

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 31 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22500363

研究課題名（和文） 肺静脈心筋細胞の自動能発現に関する電気生理学的研究

研究課題名（英文） Electrophysiological study for spontaneous activity of pulmonary vein cardiomyocytes

研究代表者

尾野 恭一（ONO KYOICHI）

秋田大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：70185635

研究成果の概要（和文）：临床上最も頻度の高い不整脈である心房細動は、その起源が主に肺静脈であることが知られている。本研究では、ラット肺静脈より単離した心筋細胞がノルエピネフリンにより容易に自動能を発揮することに着目し、そのメカニズムについて解析・検討した。その結果、肺静脈心筋細胞は心房筋細胞とは異なり、独特の形態的、電気生理学的特徴を有していることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Atrial fibrillation, the most common sustained arrhythmia, is believed to be triggered by ectopic electrical activity originating in the myocardial sleeves surrounding the pulmonary veins. In this study, we found that cardiomyocytes in rat pulmonary veins possessed morphological and electrophysiological properties different from those of atrial myocytes. We concluded that these properties play functional role in norepinephrine-induced spontaneous activity of pulmonary vein cardiomyocytes.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経・筋肉生理学

キーワード：心臓興奮・伝導異常、自動能

## 1. 研究開始当初の背景

- (1) 心房細動の発生に肺静脈が深く関係することを Haissaguerre らが 1998 年に報告して以来、肺静脈における異常興奮発生の分子基盤についての研究が進んでいる。2010 年、Findlay らのグループが、ラット肺静脈にノルアドレナリンを投与すると、自動能が発現するという論文を報告し、新たな

自動能発現の一メカニズムとして注目された。申請者らは、ラット肺静脈心筋細胞を単離し、その電気生理学的特性を追及する過程で、同様の現象を観察していた。

- (2) 申請者尾野は、長年心臓自動能に関する研究に従事し、洞房結節や房室結節における正常自動能のイオン機序について、多くのイオンチャネルやイオ

ン輸送体の関与を pA レベルのオーダーで詳細に解析を行ってきた。

- (3) 洞房結節と肺静脈心筋の自動能は、前者がイオンチャネルの開閉が電位・時間に依存して変化することにより生じるのに対し、後者は振動性の膜電流変化が基礎になっていることに大きな相違点がある。正常の心筋においても細胞内 Ca の過剰負荷の際に生じる振動性後電位が、肺静脈では正常時でも発生している可能性がある。

## 2. 研究の目的

ラット肺静脈を用いて肺静脈心筋細胞の電気生理学的特性及び細胞内カルシウム動態について、自動能発現との関わりを明らかにすることを目的とする。とりわけノルアドレナリン負荷によって生じる異常自動能の起因となるイオン電流系を解明し、心房細動発生への関わりを明らかにする。

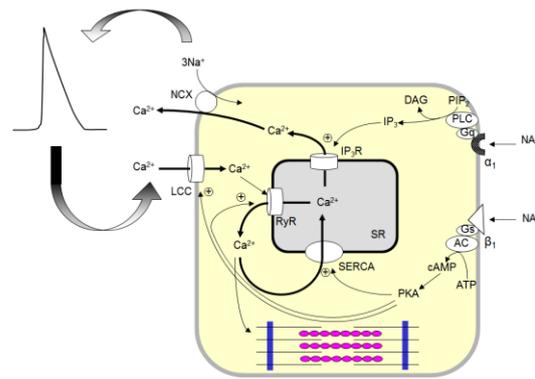
## 3. 研究の方法

- (1) 肺静脈の電気生理学的特性及び分子生物学的解析：肺静脈の電気生理学的特性について、単離細胞を用いて解析するとともに、イオンチャネル及びイオン輸送体の mRNA 発現を定量的 PCR 法で計測する。
- (2) ノルアドレナリンによって活性化される Ca 依存性内向き電流の成因を電気生理学的手法にて解析する
- (3) ノルアドレナリンによる自動能の細胞内シグナル伝達過程を薬理学的手法にて解析する。

## 4. 研究成果

ラット肺静脈心筋のノルエピネフリン誘発自動能は、細胞内カルシウム貯蔵部位からの周期的なカルシウムイオン放出によるという「カルシウムクロック説」を提唱した。この考えは、*Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 誌に掲載されるとともに、2012 年及び 2013 年の日本生理学会シンポジウムで取り上げられた。

以下に、我々が提唱している仮説を説明する（下図）。自動能発生には  $\alpha$  アドレナリン受容体、 $\beta$  アドレナリン受容体の両者が関与しており、ノルアドレナリンの  $\alpha$  アドレナリン受容体刺激はイノシトール三リン酸 ( $IP_3$ ) 受容体からの  $Ca^{2+}$  放出を引き起こす。放出された  $Ca^{2+}$  は近接する  $Na^+/Ca^{2+}$  交換体により細胞外へ排出され、その際に膜を脱分極させ活動



電位を惹起する。 $\beta$  アドレナリン受容体刺激は cAMP 系を介して L 型  $Ca^{2+}$  チャネルの活性化、リアノジン受容体の活性促進、筋小胞体の  $Ca^{2+}$  ポンプ活性化を引き起こす。そのため、活動電位発生に伴う細胞内への  $Ca^{2+}$  流入量が増加し、筋小胞体への  $Ca^{2+}$  取り込みが増大する。結果として、 $Ca^{2+}$  過剰負荷がもたらされ、再び  $IP_3$  受容体を介して  $Ca^{2+}$  が放出されて、次の活動電位発生のサイクルへと移行することになる。

肺静脈心筋細胞は形態的に心房筋とは異なる性質を有している。一般に心室筋細胞は大きく、横紋が明瞭で、T 管が発達している。一方、心房筋は小さく、しかも T 管がほとんどない。両者と比較すると、肺静脈心筋は比較的心室筋に似ており、T 管が発達している。 $IP_3$  受容体及び  $Na/Ca$  交換体は T 管に沿って密に共局在しており、一連の  $Ca^{2+}$  サイクルが安定して繰り返す構造的基盤となっていると考えられている。

心臓の自動能の成因を巡っては、イオンチャネル説とカルシウムクロック説の 2 つが提唱されており、少なくとも肺静脈心筋の異常自動能はカルシウムクロックによることを明らかとした点は国内外で高く評価されている。

## 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 7 件)

- ① Adachi T, Shibata S, Okamoto Y, Sato S, Fujisawa S, Ohba T, Ono K. The mechanism of increased postnatal heart rate and sinoatrial node pacemaker activity in mice. *J Physiol Sci.* 63(2):133-146. (2013). 査読有  
doi: 10.1007/s12576-012-0248-1.

- ② Seya K, Ono K, Fujisawa S, Okumura K, Motomura S, Furukawa K. Cytosolic Ca<sup>2+</sup>-induced apoptosis in rat cardiomyocytes via mitochondrial NO-cGMP-protein kinase G pathway. *J Pharmacol Exp Ther.* 344(1):77-84 (2013). 査読有  
DOI: 10.1124/jpet.112.198176.
- ③ Okamoto Y, Takano M, Ohba T, Ono K. Arrhythmogenic coupling between the Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> exchanger and inositol 1,4,5-triphosphate receptor in rat pulmonary vein cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol.* 52(5): 988-997 (2012). 査読有  
DOI: 10.1016/j.yjmcc.2012.01.007
- ④ Shibata S, Okamoto Y, Endo S, Ono K. Direct effects of esmolol and landiolol on cardiac function, coronary vasoactivity and ventricular electrophysiology in guinea-pig hearts. *J Pharmacol Sci.* 118(2): 255-265 (2012) 査読有  
DOI: 10.1254/jphs.11202FP
- ⑤ Nakagawa Y, Yoshioka M, Abe Y, Uchinami H, Ohba T, Ono K, Yamamoto Y. Enhancement of liver regeneration by adenosine triphosphate-sensitive K<sup>+</sup> channel opener (diazoxide) after partial hepatectomy. *Transplantation.* 93(11): 1094-1100 (2012). 査読有  
doi: 10.1097/TP.0b013e31824ef1d1.
- ⑥ 尾野恭一. 心臓拍動研究の最前線～イオンチャンネルクロックとカルシウムクロック～ 秋田県医師会雑誌. 63(2) 57-66. (2012).
- ⑦ 尾野恭一. カルシウムクロックは本当に必要？— 心臓自動能の細胞機序をめぐる論争 —. 日経メディカルオンライン <http://nmoadm.nikkeibp.co.jp/leaf/mem/pub/cvdprem/lecture/jse/201110/522012.html>. (2011).

[学会発表] (計9件)

- ① Ono K, Okamoto Y, Adachi T, Ohba T, Takano M. Arrhythmogenic nature of pulmonary vein cardiomyocytes. 第90回日本生理学会大会 2013年3月29日東京.
- ② 尾野恭一、岡本洋介、安達健、大場貴喜、鷹野誠. 肺静脈心筋細胞におけるノルエピネフリン誘発自動能へのCaクロックの関与. 第89回日本生理学会大会 2012年3月29日～31日、長野県松本市.
- ③ 岡本洋介、尾野恭一. ラット肺静脈心筋における過分極活性型 Cl<sup>-</sup>電流. 第89回日

本生理学会大会. 2012年3月29日～31日 長野県松本市.

- ④ 岡本洋介、鷹野誠、大場貴喜、尾野恭一. ラット肺静脈心筋の潜在性自動能. 第42回心脈管作動物質学会. 2012年2月10日～11日、秋田市.
- ⑤ Okamoto Y, Takano M, Ohba T, Ono K. Arrhythmogenic coupling between the Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> exchanger and inositol 1,4,5-triphosphate receptor in rat pulmonary vein cardiomyocytes. 新学術領域第4回全体会議第1回国際シンポジウム. 2012年1月19～21日、京都.
- ⑥ 岡本洋介、鷹野誠、大場貴喜、尾野恭一. Arrhythmogenic Coupling Between Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> Exchanger and Inositol 1,4,5-triphosphate Receptor in Rat Pulmonary Vein Cardiomyocytes International Symposium “Computational physiology of cardiac and pancreatic  $\beta$  cells; Interaction between energy metabolism and membrane excitability” 2011年1月30日 京都市
- ⑦ 岡本洋介、鷹野誠、大場貴喜、尾野恭一. ラット肺静脈心筋細胞のノルエピネフリン誘発自動能 第20回日本循環薬理学会 2010年11月11日 北海道札幌市
- ⑧ 岡本洋介、鷹野誠、大場貴喜、尾野恭一. ラット肺静脈心筋細胞におけるカテコラミン誘発自動能 生理学研究所研究会「イオンチャンネル・トランスポーターと心血管機能：細胞機能の分子機序とその統合的理解」2010年11月5日 愛知県岡崎市
- ⑨ 岡本洋介、大場貴喜、尾野恭一. ラット肺静脈心筋における催不整脈性内向き電流 第87回日本生理学会大会 2010年5月20日 岩手県盛岡市

[図書] (計1件)

- 1) 尾野恭一. Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>ATPaseとNa<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup>交換系. 「不整脈学」. 井上博・村川裕二編、34-37. (2012).

[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

尾野 恭一 (ONO KYOICHI)  
秋田大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号：70185635

### (2) 研究分担者

大場 貴喜 (Ohba Takayoshi)  
秋田大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：80431625

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：