Na チャネルの細胞内分布変化が致死性不整脈の発生にどのように関与するかを検討すべく、コンピュータシミュレーションによる現象の解析に取り組む。具体的には、心筋線維モデル(図 1(A))を構築し、各々の心筋細胞の Na チャネル分布を系統的に変化させながら、致死性不整脈の発生にどのように関与するかを検討した。

心筋線維モデルは、各々の心筋細胞が Gap-junction 機構と細胞間での膜電位干渉機構(Electric Field 機構)の双方により、電氣的に結合した(クレフトモデル: 図 1(B))。更に、ヒトを含む哺乳類の心筋細胞の Na チャネルは細胞膜上で均質に発現するのではなく、介在板部分での発現密度が高いことが知られている。Na チャネル分布の細胞内不均質性を再現するため、各々の心筋細胞を 2 つの介在板と 1 つの細胞体側面膜の 3 つの膜セグメントにより構成する(図 1(D))ことで、Na チャネルの細胞内不均質性を再現した。また、比較検討のため、Gap-junction 機構のみで結合した非クレフトモデル(図 1(C))も構築した。本

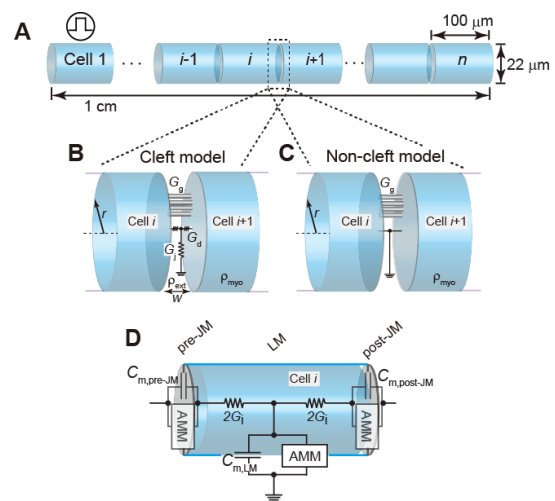


図 1 心筋線維モデルの模式図

研究ではこれらの心筋線維モデルを基本としたコンピュータシミュレーションにより:

- (1) 細胞内 Na チャネル分布と Phase-2 Reentry の発生との間の関係性、
 - (2) 心筋梗塞下における細胞内 Na チャネル分布変化と I 群抗不整脈薬の催不整脈性、
 - (3) 2 次元組織モデルへの拡張と興奮伝播への Na チャネル分布変化の影響
- の検討を実施した。

4. 研究成果

本研究において、新たな興奮伝導機構である細胞間膜電位干渉機構(Electric Field 機構)を考慮したクレフトモデル(図 1(B))を提案し、活動電位波形や興奮伝導速度に心筋細胞内での Na チャネルの分布変化が著明に影響を与えることを報告した。Na チャネルの細胞内再分布が致死性不整脈の発生に関与する可能性の一端を示すことに成功した。以下、その詳細を示す。

- (1) 細胞内 Na チャネル分布と Phase-2 Reentry の発生との間の関係性。

Phase-2 reentry は、ブルガダ症候群における心室頻拍・心室細動発生の切欠になると考えられている。細胞内 Na チャネル分布を様々に変えながら、Phase-2 reentry 発生条件の定量化を行った。その結果、細胞体側面膜から選択的に Na チャネルが減少し(心室筋細胞に発現する Na チャネル全体の 5%以下)、介在板に Na チャネルの過度な発現集中が起きることで、Phase-2 reentry の発生をみた(図 2)。ブルガダ症候群患者に発生する致死性不整脈は、Na チャネルを構成するタンパク質の遺伝子異常による Na チャネルの機能低下が要因であると考えられているが、このような遺伝子異常がみられるのは、患者全体の 3 割程度であり、残る 7 割の患者で発生する不整脈の要因と機序はよく分かっていない。先行研究のほとんどは、イオンチャネルの機能変化の点からブルガダ症候群における不整脈の

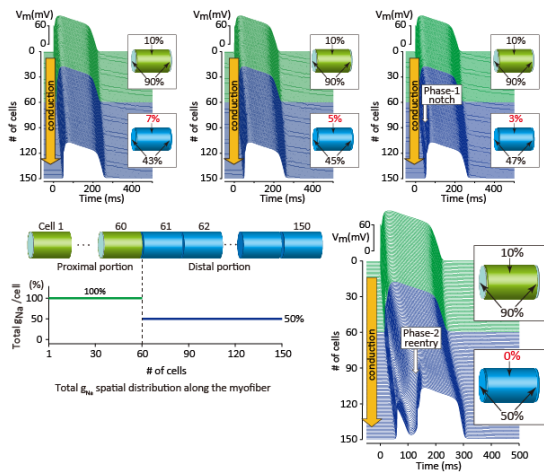


図 2 Phase-2 reentry 発生と Na チャンネル分布の関係

発生を説明するものであるが、本研究の結果に基づけば、Na チャンネル自体に機能異常はなくとも、Na チャンネルの細胞内分布を決める部分に何らかの異常があれば、表現型としてブルガダ症候群になる可能性があることを初めて予測できた。本成果は現在、投稿準備中である。

(2) 心筋梗塞下における細胞内 Na チャンネル分布変化と I 群抗不整脈薬の催不整脈性

心筋梗塞発症により虚血状態となった心筋細胞では、細胞体側面膜から選択的に Na チャンネルの発現が低下することが報告されていたが、その意義はよく分かっていなかった。介在板と細胞体側面膜との Na チャンネル発現比を系統的に変えながら、興奮伝導速度への影響を検討した(図 3)。その結果、クレフトモデル(図 1(B))では、細胞体側面膜からの選択的な Na チャンネル発現の低下により、動物実験で報告されていた虚血組織内での著明な興奮伝導速度の低下(健常組織下に比べ 35%の伝導速度低下)を再現することができた(図 3A)。一方、従来型の非クレフトモデル(図 1(C))では、上述の興奮伝導速度の低下を再現することができなかった(図 3B)。さらに、健常組織と虚血組織から構成した環状心筋線維モデル(図 3C 左)において、I 群抗不整脈薬による Na チャンネル遮断が、リエントリー(図 3C 右赤領域)を誘発しやすくする傾向にあることを示した。虚血領域の組織興奮性の低下が I 群抗不整脈薬投与によってより増強され、健常領域と虚血領域との接合部分で一方方向性伝導ブロックを誘発した(図 3C 中)。一方方向性伝導ブロックの発生を切欠として、リエントリー頻拍が誘発された。これらは、90年代に実施された陈旧性心筋梗塞患者を対象とした I 群抗不整脈薬投与による不整脈抑制試験において示された生命予後悪化の原因が、I 群抗不整脈薬の催不整脈作用によるものである可能性を示している。

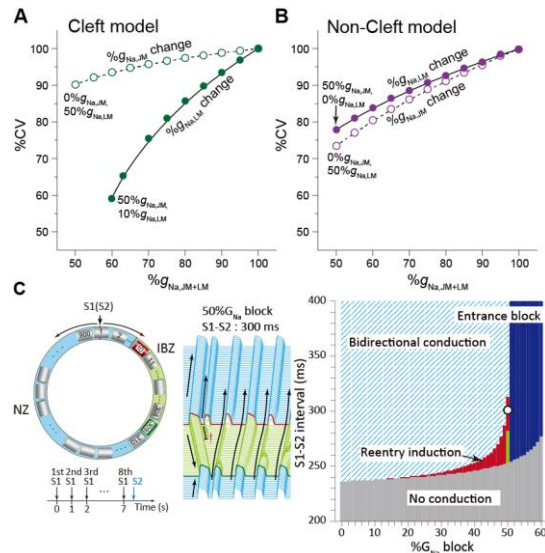


図 3 細胞内 Na チャンネル分布変化と I 群抗不整脈薬の催不整脈性

(3) 2次元組織モデルへの拡張と興奮伝播への Na チャンネル分布変化の影響

心室頻拍・心室細動の実態である旋回興奮波を生じるためには、少なくとも2次元の広がりを持った心筋組織が必要となる。心筋細胞を2次元的に配列することで心筋線維間での膜電位干渉機構を導入した心筋シートモデルを構築し(図 4b,d)、生理的な興奮伝播

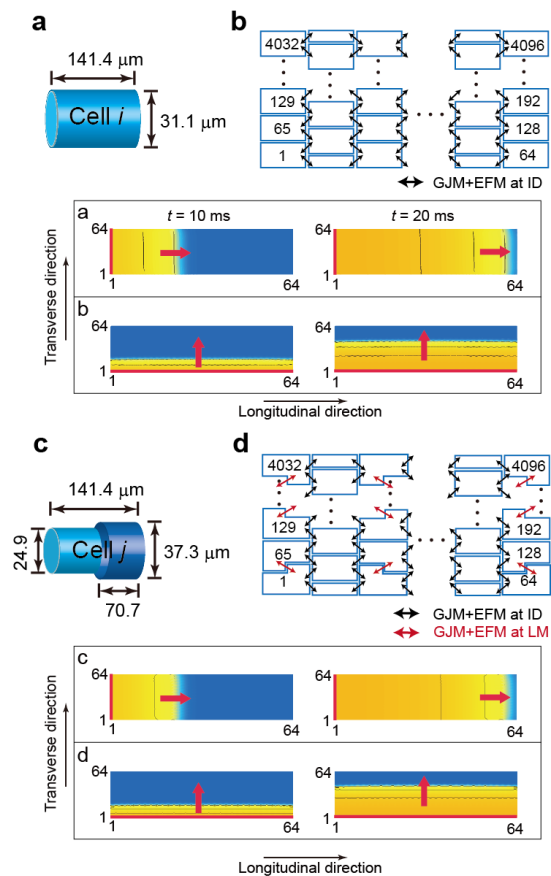


図 4 心筋シートモデルの構築と興奮伝播シミュレーション

が再現できるかを検証した。従来のシリンダー形状(図 4a)の心筋細胞を用いた 2 次元シートモデル(図 4b)では、心筋細胞の長軸方向の興奮伝播速度が生理的速度(約 50cm/s)を再現するのに対し、細胞短軸方向の興奮伝播速度が遅すぎる(約 7cm/s)という問題がみられた。実際の短軸方向の興奮伝播速度は、長軸方向の伝播速度のおよそ 1/3 (約 18~20cm/s)であることが知られている。そこで、実際の心筋細胞において見られる細胞体側面部分に不規則に存在する介在板を考慮した細胞形態へと心筋細胞の形状を変えた(図 4c)。細胞側面部分で電氣的相互作用が発生するため、細胞短軸方向の興奮伝播速度が上昇すると予想された。細胞長軸方向の興奮伝播速度は依然として生理的速度を維持できるものの、しかしながら、心筋細胞短軸方向の伝播速度はやはり生理的速度を達成できなかった(約 8cm/s)。実際の心室筋細胞は、1 心筋細胞当たり 8~9 箇所周辺細胞と電氣的に連絡しているという報告がある。更に心筋細胞側面部分の介在板数を増やし、心筋線維間の連絡数を増やす必要があると考えられた。本成果は現在、投稿準備中である。

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 Kunichika Tsumoto, Takashi Ashihara, Ryo Haraguchi, Kazuo Nakazawa, Yoshihisa Kurachi, Ischemia-Related Subcellular Redistribution of Sodium Channels Enhances the Proarrhythmic Effect of Class I Antiarrhythmic Drugs: A Simulation Study. PLoS ONE, 査読有, 9(10), 2014, e109271. doi:10.1371/journal.pone.0109271
- ② Kunichika Tsumoto, Tetsushi Ueta, Tetsuya Yoshinaga, Hiroshi Kawakami, Bifurcation analyses of nonlinear dynamical systems: From theory to numerical computations. Nonlinear Theory and Its Applications, IEICE, 査読有, vol.3, 2012, pp.459-476. doi:10.1587/nolta.3.458

[学会発表] (計 28 件)

- ① Kunichika Tsumoto, Yoshihisa Kurachi, An ischemia-related subcellular redistribution of cardiac sodium channels related to the initiation of reentrant tachyarrhythmia. 第 88 回日本薬理学会年会, 2015 年 3 月 18 日, 名古屋国際会議場(名古屋市)
- ② Kunichika Tsumoto, Yoshihisa Kurachi, An electric field coupling theory is a novel logic to connect cardiac action potentials and excitation propagation. 新学術領域研究「多階層生体機能学」最終成果報告会, 2015 年 3 月 5 日, 大阪大学中之島センター(大阪市)

- ③ 津元国親, 心臓における新たな興奮伝播機構の存在とその意義. BioMecForum21, 2014 年 10 月 25 日, 立命館大学びわこ・くさつキャンパス ローム記念館(草津市)
- ④ 津元国親, 倉智嘉久, 虚血境界領域における心筋細胞内 Na チャネル再分布がリエントリー性心室頻拍の発生機序に関与する可能性について. 新学術領域研究「多階層生体機能学」第九回領域全体会議・研究報告会, 2014 年 8 月 4 日, 秋田大学(秋田市)
- ⑤ 津元国親, 倉智嘉久, 2 次元心筋組織モデル構築と興奮伝播シミュレーション, 第 53 回日本生体医工学会大会, 2014 年 6 月 25 日, 仙台国際会議場(仙台市)
- ⑥ 津元国親, 倉智嘉久, 心筋 Na チャネルの細胞内分布リモデリングが Na チャネル遮断薬による催不整脈性の機序に関与する可能性について:シミュレーション研究. 生理研研究会「心血管膜輸送分子の構造・機能・病態の統合的研究戦略」, 2013 年 11 月 27 日, 生理学研究所(岡崎市)
- ⑦ Kunichika Tsumoto, Takashi Ashihara, Ryo Haraguchi, Kazuo Nakazawa, Yoshihisa Kurachi, Ischemia-induced subcellular remodeling of sodium channels as a mechanism of ventricular proarrhythmia by class-I antiarrhythmic drug. The 37th International Congress of the International Union of Physiological Sciences (IUPS2013), 2013 年 7 月 22 日, The ICC Birmingham, 英国
- ⑧ Kunichika Tsumoto, Takashi Ashihara, Ryo Haraguchi, Kazuo Nakazawa, Yoshihisa Kurachi, Simulation of excitation propagation in the novel brick-wall model of ventricular myocardium. 35th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biological Society, 2013 年 7 月 6 日, 大阪国際会議場(大阪市)
- ⑨ Kunichika Tsumoto, Takashi Ashihara, Ryo Haraguchi, Kazuo Nakazawa, Yoshihisa Kurachi, Proarrhythmic effects of class-I antiarrhythmic agents enhanced by ischemia-induced subcellular remodeling of sodium channels. The 2nd HD physiology international symposium: Multi-level systems biology, 2013 年 6 月 28 日, 丸ビルホール (千代田区)
- ⑩ 津元国親, 芦原貴司, 原口亮, 中沢一雄, 倉智嘉久, 心筋 Na チャネル遮断による催不整脈リスクは虚血境界領域の Na チャネルリモデリングで説明できる. 第 90 回日本生理学会大会, 2013 年 3 月 27 日, タワーホール船堀 (江戸川区)
- ⑪ 津元国親, 芦原貴司, 原口亮, 中沢一雄, 倉智嘉久, 虚血誘発性細胞内 Na チャネルリモデリングによる I 群抗不整脈薬

の催不整脈作用の増強, 平成 24 年度科学研究費補助金・新学術領域研究「多階層生体機能学」第 6 回全体会議, 2013 年 1 月 16 日, 沖縄科学技術大学院大学 (恩納村)

- ⑫ 津元国親, 芦原貴司, 原口亮, 中沢一雄, 倉智嘉久, 陳旧性心筋梗塞下における I 群抗不整脈薬の催不整脈作用の機序: 心筋 Na チャネルの 虚血誘発性細胞内リモデリングとの関連において, 第 22 回日本循環薬理学会, 2012 年 11 月 30 日, 富山国際会議場 (富山市)
- ⑬ 津元国親, 芦原貴司, 原口亮, 中沢一雄, 倉智嘉久, 心筋虚血下における I 群抗不整脈薬の催不整脈性の機序に Na チャネルの細胞内リモデリングが関与する可能性について, 第 122 回日本薬理学会近畿部会, 2012 年 11 月 16 日, 千里ライフサイエンスセンター (吹田市)
- ⑭ 津元国親, 芦原貴司, 原口亮, 中沢一雄, 倉智嘉久, 虚血心筋における Na チャネルの細胞内分布変化が I 群抗不整脈薬の催不整脈性の機序に関与する可能性について, 第 28 回心電情報処理ワークショップ, 2012 年 10 月 28 日, 熱海後楽園ホテル (静岡県)
- ⑮ 古谷和春, 津元国親, 倉智嘉久, Effects of block and facilitation of HERG channel by anti-arrhythmic agents on cardiac action potential: a simulation study. 第 29 回国際心臓研究学会 (ISHR) 日本部会総会, 2012 年 10 月 26 日, 九州大学医学部百年講堂 (福岡県)
- ⑯ 津元国親, 芦原貴司, 原口亮, 中沢一雄, 倉智嘉久, 心筋 Na チャネルの細胞内局在によって発生する Phase-2 リエントリー: ブルガダ症候群との関連において, 第 29 回日本心電学会学術集会, 2012 年 10 月 12 日, 幕張メッセ国際会議場・ホテルニューオータニ幕張 (千葉県)

〔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:
出願年月日:
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
津元 国親 (TSUMOTO Kunichika)
大阪大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号: 70353331
- (2) 研究協力者
倉智 嘉久 (KURACHI Yoshihisa)
大阪大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号: 30142011
- (3) 研究協力者
芦原 貴司 (ASHIHARA Takashi)
滋賀医科大学・循環器内科・講師
研究者番号: 80396259
- (4) 研究協力者
原口 亮 (HARAGUCHI Ryo)
研究者番号: 00393215
- (5) 研究協力者
中沢 一雄 (NAKAZAWA Kazuo)
研究者番号: 50198058