

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：13901

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2010～2014

課題番号：22136010

研究課題名（和文）心臓興奮伝播ダイナミクスとその破綻による致死性不整脈発生機構の統合的解明

研究課題名（英文）Integrated investigation of cardiac excitation propagation dynamics and arrhythmogenic mechanisms

研究代表者

本庄 晴朗（Honjo, Haruo）

名古屋大学・環境医学研究所・准教授

研究者番号：70262912

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 44,800,000円

研究成果の概要（和文）：多階層生物現象である心臓興奮伝播を高分解能光学マッピングを用いて定量的に解析し、そのダイナミクスが心筋イオンチャネル機能と細胞間電気結合および組織構築の相互作用により規定されることを示した。また、旋回性興奮（スパイラル・リエントリー）では興奮波の形状が興奮伝播を規定する重要な要因であることが明らかにした。スパイラル・リエントリーは細動や頻拍など頻脈性不整脈の基本メカニズムであり、旋回中心の不安定化が細動や頻拍の停止を促す不整脈治療戦略となることが示された。

研究成果の概要（英文）：Cardiac impulse propagation is a multi-level biological phenomenon. High-resolution optical mapping revealed that dynamics of cardiac excitation wave propagation was determined by interactions between electrical activity of cardiomyocytes, intercellular communication and myocardial architecture. In the case of circulating excitation, curvature of the propagating excitation wavefront plays additional roles in impulse propagation. This rotating electrical activity i.e. spiral-wave reentry or rotor, underlies cardiac tachyarrhythmia including fibrillation and tachycardia: e.g. persistent atrial fibrillation is maintained by self-sustained 3-dimensional rotors with I-shaped filaments anchored to the atrial pectinate muscle border. Destabilization of the spiral-wave rotation center facilitated early termination of reentrant arrhythmia through collision with anatomical excitation boundaries.

研究分野：医歯薬学

キーワード：循環器内科学 心臓興奮伝播 不整脈 光学マッピング

1. 研究開始当初の背景

心筋組織における興奮伝播は、心筋細胞のイオンチャネル開閉による活動電位の発生、ギャップ結合を介した細胞間の電氣的結合、組織の解剖学的構築、更に興奮波伝播そのものの動的特性など多くの要因により複雑に規定される。この興奮伝播ダイナミクスが内的/外的要因により破綻して興奮波が断裂すると、渦巻型の巡回興奮波 (スパイラル・リエントリー、あるいは rotor) が形成されて細動や頻拍などの臨床的に重要な不整脈が生じると考えられる。このように心筋の興奮伝播は、分子から細胞、組織、臓器に至る多階層の機能相互作用としてとらえる必要があるが、その詳細は未だ十分解明されていない。

2. 研究の目的

本研究では、高分解能光学マッピングの技術を用いて実験動物灌流心臓の巨視的な興奮波伝播現象を細胞レベルの活動電位波形変化の面から捉え、得られた情報に二次元位相解析や波面解析など定量的な時空間解析の手法を適応して興奮伝播ダイナミクスを定量的に解析するとともに、イオンチャネルやギャップ結合機能の役割について明らかにする。

心筋組織構築の不連続性・不均一性や細胞電気興奮の動的不安定性などを基盤として、興奮伝播ダイナミクスに特異点形成される過程 (スパイラル・リエントリーの成立や分裂過程)、特異点の不定在化および解剖学的興奮障壁や特異点どうしの衝突によるその消滅過程 (スパイラル・リエントリーの停止過程) について解析し、細動や頻拍の発生・維持・停止の機構を解明する。

これらの研究により蓄積される情報を基盤として、薬物によるイオンチャネル機能の修飾、温度変化など複数の因子を協調的に調節することにより、心臓スパイラル・リエントリーを効果的かつ確実に制御する手法について探索し、新たな不整脈治療戦略を提案する。

3. 研究の方法

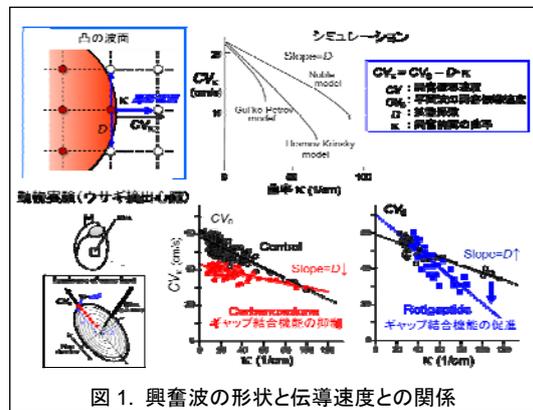
実験動物摘出灌流心臓の正常心拍および不整脈 (頻拍/細動) における心筋興奮伝播ダイナミクスを活動電位波形変化の面から解析するため、従来の光学マッピング装置の空間/時間分解能を向上させて局所興奮伝播速度の計測や巡回興奮波の定量的解析が可能なシステムを構築した。また心筋の3次元興奮伝播を解析するため、複数台の高速度カメラと内視鏡を組み合わせ、心外膜/心内膜面同時マッピングシステムを作成した。

4. 研究成果

(1) 興奮波の形状が興奮伝導に及ぼす影響

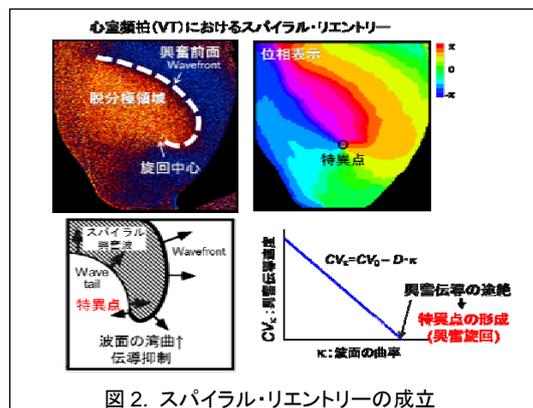
数理モデルを用いた理論的研究では、凸に湾曲した興奮波 (興奮前面の曲率, κ) の興奮伝導速度 (CV_κ) は次の式で近似されること

が示されている: $CV_\kappa = CV_0 - D \cdot \kappa$ 。ここで、 D は電氣的拡散係数、 CV_0 は平面波 [$\kappa=0$] の興奮伝導速度を示す。高分解能の心筋活動電位光学マッピング装置を用いて、ウサギ摘出灌流心臓の心室筋二次元標本の刺激点から楕円状に広がる興奮波の長軸端における興奮前面の曲率と、その点における局所伝導速度を計測した。両者の関係は、上記の理論式でよく近似できることが確認された (図1)。心筋ギャップ機能の抑制 (carbenoxolone 添加) は、平面波の興奮伝導速度 (CV_0) を低下させ、興奮前面の曲率 (κ) と局所伝導速度 (CV) との関係から求めた電氣的拡散係数 (D) も低下させた。ギャップ結合機能の促進 (rotigaptide 添加) は、 CV_0 と D を増加した。このため、 κ と CV との近似直線は交差した。即ち、心筋細胞間の電氣的結合を増強すると、平面波の伝導速度は増すが、強く凸に湾曲した興奮波 ($\kappa > 50-60 \text{ cm}^{-1}$) では興奮伝導はかえって抑制されることが明らかになった。



(2) 渦巻型巡回興奮波 (spiral wave) の成立

細動や頻の成立・持続メカニズムである渦巻型巡回興奮波 (spiral wave) の形成には、興奮波の湾曲に伴う興奮伝導抑制が重要な役割を果たす (図2)。Spiral wave では、平面波とは異なり、興奮媒体中に興奮波の断端 (wave break, 興奮前面と再分極終末が接する点) が存在する。この wave break 付近では興奮前面は凸に強く湾曲しており、この波面の湾曲効果のため、興奮伝導速度が著しく低下し、局所的な伝導途絶をきたして特異点 (singularity point, SP) が形成される。Spiral wave は、この特異点の周囲を巡回し続ける。



(3) スパイラル・リエントリーのダイナミクス

ウサギ摘出心二次元心室筋に直交電場刺激を加えて誘発した心室頻拍 (VT) におけるスパイラル・リエントリーのダイナミクスを、等時線と位相マップを用いて解析した。巡回運動の中心部分には線状の機能的ブロック (functional block line) が認められ、興奮波の巡回に伴う位相特異点 (PS) の軌跡 (PS trajectory) はその中央部分に一致した。この領域の活動電位波形は二峰性電位波形 (double potential) を呈し、機能的ブロック中央部分が電気緊張効果により形成されることが判明した。PS trajectory よりも外側の機能的ブロック両端部分では、興奮波の巡回に伴って興奮前面が強く湾曲し、活動電位立ち上り速度の低下と興奮伝導遅延が認められた。また、この局所伝導遅延による機能的ブロック両端部分は常に心筋線維走行に沿う方向に形成されることが示された。以上より、心筋スパイラル・リエントリーのダイナミクスは、興奮波の湾曲に伴う伝導抑制効果と、興奮波脱分極前面と再分極終末との相互作用、心筋線維走行の異方性により規定されることが明らかになった。

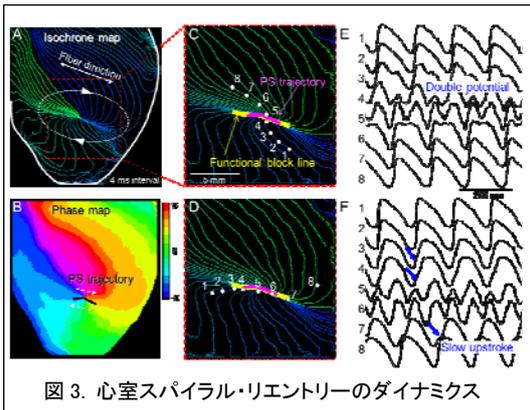


図 3. 心室スパイラル・リエントリーのダイナミクス

(4) スパイラル・リエントリーの制御

心筋イオンチャネル機能の薬理学修飾や心筋温度変化、フィードバックペーシングなどにより、スパイラル・リエントリーの巡回ダイナミクスを制御し、細動や持続性頻拍の停止を促す方法について検討した。

①心筋 K チャネル遮断 (図 4)

遅延整流 K 電流の遅活性化成分 (I_{Ks}) は心筋活動電位再分極に関与する細胞膜イオンチャネル電流である。特異的阻害薬による I_{Ks} 遮断は、交感神経 β 受容体刺激による心室筋活動電位持続時間の短縮を軽減した。 β 受容体刺激下で誘発した心室スパイラル・リエントリーに対して I_{Ks} 遮断は、巡回中心の動態を不安定化してリエントリーの早期停止を促進した。活動電位波形の解析では、 I_{Ks} 遮断による活動電位持続時間の延長作用は、スパイラルの中心付近で著しく、このため、巡回中心の不安定化がもたらされることが判明した。数学モデルを用いたシミュレーション

においても動物実験と同様の効果が確認され、スパイラル中心付近では拡張期電位が浅く I_{Ks} チャネル開口の蓄積が生じるため、 I_{Ks} 遮断の効果が増強すると考えられた。

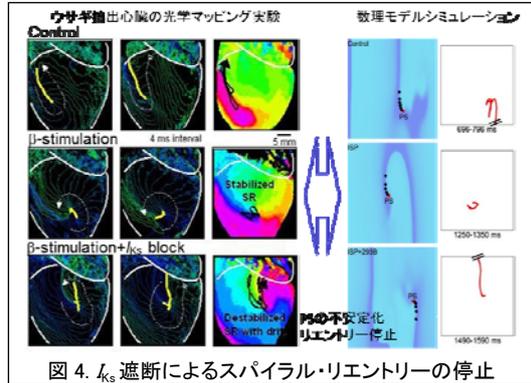


図 4. I_{Ks} 遮断によるスパイラル・リエントリーの停止

内向き整流 K 電流 (I_{K1}) は静止電位レベルにおける細胞膜コンダクタンスの主な成分であり、静止膜電位を規定し、活動電位再分極の終末部分の形成にも寄与する。 I_{K1} の選択的遮断も心室スパイラル・リエントリーの巡回中心ダイナミクスを不安定化し、その早期停止を促進した。その機序としては、活動電位持続時間の延長と、静止膜電位の脱分極に伴う興奮伝導速度の低下に加えて、細胞膜コンダクタンス上昇による心筋細胞間電気緊張効果の増強が巡回中心の不安定化をもたらす可能性が示唆された。

②心筋ギャップ結合機能の促進 (図 5)

前述したように、心筋細胞間電気的結合の増強は、強く湾曲した興奮波の伝播を抑制する。薬物による心筋ギャップ結合機能の促進は、心室スパイラル・リエントリーの巡回中心付近における興奮波の湾曲が著しい領域で局所的な興奮伝導途絶をきたし、巡回中心の不安定化によるスパイラル・リエントリーは早期停止をもたらした。

Bepidil は近年臨床例において長期間持続する心房細動も高率を洞調律化することが報告され、持続性心房細動患者の治療に広く用いられている抗不整脈薬である。この bepidil の抗細動効果は、心筋遅延整流 K チャネル遮断による不応期延長作用に加えて、心筋細胞間のギャップ結合に対する機能促進が関与する可能性が明らかになった。

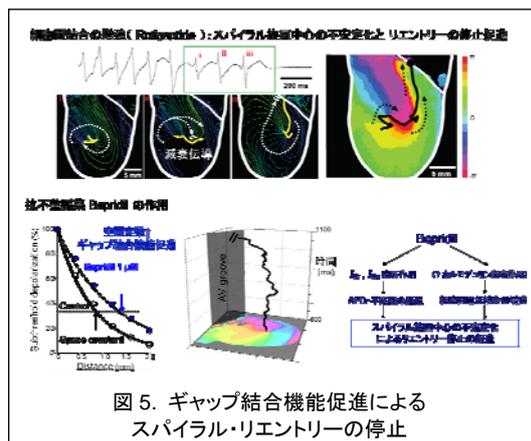


図 5. ギャップ結合機能促進によるスパイラル・リエントリーの停止

③心筋の軽度可逆的冷却 (図 6)

心筋の軽度可逆的冷却は、興奮伝導速度の低下と活動電位持続時間の延長とともに、それらの回復特性を変化させて心筋興奮の動的不安定性をもたらす。このような興奮波の動的不安定化を用いて、スパイラル・リエントリーの早期消滅を促す試みについて検討した。ウサギ摘出灌流心臓の心室筋の直径 1cm の領域に可逆性冷却を加える (心筋温度を数℃低下させる) と、誘発したスパイラル・リエントリーの旋回中心が心臓の特定の部位に定在化することが妨げられ、リエントリーが早期に停止した。また、同様な機序により、心筋局所冷却はスパイラル・リエントリーの停止に必要な直流電気ショックエネルギーを有意に低下させることが示された。

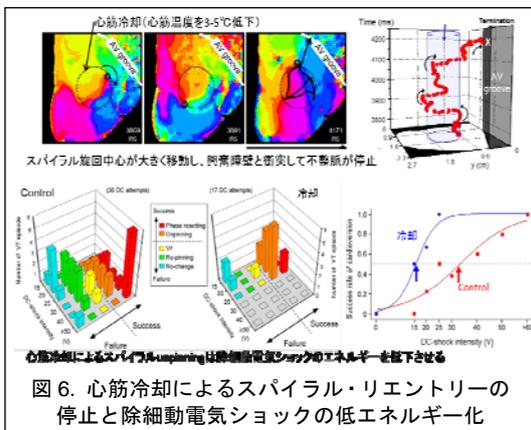


図 6. 心筋冷却によるスパイラル・リエントリーの停止と除細動電気ショックの低エネルギー化

以上の結果から、スパイラル・リエントリー-旋回ダイナミクスの不安定化は、位相特異点が解剖学的興奮障壁との衝突の機会を増し、細動や持続性頻拍の停止を促すとともに、直流電気ショックによる除細動エネルギーを低下させる新たな不整脈治療戦略となる可能性が示された (図 7)。

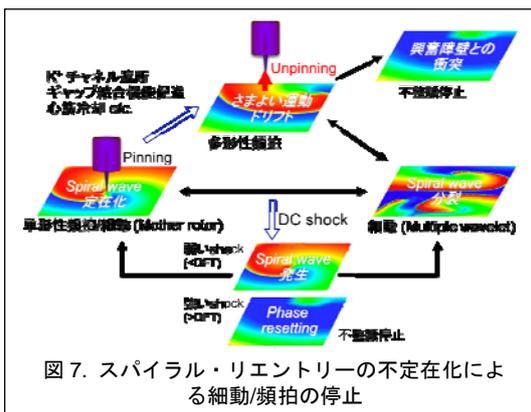


図 7. スパイラル・リエントリーの不定在化による細動/頻拍の停止

(5) 病態心臓における興奮伝導異常と不整脈発生基質

心筋梗塞や心肥大、心不全などの心臓病態では、心筋細胞のイオンチャネルやギャップ結合、Ca 調節蛋白などの蛋白発現や機能に変化が生じ (リモデリング)、異常興奮の生成や興奮伝導の異常による不整脈発生の基盤を形成する。また、心房細動では、細動の持

続が心筋の機能的/構造的リモデリングをもたらし、心房細動の発生や持続を促す。様々な病態モデルを用いて、心筋興奮伝導の異常と不整脈発生基質について検討した。

①持続性心房細動

正常ヒツジ摘出灌流心臓に電気刺激を加えて誘発した心房細動では、肺静脈を含む左心房後壁の局所興奮頻度が最も高く、心外膜/心内膜面同時マッピングによる興奮伝播の解析では、巣状興奮と 3 次元旋回興奮 (scroll あるいは rotor) の混在が認められた。一方、心房高頻度刺激を持続的に加えて作成した持続性心房細動では、心房細動の駆動領域は左心耳に移動し、同領域の興奮伝播の解析では、心房楯状筋の辺縁にアンカーリングした I 型フィラメント scroll が細動の持続を担うことが判明した (図 8)。

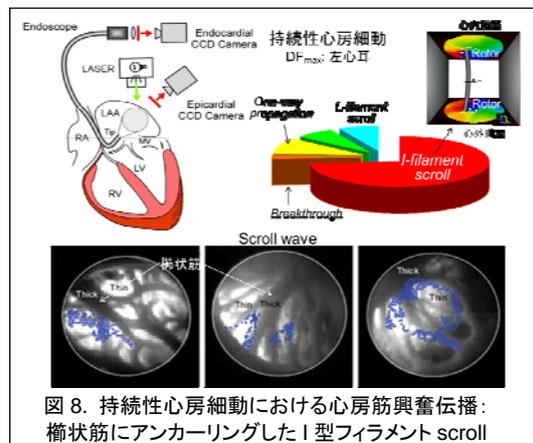


図 8. 持続性心房細動における心筋興奮伝播: 楯状筋にアンカーリングした I 型フィラメント scroll

I 型フィラメント scroll が楯状筋にアンカーリングする機序について数理モデルを用いて解析し、scroll フィラメントのダイナミクス (フィラメント tension) と伸展活性化チャネルの開口が重要な役割を果たすことを示した。即ち、楯状筋領域では 3 次元 scroll フィラメントは短縮する性質 (正の tension) を有するため scroll は壁の薄い領域へ向かって移動する。一方、心筋壁の薄い領域では、伸展活性化チャネルが開口して心筋興奮性が低下する。この状態では 3 次元 scroll フィラメントは延長する性質 (負の tension) を有し、scroll は楯状筋へ向かって移動する。この両者の作用により I 型フィラメント scroll が楯状筋辺縁に局在すると説明される (図 9)。

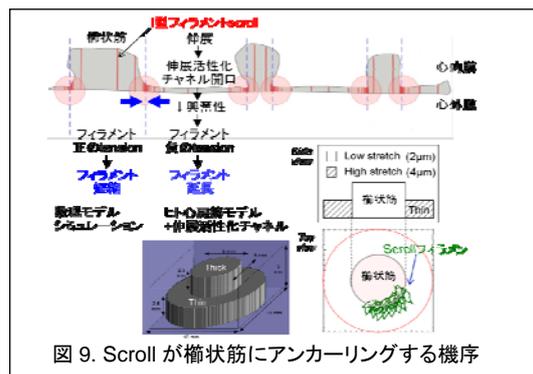


図 9. Scroll が楯状筋にアンカーリングする機序

② 不整脈突然死動物モデル

致死性心室不整脈による心臓突然死が高率に発生する動物モデル（心筋症ハムスター、転写因子遺伝子改変 dn-NRSF マウス）では、心室イオンチャネル発現変化による活動電位再分極予備能の低下や細胞内 Ca 調節の異常による心室筋の異常興奮生成とともに、介在板領域におけるギャップ結合発現の低下やそれに伴う興奮伝導速度低下が心室細動や持続性頻拍発生の重要な電気生理学的基質となることを明らかにした。また、dn-NRSF 遺伝子改変マウスでは、レニン-アンジオテンシン系を介するシグナル情報伝達がこれら不整脈発生基質の形成に深く関わっていることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 19 件) (主な論文を記載)

- ① Ueda N (他4名), [Honjo H](#) (3番目), [Kodama I](#) (4番目), [Kamiya K](#) (5番目): The role of gap junctions in stretch-induced atrial fibrillation. *Cardiovasc Res* 104: 364-370, 2014. (査読有) doi: 10.1093/cvr/cvu202.
- ② Inada S (他 10 名), [Kamiya K](#) (6 番目), [Kodama I](#) (7番目), [Honjo H](#) (11番目): Importance of gradients in membrane properties and electrical coupling in sinoatrial node pacing. *PLoS One* 9: e94565, 2014. (査読有) doi: 10.1371/journal.pone.0094565.
- ③ Suzuki T (他5名), [Honjo H](#) (5番目), [Kamiya K](#) (6番目): Atrial electivity in Na⁺ channel blockade by acute amiodarone. *Cardiovasc Res* 98: 136-144, 2013. (査読有) doi: 10.1093/cvr/cvt007.
- ④ [Yamazaki M](#) (他 8 名), [Honjo H](#) (6 番目), [Kodama I](#) (7番目), [Kamiya K](#) (8番目): Acute regional left atrial ischemia causes acceleration of atrial drivers during atrial fibrillation. *Heart Rhythm* 10: 901-909, 2013. doi: 10.1016/j.hrthm.2013.02.023. (査読有)
- ⑤ Takemoto Y (他10名), [Honjo H](#) (3番目), [Sakuma I](#) (8番目), [Kodama I](#) (10番目), [Kamiya K](#) (11番目): Inhibition of intercellular coupling stabilizes spiral-wave reentry, whereas enhancement of the coupling destabilizes the reentry in favor of early termination. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 303: H578-H586, 2012. (査読有) doi: 10.1152/ajpheart.00355.2012.
- ⑥ Kato S (他12名), [Honjo H](#) (2番目), [Sakuma I](#) (8番目), [Kodama I](#) (12番目), [Kamiya K](#) (13番目): Pharmacological blockade of I_{Ks} destabilizes spiral-wave reentry under β-

adrenergic stimulation in favor of its early termination. *J Pharmacol Sci* 119: 52-63, 2012. (査読有)

doi: org/ 10.1254/jphs.12008FP. (査読有)

- ⑦ [Yamazaki M](#) (他10名), [Honjo H](#) (8番目), [Kodama I](#) (9番目): Heterogeneous atrial wall thickness and stretch promote scroll waves anchoring during atrial fibrillation. *Cardiovasc Res* 94: 48-57, 2012. (査読有) doi: 10.1093/cvr/cvr357.
 - ⑧ [Yamazaki M](#) (他 11 名), [Honjo H](#) (2 番目), [Sakuma I](#) (5 番目), [Kamiya K](#) (11 番目), [Kodama I](#) (12 番目): Regional cooling facilitates termination of spiral-wave reentry through unpinning of rotors in rabbit hearts. *Heart Rhythm* 9: 107-114, 2012. (査読有) doi: 10.1016/j.hrthm.2011.08.013.
 - ⑨ Harada M (他 11 名), [Honjo H](#) (7 番目), [Sakuma I](#) (10 番目), [Kamiya K](#) (11 番目), [Kodama I](#) (12 番目): Rate-dependent shortening of action potential duration increases ventricular vulnerability in failing rabbit heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 300, H565-H573, 2011. (査読有) doi: 10.1152/ajpheart.00209.2010.
 - ⑩ Yoshida M (他 9 名), [Honjo H](#) (7 番目), [Kodama I](#) (8 番目): Alterations in adhesion junction precede gap junction remodeling during the development of heart failure in cardiomyopathic hamsters. *Cardiovasc Res* 92, 95-105, 2011. (査読有) doi: 10.1093/cvr/cvr182.
- [学会発表] (計 54 件) (主な発表を記載)
- ① Honjo H: Alterations of connexin expression and cardiac arrhythmogenesis (招待講演). 第 91 回日本生理学会大会. 2014.3.16-18. (鹿児島)
 - ② [Honjo H](#): Cellular electrophysiology and ionic current in right ventricular outflow tract (招待講演). Venice Arrhythmia, 2013. 10.27-29. (Venice, Italy)
 - ③ [Honjo H](#): Myocardial remodeling and spiral wave reentry (招待講演). The 28th Annual Meeting of the Japanese Heart Rhythm Society. 2013.7.4-6. (Tokyo)
 - ④ 本荘晴朗: 心筋リモデリングと不整脈発生基盤 (招待講演). 第 30 回日本心電学会学術集会. 2013.10.11-12. (青森)
 - ⑤ [Honjo H](#), [Kodama I](#), [Kamiya K](#): Dynamics of cardiac excitation wave propagation and

electrophysiological mechanisms of sustained tachyarrhythmias (招待講演). 第 90 回日本生理学会大会. 2013.3.27-29. (東京)

- ⑥ Honjo H: Therapeutic potential of ryanodine receptor channels in atrial fibrillation (招待講演). The 5th Asia Pacific Hear Rhythm Society Meeting. 2012.10.3-6. (Taipei, Taiwan)
- ⑦ Honjo H: What do we expect to computer simulation? (招待講演) The 4th Asia Pacific Hear Rhythm Society Meeting. 2011.9.19-22. (Fukuoka)
- ⑧ Kamiya K: Visualizing arrhythmias by optical mapping (招待講演) The 4th Asia Pacific Hear Rhythm Society Meeting. 2011.9.19-22. (Fukuoka)

[図書] (計 4 件) (主な図書を記載)

- ① Kalifa J, Avula U, Yamazaki M: Atrial ischemia and fibrillation. Zipes DP, Jalife J (ed.) Cardiac Electrophysiology from Cell to Bedside 6th edition. Elsevier Saunders, 443-448, 2014.
- ② 本荘晴朗, 児玉逸雄: 不整脈: 刺激伝導系の構造と心筋細胞の電気生理学的特性. 門脇孝, 永井良三(編) 内科学, 西村出版, 651-653, 2012.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

本荘晴朗 (HONJO Haruo)

名古屋大学・環境医学研究所・准教授

研究者番号: 70262912

(2) 研究分担者

神谷香一郎 (KAMIYA Kaichiro)

名古屋大学・環境医学研究所・教授

研究者番号: 50194873

佐久間一郎 (SAKUMA Ichiro)

東京大学・大学院工学系研究科・教授

研究者番号: 50178597

(3) 連携研究者

児玉逸雄 (KODAMA Itsuo)

名古屋大学・名誉教授

研究者番号: 30124720

山崎正俊 (YAMAZAKI Masatoshi)

(平成 24-26 年度)

名古屋大学・環境医学研究所・特任助教

研究者番号: 30627328

(4) 研究協力者

荒船龍彦 (ARAFUNE Tatsuhiko)

東京大学・大学院工学系研究科・特任助教

(平成 22-24 年度)

東京電機大学・理工学部・助教

(平成 25-26 年度)

研究者番号: 50376597