

平成 21 年 6 月 1 日現在

研究種目：基盤研究 (C)  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19591782  
 研究課題名 (和文) 敗血症における上室性頻拍の病態解析  
 - 発生機序の解明と治療法の確立 -  
 研究課題名 (英文) Pathologic analysis of septic supraventricular tachyarrhythmia  
 - clarification of pathogenesis and establishment of treatment -  
 研究代表者  
 畠山 登 (HATAKEYAMA NOBORU)  
 富山大学・大学病院・准教授  
 研究者番号：70251907

研究成果の概要：敗血症病態における頻脈性不整脈の発生機序について、電気生理学的、および分子薬理学的解析を行った。その結果、心房筋における L 型カルシウムチャネルの発現抑制に伴う活動電位持続時間の短縮が起きており、不応期が相対的に前倒しになることにより、頻脈性が発生しやすい環境を形成することがわかった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：周術期管理学，敗血症，不整脈，カルシウムチャネル，リポポリサッカライド

## 1. 研究開始当初の背景

敗血症は感染に合併する全身性炎症反応を特徴とし、周術期に高い死亡率を示す病態として知られている。この敗血症病態では、上室性頻拍や心房細動などの不整脈がしばしば観察されるが、その発生機序や治療については現在も不明な点が多く、抗不整脈薬の選択指針も不明瞭であった。

## 2. 研究の目的

本研究では単離心房筋細胞の電気生理学的特徴やイオンチャネル構成蛋白の発現変化を検討することにより、敗血症病態における上室性頻拍の発生機序と治療に新たな知

見を得ることを目的とした。

## 3. 研究の方法

大腸菌内毒素であるリポポリサッカライド (LPS) をモルモット腹腔内に投与することにより敗血症モデルを作成した。

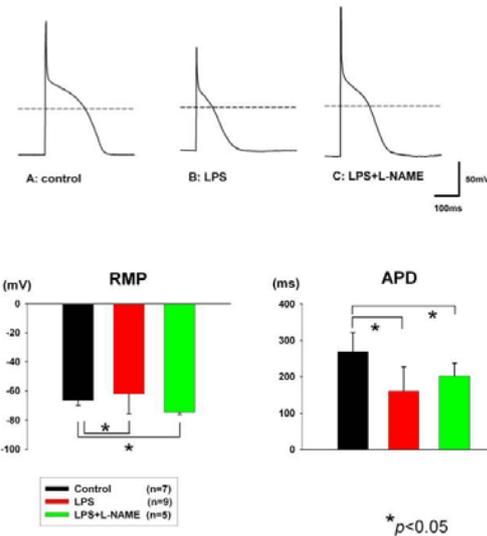
(1) 電気生理学的方法：単離心房筋標本を作成し、パッチクランプ法により活動電位、L 型カルシウムチャネル電流、ナトリウムチャネル電流、および遅延整流性カリウム電流について敗血症の影響を検討した。

(2) 分子薬理学的方法：ウェスタンブロット法により、L 型カルシウムチャネルサブユニットの発現を観察した。また Rt-PCR 法と免疫染色法によりナトリウム Nav1.5 チャネ

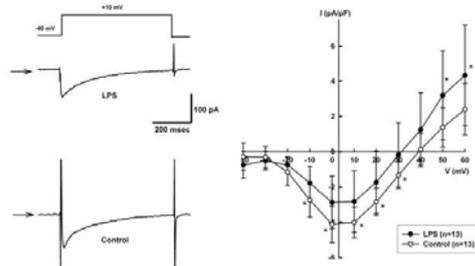
ルの発現を観察した。

#### 4. 研究成果

(1) 電気生理学的検討: LPS 投与により活動電位持続時間の短縮が起きた。また、静止膜電位の脱分極が観察された。これらの変化は NO 合成阻害薬である L-NAME の同時投与にて阻害される傾向が見られた。(下図)

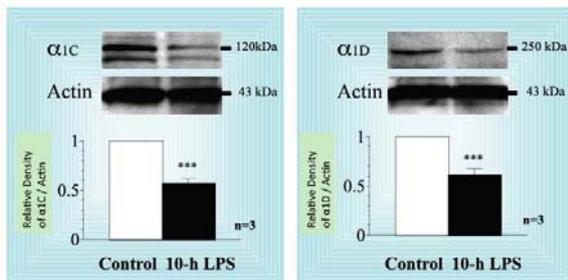


また LPS 投与により、L 型カルシウムチャネル電流は抑制された。(下図)



一方で、電位依存性ナトリウムチャネル電流は影響を受けず、遅延整流性カリウム電流は増大する傾向が見られた。

(2) 分子薬理学的検討: LPS 投与により L 型カルシウムチャネル構成蛋白である  $\alpha 1C$ ,  $\alpha 1D$  サブユニットの発現が抑制された。(下図)



一方、Rt-PCR 法および免疫染色法では、LPS 投与により電位依存性ナトリウムチャネル

(Nav1.5) の発現に変化は認められなかった。

以上より、LPS 投与による敗血症病態モデルにおいて、おもにカルシウムチャネル電流の抑制、および遅延整流性カリウムチャネルの増大により、心房筋において活動電位持続時間の短縮が起こり、活動電位不応期を相対的に前倒しにすることにより、頻脈性不整脈が発生しやすい環境が構築されることが明らかとなった。また、この L 型カルシウムチャネル電流の抑制には、チャネル発現抑制の関与が示唆された。従って、今後 L 型カルシウムチャネルの発現抑制に対しての遺伝子治療などが治療戦略の構築に大きな役割を果たすものと考えられた。

#### 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 7 件)

1. Kamiyama K, Matsuda N, Yamamoto S, Takano KI, Takano Y, Yamazaki H, Kageyama SI, Yokoo H, Nagata T, Hatakeyama N, Tsukada K, Hattori Y.

Modulation of glucocorticoid receptor expression, inflammation, and cell apoptosis

in septic guinea-pig lungs using methylprednisolone. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2008 Oct 3. 査読有

2. Kinoshita H, Matsuda N, Kaba H, Hatakeyama N, Azma T, Nakahata K, Kuroda Y, Tange K, Iranami H, Hatano Y.

Roles of phosphatidylinositol 3-kinase-Akt and NADPH oxidase in adenosine

5'-triphosphate-sensitive K<sup>+</sup> channel function impaired by high glucose in the human artery. Hypertension. 2008 Sep;52(3):507-13. 査読有

3. Nakahata K, Kinoshita H, Hama-Tomioka K, Ishida Y, Matsuda N, Hatakeyama N, Haba M, Kondo T, Hatano Y.

Cholinesterase inhibitor donepezil dilates cerebral parenchymal arterioles via the activation of neuronal nitric oxide synthase. Anesthesiology. 2008 Jul;109(1):124-9. 査読有

4. 松田直之, 山本誠士, 畠山 登, 服部裕一

敗血症性ショックにおける血管内皮細胞の機能異常. 日本薬理学雑誌. 2008 Feb;131(2):96-100. 査読有

5. Matsuda N, Takano Y, Kageyama S, Hatakeyama N, Shakunaga K, Kitajima I, Yamazaki M, Hattori Y.

Silencing of caspase-8 and caspase-3 by RNA interference prevents vascular endothelial cell injury in mice with endotoxic shock. *Cardiovasc Res.* 2007 Oct 1;76(1):132-40. 査読有

6. Kimura M, Shibukawa Y, Momose Y, Sugaya M, Yamamura S, Suzuki T, Hatakeyama N, Yamazaki M.

Effects of thiopental on Ca<sup>2+</sup> currents and intracellular Ca<sup>2+</sup> transient in single atrial cells from guinea pig. *Pharmacology.* 2007;80(1):33-9. 査読有

7. 松田直之, 山本誠士, 神山公希, 畠山 登, 渋谷伸子, 服部裕一, 山崎光章.

Surviving Sepsis Campaign guidelines におけるrelative adrenal insufficiency の対策. *救急医学*, 31:1362-1370, 2007. 査読有

[学会発表] (計 18 件)

1. Hatakeyama N, Aoki Y, Yamazaki M, Matsuda N, Yamamoto S, Hattori Y: Involvement of Ca<sup>2+</sup> and Na<sup>+</sup> Channels in the Mechanism of Tachyarrhythmia in Septic Guinea Pig Atrialum. Society of critical Care Medicine 38th Critical Care Congress, 2009, 1, 31 - 2, 4, Nashville, USA.

2. Hatakeyama N, Matsuda N, Aoki Y, Yamada M, Yamazaki M.: Involvement of Na<sup>+</sup> channel in the mechanism of tachyarrhythmia in septic guinea pig atrial myocyte. 2008 Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists, 2008, 10, 18-22, Orlando.

3. 松田直之, 丸山彩子, 内御堂 亮, 积永清志, 畠山 登, 山崎光章: 心房筋炎症におけるL型Ca<sup>2+</sup>チャンネル蛋白の発現抑制機構. 日本麻酔科学会第 55 回学術集会, 2008, 6, 12-14, 横浜.

4. 畠山 登, 松田直之, 青木優太, 渋谷伸子, 百瀬弥寿徳, 山崎光章: 敗血症モルモット単離心房筋細胞におけるナトリウム・カルシウムチャンネル電流および膜電位変化についての検討. 日本麻酔科学会第 55 回学術集会, 2008, 6, 12-14, 横浜.

5. Hatakeyama N, Matsuda N, Aoki Y, Hattori Y, Yamazaki M.: Mechanism of tachyarrhythmia in septic guinea pig atrial myocyte. Society of critical Care Medicine 37th Critical Care Congress, 2008, 2, 2-6, Honolulu.

6. Matsuda N, Koike K, Kageyama SI, Yamamoto S, Hatakeyama N, Takano Y, Hattori Y.: Gene silencing of FADD with small interfering RNA improves septic survival by prevention of apoptosis in main organs, Society of critical Care Medicine 37th Critical Care Congress 2008, 2, 2-6, Honolulu.

7. Hatakeyama N, Matsuda N, Aoki Y, Momose Y, Yamazaki M.: Studies on Ionic Channel Currents of Single Atrial Myocyte in Septic Guinea Pig. 2007 American Society of Anesthesiologists Annual Meeting, 2007, 10, 13-17, San Francisco CA, USA.

8. 畠山 登, 松田直之, 桜谷文香, 木村純子, 服部裕一: モルモット心室筋遅延整流型カリウムチャンネル電流に対するプロポフェールの抑制作用. 第 58 回日本薬理学会北部会総会, 2007, 9, 29, 札幌.

9. 神山公希, 松田直之, 山本誠士, 影山俊一郎, 高野健一, 山崎弘美, 長田拓哉, 畠山 登, 塚田一博, 服部裕一: モルモット急性肺傷害におけるグルココルチコイド受容体の発現 敗血症性肺傷害に対する大量ステロイド療法の弊害. 第 58 回日本薬理学会北部会総会, 2007, 9, 29, 札幌.

10. 畠山 登, 松田直之, 山田正名, 渋谷伸子, 青木優太, 山崎光章: 敗血症モルモット心房筋細胞におけるカルシウムチャンネルの変化についての検討. (社)日本麻酔科学会第 54 回学術集会, 2007, 5, 31-2, 札幌.

11. 松田直之, 畠山 登, 菅野正寛, 积永清志, 廣田弘毅, 山崎光章: 敗血症マウスにおけるヒスタミンH4 受容体を介した主要臓器の抗炎症作用. (社)日本麻酔科学会第 54 回学術集会, 2007, 5, 31-2, 札幌.

12. 畠山 登, 松田直之, 青木優太, 山崎光章: 敗血症モルモット単離心房筋細胞におけるカルシウムチャンネル電流の解析. 第 28 回日本循環制御医学会総会, 2007, 5, 11-12, 和歌山.

13. 松田直之, 畠山 登, 积永清志, 山崎光章: 急性膵炎の心房筋における感染性 2nd アタックの機構. 第 28 回日本循環制御医学会総会, 2007, 5, 11-12, 和歌山.

14. 畠山 登: 周術期・集中治療における超短時間作用型β 1 遮断薬の使用. 第 2 回富山県周術期管理フォーラム, 2007, 3, 16, 富山.

15. 畠山 登, 松田直之, 山崎光章, 服部裕一: 敗血症モルモット単離心房筋細胞におけるイオンチャンネル電流についての検討. 第 80 回日本薬理学会年会, 2007, 3, 14-16, 名古屋.

16. 畠山 登, 松田直之, 青木優太, 积永清志, 山崎光章: 敗血症モルモット単離心房筋細胞チャンネル電流についての検討. (社)日本麻酔科学会東海・北陸支部第 4 回学術集会, 2007, 2, 17, 名古屋.

17. 松田直之, 畠山 登, 积永清志, 山崎光章: 急性肺障害に対するステロイド治療効果の検討. (社)日本麻酔科学会東海・北陸支部第 4 回学術集会, 2007, 2, 17, 名古屋.

18. 松田直之, 影山俊一郎, 畠山 登, 积永清志, 山崎光章: 敗血症病態におけるヒスタ

ミン H4 受容体を介した主要臓器の抗炎症作用. (社)日本麻酔科学会東海・北陸支部第4回学術集会, 2007, 2, 17, 名古屋.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

畠山 登 (HATAKEYAMA NOBORU)

富山大学・附属病院・准教授

研究者番号：70251907

### (2) 研究分担者

松田 直之 (MATSUDA NAOYUKI)

京都大学・附属病院・准教授

研究者番号：50332466

(2007年度のみ, 2008年度は連携研究者)