

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 17 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590669

研究課題名(和文) 新しい持続型心房細動モデル動物における心房細動治療標的分子の分析

研究課題名(英文) ANALYSIS OF THERAPEUTIC TARGET MOLECULES FOR ARRHYTHMIAS IN THE NEWLY DEVELOPED ANIMAL MODEL OF SUSTAINED ATRIAL FIBRILLATION

研究代表者

高原 章 (TAKAHARA, Akira)

東邦大学・薬学部・教授

研究者番号：80377481

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では心房に対して慢性的な容量負荷を与える動静脈瘻モデル動物を作製し、心臓の形態的变化、電気生理学的変化および心房細動の持続性について検討した。モデル動物では心房重量の増加と心房組織における線維化、およびカリウムチャネルおよびコネクシンのmRNAの低値が認められた。Burst pacingにより誘発される心房細動の持続時間は正常動物に比べて有意に延長しており、このモデル動物にアルドステロンを慢性投与すると心房細動持続時間がさらに延長した。心房に対する慢性容量負荷は心房拡大と心房内伝導遅延等の電気生理学的特性の変化を誘発し、アルドステロンが心房細動の促進因子として働くことが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：We assessed morphological and electrophysiological changes and duration of atrial fibrillation in rats with abdominal aortocaval fistula as a pathological model of chronic volume overload to the heart. In this animal model, increment of tissue weight of atrium, fibrosis, and decrement of mRNA levels of potassium channels and connexins were observed. Duration of atrial fibrillation induced by burst pacing in this animal model was longer than that in normal animals. Chronic administration of aldosterone to this animal model further increased duration of atrial fibrillation. Therefore, the study clarified that aldosterone in combination with morphological and electrophysiological changes induced by chronic volume overload to the heart potentially promoted onset of atrial fibrillation.

研究分野：医歯薬学

キーワード：心房細動 心房拡大 慢性容量負荷 アルドステロン

1. 研究開始当初の背景

心房細動は加齢に伴い発生頻度が増加する不整脈の1つである。心房細動自体は緊急治療を要する悪性不整脈ではないが、全身臓器の血栓塞栓症の原因となりうるために、その治療意義はますます高まっている。発症初期の心房細動は自然停止が得られる発作性心房細動であるが、発作性心房細動を繰り返すと慢性心房細動に移行することが知られている。慢性心房細動への移行直後は薬物治療または電気的除細動が可能と考えられている。しかしこの病態が継続すると、治療(除細動)不可能な永続性心房細動に移行してしまう。このように心房細動が再発を繰り返す間に治療抵抗性の永続性心房細動に変化していく原因として、心房で生じる様々なリモデリングの関与が推定されている。このような病的変化が関与した結果として生じる心房細動に対し、現在臨床使用可能な抗不整脈薬では30%程度しか再発予防効果が得られず、新しい機序の心房細動治療薬の登場が望まれている。

長時間持続する心房細動を高い再現性で誘発できるモデル動物はこれまでにほとんど知られていない。このため、慢性心房細動の薬物治療に関する情報は臨床研究によるものが中心となり、新規薬物の開拓の手段に限られているのが現状である。一方、申請者は最近の研究で、大動脈-下大静脈の動静脈瘻により心拡大が生じているラットを用い、30分以上持続する心房細動の誘発に成功した。ラットの心房は構造体として小さいために、不整脈維持機構であるリエントリーが成立しにくいと考えられてきたが、この病態動物には心房細動の維持に中心的な役割を担う病態生理学的要因が存在すると想像される。これらの要因の特定を進め、薬物の有効性を検証することにより、慢性心房細動に対する薬物治療戦略の基盤構築に大きく寄与できると考えられる。

2. 研究の目的

持続型心房細動を誘発可能な動静脈瘻モデル動物の心房筋に生じている組織学的リモデリングや電気的リモデリングに關する因子を精査する。心房細動の維持に中心的な役割を担う病態生理学的要因が見出されれば、新規治療薬の標的分子として今後の応用が期待できる。

3. 研究の方法

麻酔下でラットを開腹後、腹部大動脈と下大静脈の間で動静脈瘻を作成し、閉腹した。心房の電気生理学的特性に関する検討では、動静脈瘻作成1ヶ月後に心房を摘出して電気生理学的指標を計測した。心房細動の持続性に関する検討では、動静脈瘻作成1ヶ月後に再びラットを麻酔し、心房に高頻度刺激を与えることで心房細動を誘発してその持続時間を計測した。

4. 研究成果

動静脈瘻を作成すると1ヶ月後には図1に示すように心房および心室の拡大が観察された。動静脈瘻の作成により慢性的に静脈還流量が増大したためにリモデリングが形成されたと考えられる。

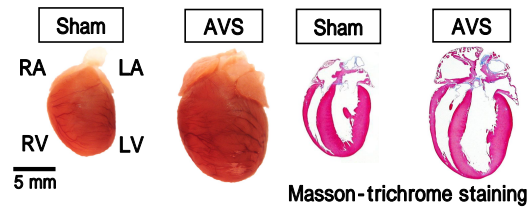


図1 ラット心臓の外観と断面像

動静脈瘻で生じた動静脈シャント(AVS)により遠心性の心臓拡大が生じ、心房も拡大している。

動静脈瘻作成から1ヶ月経過したラットより摘出した心房を用い、心房内伝導時間と有効不応期を計測した。図2に示すように、動静脈瘻作成群(AVS群)では伝導速度が有意に低下していた。マッソントリクロム染色による所見では心房筋組織に線維化が観察されており、このような組織学的変化が伝導速度の低下に關与していると考えられた。AVS群の心房有効不応期は延長していた。両心房で I_{Kur} (Kv1.5)、 I_{to} (Kv4.2)、 $I_{K,ACh}$ (Kir3.1)、 I_{K1} (Kir2.2) および Cx43 の mRNA が低値であり、左房筋活動電位の再分極が遅延していることが示されているため、このような変化が有効不応期の延長作用に關与しているものと推測された。

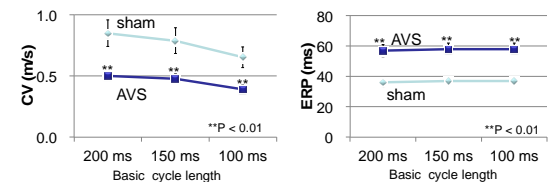


図2 摘出心房標本における電気生理学的特性

ラットから摘出した心房に電極を装着し、電気刺激時の心房内伝導速度(CV)および有効不応期(ERP)を計測した。動静脈シャント(AVS)群では心房内伝導速度が低下し、有効不応期は延長している。

動静脈瘻ラットの心房には組織学的リモデリングと電気的リモデリングの両者が生じていると考えられたので、全身麻酔したラットの心房を電気刺激することで心房細動を誘発し、その持続時間を計測した。図3に示すように、心房細動持続時間は動静脈瘻ラット(AVS群)で有意な延長が認められた。

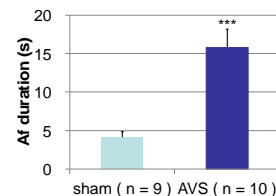


図3 電気刺激により誘発された心房細動の持続時間

麻酔下ラットの心房を高頻度刺激することで心房細動(Af)を誘発し、その持続時間を計測した。

本モデル心房では伝導速度の遅延が認められているため、心房内にリエントリーが形成されやすくなったと推測された。

次に、心房細動の誘発性および持続性を高める因子の検索を動脈硬化ラットを用いて進めた。レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系はリモデリングを促進する因子として知られるため、これら因子が心房細動の誘発性や持続性に与える影響を検討した。その結果、動脈硬化ラットにアルドステロンを慢性投与すると心房細動持続時間が大きく延長することが見出された(図4)。興味深

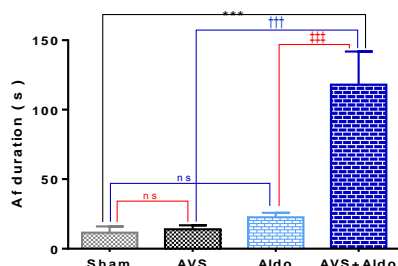


図4 電気刺激により誘発された心房細動の持続時間

麻酔下ラットの心房を高頻度刺激することで心房細動(Af)を誘発し、その持続時間を計測した。動脈硬化作成(AVS群)またはアルドステロンの腹腔内持続投与では心房細動持続時間は変化しなかったが、両者の刺激を慢性的に与えると心房細動持続時間は大きく延長した。

い点として、正常ラットにアルドステロンを投与しても延長作用が出現せず、慢性的な容量負荷の存在時にのみアルドステロンは心房のリモデリングを促進していたことが挙げられる。さらに興味深いことに、図5に示すように発作性心房細動が自然発生する個体も見出されている。アルドステロンがどのような機序で心房細動の誘発性や持続性を高めたのかは現時点で明らかではないが、心房細動の発症機序を検討する上で有用な現象と思われる。

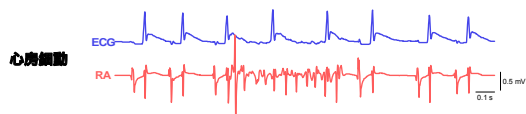


図5 発作性心房細動の自然発生

動脈硬化+アルドステロン(AVS+Aldo)群のラットで観察された発作性心房細動。ECG: 心電図、RA: 右房より記録した心内心電図。

以上より、ラットの心臓に対する慢性容量負荷は心房細動の持続性を高める効果を示し、さらにアルドステロンを慢性的に投与すると心房細動の誘発性と持続性の両者が高めることが見出された。慢性心房細動の発生メカニズムは単純なものではなく、本研究で示されたように複数の要因により生じるものと考えられる。今後、分子レベルでの解析を行い、心房細動の誘発性と持続性に与える因子の究明を進めていきたいと考えている。

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8件)

Takahara A, Hagiwara M, Namekata I, Tanaka H. Pulmonary vein myocardium as a possible pharmacological target for the treatment of atrial fibrillation. *J Pharmacol Sci*. 査読有、2014; 126(1): 1-7.

<http://doi.org/10.1254/jphs.14R09CP>
Kobayashi K, Omuro N, Takahara A. The conventional antihistamine drug cyproheptadine lacks QT-interval-prolonging action in halothane-anesthetized guinea pigs: comparison with hydroxyzine. *J Pharmacol Sci*. 査読有、2014; 124(1): 92-98.

<http://doi.org/10.1254/jphs.13159FP>
Takahara A, Suzuki S, Hagiwara M, Nozaki S, Sugiyama A.

Electrophysiological effects of an anti-influenza drug oseltamivir on the guinea-pig atrium: comparison with those of pilsicainide. *Biol Pharm Bull*. 査読有、2013; 36(10): 1650-1652.

<http://doi.org/10.1248/bpb.b13-00347>
Matsuo K, Fujiwara K, Omuro N, Kimura I, Kobayashi K, Yoshio T, Takahara A. Effects of the fluoroquinolone antibacterial drug ciprofloxacin on ventricular repolarization in the halothane-anesthetized Guinea pig. *J Pharmacol Sci*. 査読有、2013; 122(3): 205-212.

<http://doi.org/10.1254/jphs.13020FP>
Kitahara K, Nakamura Y, Tsuneoka Y, Adachi-Akahane S, Tanaka H, Yamazaki H, Takahara A, Yamazaki J, Ikeda T, Sugiyama A. Cardiohemodynamic and electrophysiological effects of anti-influenza drug oseltamivir in vivo and in vitro. *Cardiovasc Toxicol*. 査読有、2013; 13(3): 234-243. DOI: 10.1007/s12012-013-9202-6.

Takahara A, Takeda K, Hagiwara M, Tanaka H. Electrophysiological effects of the antiarrhythmic drug bepridil on the guinea-pig pulmonary vein myocardium. *Biol Pharm Bull*. 査読有、2013; 36(2): 311-315.

<http://doi.org/10.1248/bpb.b12-00590>
Takahara A, Fujiwara K, Ohtsuki A, Oka T, Namekata I, Tanaka H. Effects of the antitussive drug cloperastine on ventricular repolarization in

halothane-anesthetized guinea pigs. J Pharmacol Sci. 査読有、2012; 120(3): 165-175.
http://doi.org/10.1254/jphs.12117FP
Yamamoto T, Niwa S, Tokumasu M, Onishi T, Ohno S, Hagihara M, Koganei H, Fujita S, Takeda T, Saitou Y, Iwayama S, Takahara A, Iwata S, Shoji M.
Discovery and evaluation of selective N-type calcium channel blockers: 6-unsubstituted-1,4-dihydropyridine-5-carboxylic acid derivatives. Bioorg Med Chem Lett. 査読有、2012; 22(11): 3639-3642. DOI: 10.1016/j.bmcl.2012.04.051

〔学会発表〕(計 36 件)

神林 隆一、萩原 美帆子、高田 一唐、高原 章：急性房室ブロックウサギに発生する薬物誘発性不整脈におけるアドレナリン₁受容体の役割. 第 88 回日本薬理学会年会、2015.3.18、名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)
萩原 美帆子、神林 隆一、高田 一唐、日下部 太一、加藤 恵介、高原 章：急性房室ブロックウサギにおける薬物誘発性不整脈の発生機序：L 型 Ca²⁺チャンネルと Na⁺/Ca²⁺交換機構の関与. 第 88 回日本薬理学会年会、2015.3.18、名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)
千葉 俊樹、近藤 直人、清水 直子、高原 章：電氣的にリモデリングされた心房筋に対する抗不整脈薬の効果の比較. 第 24 回日本循環薬理学会、2014.12.5、山形テルサ(山形県・山形市)
萩原 美帆子、高田 一唐、神林 隆一、洪田 成二、高原 章：抗精神病薬パリペリドンによる催不整脈作用：急性房室ブロックウサギを用いた検討. 第 24 回日本循環薬理学会、2014.12.5、山形テルサ(山形県・山形市)
千葉 達夫、高木 幸恵、佐々木 英久、清水 一寛、高橋 真生、白井 厚治、高原 章：内因性 NO による大動脈 stiffness の制御. 第 37 回日本高血圧学会総会、2014.10.18、パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)
杉野 多美、原田 英里、高原 章：Dahl S ラットにおける L/N 型カルシウム拮抗薬シルニジピンの抗心房細動作用：ARB との併用による効果. 第 37 回日本高血圧学会総会、2014.10.17、パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)
高田 一唐、萩原 美帆子、洪田 成二、神林 隆一、高原 章：薬物性不整脈検出におけるウサギ徐脈モデルの有用性. 第 58 回日本薬学会関東支部大会、2014.10.4、昭和薬科大学(東京都・町田市)
高木 幸恵、千葉 達夫、佐々木 英久、白

井 厚治、高原 章：麻酔下ウサギにおける交感神経作用薬の血管応答性：CAVI を用いた検討. 第 58 回日本薬学会関東支部大会、2014.10.4、昭和薬科大学(東京都・町田市)
小原 浩、中村 裕二、曹 新、横山 浩史、中瀬古 寛子、安東 賢太郎、村越 伸行、佐藤 明、青沼 和隆、高原 章、池田 隆徳、杉山 篤：腎動脈デナベーションおよびアミオダロン慢性投与による心臓電気薬理学的作用の類似性：慢性房室ブロック犬モデルを用いた検討. 第 19 回アミオダロン研究会、2014.9.13、経団連会館(東京都・千代田区)
安東 賢太郎、中村 裕二、星合 清隆、岸江 拓也、柏木 克彦、曹 新、小原 浩、中瀬古(泉) 寛子、高原 章、赤坂 喜清、杉山 篤：正常犬と正常ブタ間での dipyrindamole 負荷後の心電図変化の差異：側副血行路が coronary steal の原因か？ 第 41 回比較心電図研究会、2014.9.6、持田製薬ルークホール(東京都・新宿区)
萩原 美帆子、高田 一唐、洪田 成二、高原 章： α_1 -Adrenoceptor stimulation is not essential for nifekalant-induced proarrhythmias under the condition of bradycardia in rabbits. 第 29 回日本不整脈学会学術大会 / 第 31 回日本心電学会学術集合同学術集会、2014.7.24、ザ・プリンスパークタワー東京(東京都・港区)
相本 恵美、灘 みづき、榎野 健、江見 遥、日下部 太一、加藤 恵介、高原 章：アルドステロン慢性負荷で生じる心房リモデリングにおける TRPC3 チャンネルの関与：動静脈瘻モデルラットを用いた検討. 第 130 回日本薬理学会関東支部会、2014.7.5、星薬科大学(東京都・品川区)
田中 愛弓、恒岡 弥生、鶴田 将人、中山 貴弘、灘 みづき、相本 恵美、濱口 正悟、行方 衣由紀、高原 章、田中 光：動静脈瘻ラット肺静脈心筋の電気生理学的性質. 第 130 回日本薬理学会関東支部会、2014.7.5、星薬科大学(東京都・品川区)
灘 みづき、高原 章：Aldosterone enhances inducibility of atrial fibrillation in rats with abdominal aortocaval fistula as a pathological model of chronic volume overload. 第 78 回日本循環器学会学術集会、2014.3.22、東京国際フォーラム(東京都・千代田区)
灘 みづき、相本 恵美、八木 啓太、江沢 亜耶、杉山 篤、高原 章：オセルタミビルは高頻度刺激により誘発された心房細動を抑制する：ラット動静脈瘻心拡大モデルを用いた検討. 第 87 回日本薬理学会年会、2014.3.20、仙台国際センター(宮城県・仙台市)
安東 賢太郎、中村 裕二、星合 清隆、曹 新、小原 浩、中瀬古 寛子、高原 章、杉山 篤：ST 部分低下により引き起こされた偽

- 性QT間隔延長作用. 第87回日本薬理学会年会、2014.3.20、仙台国際センター(宮城県・仙台市)
- 小原 浩、中村 裕二、曹 新、横山 浩史、中瀬古 寛子、安東 賢太郎、村越 伸行、佐藤 明、青沼 和隆、高原 章、池田 隆徳、杉山 篤: 腎交感神経除去術の慢性房室ブロック犬の心血管系に対する作用: シルニジピンおよびアミオダロンとの比較. 第87回日本薬理学会年会、2014.3.20、仙台国際センター(宮城県・仙台市)
- 野崎 修平、石黒 茜、岡村 佳織、高原 章: Ca拮抗薬の下部食道括約筋および血管における弛緩作用の選択性. 第87回日本薬理学会年会、2014.3.19、仙台国際センター(宮城県・仙台市)
- 萩原 美帆子、高田 一唐、渋田 成二、高原 章: 急性房室ブロックウサギにおける薬物誘発性不整脈の検討. 第87回日本薬理学会年会、2014.3.19、仙台国際センター(宮城県・仙台市)
- Harada E, Sugino K, Takahara A. The effects of L/N-type Ca²⁺ channel blocker cilnidipine on the cardiac histological remodeling and inducibility of atrial fibrillation in the high-salt-fed rats. The ASN Kidney Week 2013 Annual Meeting, 2013.11.7, Atlanta (USA)
- ②① 渡邊 恵子、野崎 修平、永田 麻里絵、勝弘毅、大澤 匡弘、高原 章: 5/6腎摘出がラット腎神経活動に与える影響. 第57回日本薬学会関東支部大会、2013.10.26、帝京大学(東京都・板橋区)
- ②② 山中 茉莉、千葉 達夫、佐々木 英久、白井 厚治、高原 章: Ca拮抗薬の動脈硬化指標(CAVI)に対する作用: 麻酔下ウサギによる検討. 第57回日本薬学会関東支部大会、2013.10.26、帝京大学(東京都・板橋区)
- ②③ 渋田 成二、萩原 美穂子、高田 一唐、高原 章: 薬物による催不整脈作用の検出に有用なウサギ徐脈モデルの開発. 第57回日本薬学会関東支部大会、2013.10.26、帝京大学(東京都・板橋区)
- ②④ 野崎 修平、宇野 洋司、田中 光、高原 章: イソプレナリン誘発狭心症ラットにおけるシルニジピンの作用. 第57回日本薬学会関東支部大会、2013.10.26、帝京大学(東京都・板橋区)
- ②⑤ 原田 英里、杉野 多美、西村 麻衣、高原 章: Dahl Sラットを用いた心房細動誘発モデルにおけるL/N型カルシウム拮抗薬シルニジピンの作用. 第36回日本高血圧学会総会、2013.10.25、大阪国際会議場(大阪府・大阪市)
- ②⑥ 千葉 達夫、山中 茉莉、佐々木 英久、清水 一寛、高橋 真生、白井 厚治、高原 章: ウサギCAVI計測モデルにおける血管拡張薬ニトログリセリンとニカルジピンの作用の相違. 第36回日本高血圧学会総会、2013.10.24、大阪国際会議場(大阪府・大阪市)
- ②⑦ 萩原 美帆子、渋田 成二、高田 一唐、高原 章: 麻酔ウサギを用いたアドレナリン受容体作用薬を使用しない薬物誘発性不整脈モデルの検討. 第30回日本心電学会年次学術集会、2013.10.11、リンクステーションホール青森(青森県・青森市)
- ②⑧ 萩原 美帆子、鈴木 早苗、野崎 修平、杉山 篤、高原 章: 心房に対するオセルタミピルの電気生理学的作用: モルモット単離心房標本による検討. 第128回日本薬理学会関東支部会、2013.7.14、早稲田大学(東京都・新宿区)
- ②⑨ 北原 健、中村 裕二、恒岡 弥生、赤羽 悟美、田中 光、山崎 浩史、高原 章、山崎 純一、池田 隆徳、杉山 篤: オセルタミピルの心行動態および電気生理学的作用. 第86回日本薬理学会年会、2013.3.22、福岡国際会議場(福岡県・福岡市)
- ③⑩ 八木 啓太、江沢 亜耶、福本 真理江、恒岡 弥生、濱口 正悟、長谷川 健志、久世 哲郎、千葉 俊樹、灘 みづき、行方 衣由紀、田中 光、高原 章: 動静脈瘻ラットにおける心房リモデリングの電気生理学的特徴. 第86回日本薬理学会年会、2013.3.21、福岡国際会議場(福岡県・福岡市)
- ③⑪ 新沼 多美、原田 英里、高原 章: The L/N-type Ca²⁺ channel blocker cilnidipine effectively suppressed the cardiac histological remodeling and dysfunction in the high-salt-fed rats. 第77回日本循環器学会学術集会、2013.3.15、パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)
- ③⑫ 高原 章: 循環器系に対するイヌを用いた薬理評価の特徴と意義. 第4回日本安全性薬理研究会、2013.2.15、東京大学(東京都・文京区)
- ③⑬ 八木 啓太、高原 章: 動静脈瘻による慢性容量負荷が心房の電気生理学的特性に与える影響. 第29回日本心電学会学術集会、2012.10.13、幕張メッセ(千葉県・千葉市)
- ③⑭ 高原 章、藤原 香織、岡 貴之、大槻 篤史、行方 衣由紀、田中 光: 鎮咳薬クロペラスチンのhERG Kチャンネルおよび心電図QT間隔に対する作用. 第29回日本心電学会学術集会、2012.10.12、幕張メッセ(千葉県・千葉市)
- ③⑮ 大室 直樹、藤原 香織、高原 章: シプロヘプタジンの心臓電気薬理学的作用: ハロセン麻酔モルモットモデルによる検討. 第126回日本薬理学会関東支部会、2012.7.14、北里大学(東京都・港区)
- ③⑯ 萩原 美帆子、米山 史陽、高原 章: 心房の再分極終末相に対するピルジカイニドの作用: ハロセン麻酔ウサギモデルによ

る検討. 第 126 回日本薬理学会関東部会、
2012.7.14、北里大学（東京都・港区）

〔産業財産権〕

出願状況（計 1 件）

名称：持続型心房細動モデル動物、その持続
型心房細動誘発方法及び製造方法

発明者：高原 章

権利者：東邦大学

種類：特許

番号：特願 2012-135909

出願年月日：2012 年 6 月 15 日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://gyoseki.toho-u.ac.jp/thuhp/KgApp>

6．研究組織

(1)研究代表者

高原 章 (TAKAHARA Akira)

東邦大学・薬学部・教授

研究者番号：80377481

(2)研究分担者

該当なし

(3)連携研究者

該当なし