

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：13901

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2013～2014

課題番号：25893090

研究課題名(和文) 陳旧性心房梗塞に伴う心房細動の発生機序解明と治療戦略の確立

研究課題名(英文) Mechanisms of atrial regional infarction-related atrial fibrillation

研究代表者

山崎 正俊 (YAMAZAKI, MASATOSHI)

名古屋大学・環境医学研究所・助教

研究者番号：30627328

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：心房細動の発生・維持に与える陳旧性心房梗塞の役割を解明し、新たな治療法を模索することを本研究の主題とする。モデル動物の心房上部を灌流する左洞結節動脈を結紮し、陳旧性心房梗塞を作成。心房細動が自然発生する心房梗塞誘発心房細動モデルの確立に成功した。心房梗塞作成8日後に光学マッピングシステムを用いて細動中の興奮様式を観察すると、境界部領域(梗塞部位と健常部位の境界)に投錨する渦巻き型旋回興奮波と湧き出し興奮波によって細動が維持されていることを確認した。悪性高熱の治療薬でもあるダントロレンが、リアノジン受容体内のドメイン連関障害を是正することで心房梗塞誘発心房細動を抑制することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Atrial fibrillation (AF) is the most common arrhythmia in adults and its management remains a therapeutic challenge. In this study, we implemented a new model of ovine 8-day left atrial regional infarction-related AF (LARI-AF) model and examined changes in local atrial electrophysiology, structural remodeling and AF activation patterns. LARI was generated by surgical ligation of left sinus node artery that irrigates specific regions of the left atrium upper region. After having created LARI, LARI hearts were Langendorff-perfused and optical mapping was conducted with one CCD camera directed towards the left atrium. LARI-AF was maintained by interplay between rotor and focal discharges anchoring at the ischemic border zone. Dantrolen, the most effective treatment for malignant hyperthermia, averts spontaneous LARI-AF initiation in preventing aberrant Calmodulin binding to ryanodine receptor 2 related Ca²⁺-release events and spontaneous focal discharges.

研究分野：循環器内科

キーワード：心房細動 心房梗塞 渦巻き型旋回興奮波

1. 研究開始当初の背景

超高齢者社会を迎え爆発的に増加しつつある心房細動は、脳梗塞発症や心不全による入院治療、QOL 低下をもたらし、大きな社会問題となっている。心房細動治療に対する有効な治療法を確立させることは我が国の逼迫した医療経済上において重要な問題である。心筋梗塞(心室)が心臓突然死と密接に関係し、梗塞領域が不整脈基質として重要であることは周知の事実であるが、心房細動を含む心房性不整脈における不整脈基質としての心房梗塞の重要性に関する知見は極めて乏しい。

近年、膜電位感受性色素を用いて、心臓の複雑な興奮伝搬を蛍光シグナルとして観察する光学マッピング実験が可能となり、心房細動維持に渦巻き型の巡回興奮や細胞内 Ca^{2+} ハンドリング異常から発生する巣状興奮が重要な役割を果たすことが明らかとなってきた。さらに、コンピューターシミュレーションを用いた理論的研究から立体的な構造をもつ心臓において、渦巻き型巡回興奮波は 3 次元状の形態をとることが想定され、3 次元マッピングの重要性が認識されてきている。

2. 研究の目的

心房細動の発生・維持機構に与える陳旧性心房梗塞の役割を解明し、新たな治療法を模索することを最終目的とする。申請者が独自に作成する心房梗塞モデルを用いて、心房細動発生・維持の機序を評価し、不整脈発現の基になる陳旧性心房梗塞とリモデリング心房筋を誘因として生ずる心房細動に対する新たな治療法開発を目指す。具体的には、

(1) 陳旧性心房梗塞モデルにおける、心筋組織構築の不連続性・不均一性の検出と、細胞電気興奮の動的不安定性(活動電位や伝導速度の回復特性の変化や交代現象など)を基盤とした不整脈基質生成の過程について解析し、心房性不整脈の発生・維持・停止の機構を明らかにする。

(2) 心房興奮伝播ダイナミクスを効果的に修飾・制御する手法について探索し、陳旧性心房梗塞に関連して発生する心房性不整脈の成立を防止すると共に、その停止を促す新たな技術基盤を確立する。

3. 研究の方法

(1) 心房虚血/梗塞誘発心房細動モデル作成

左洞結節動脈が左心房上部を灌流していることを以前報告しているが(図 1A, Yamazaki et al. Heart Rhythm 2009 and 2013)。本研究においては、全身麻酔/無菌操作下で小開胸を施し、左洞結節動脈(図 1A,B)を結紮することによって、陳旧性心房梗塞モデルの作成を試みる(左洞結節動脈は通常左冠動脈主幹部より分岐し、左心房頂部を經由し洞結節周囲に到達している)。植え込み型心電図記録装置を左側背部皮下に植え込み、自然発

生する心房細動を記録する。対照群としてシヤム手術を行った群間で結果を比較検討する。

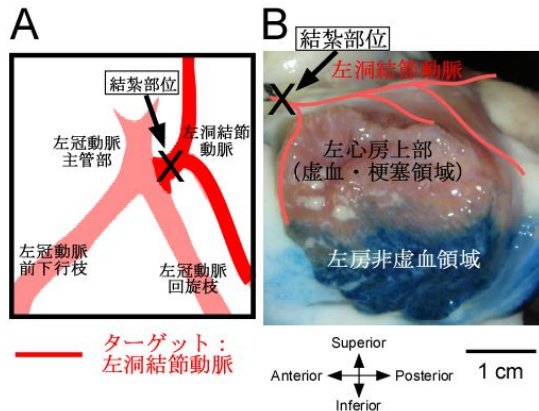


図 1: 陳旧性心房梗塞モデルの作成

(2) 摘出灌流心臓の光学マッピング

心房梗塞作成後 8 日後に、心臓を摘出し、Langendorff 灌流のもとで、膜電位感受性色素 (Di-4ANEPPS) で心筋を染色、心筋収縮を抑制する Blebbistatine(5-10 μ M) を添加し光学マッピング実験を施行する(図 2)。

心房各部位においた多極電極マッピングを併用することで心房細動中の高頻度興奮領域の同定を行う。

定常刺激(180-400ms)時の活動電位波形と伝導速度を非虚血、虚血、境界領域でそれぞれ計測し、構造学的心房筋のリモデリング進展を評価する。心房細動中の興奮様式を 1 拍ごと比較、分類し、心房梗塞誘発心房細動における特殊な興奮様式とその発生頻度、持続時間、解剖学的構造物と興奮波の位置関係を評価する。

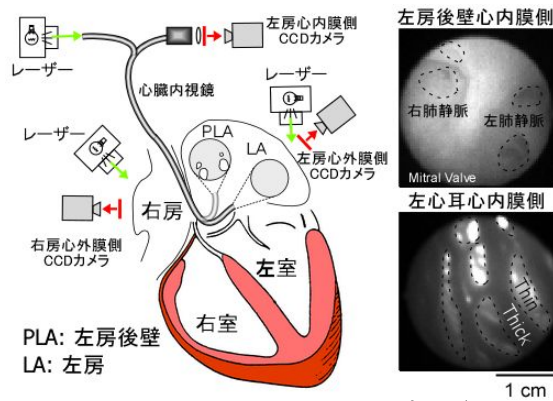


図 2: 心房活動電位光学マッピングシステム

(3) 細胞内カルシウム (Ca^{2+}) と活動電位の二重光学マッピング実験

上記(2)で用いた光学マッピングシステムを利用し、Ca 感受性色素(Rhod-2 AM)と膜電位感受性色素(RH237)の二重染色を行い陳旧性心房梗塞誘発心房細動における特殊な三次元興奮様式(巣状興奮、巡回興奮波)を評価・検討する。

(4) 旋回興奮波に対する高周波通電

心房細動中に観察される渦巻き型旋回興奮波（旋回を維持するエンジン）に高周波通電を加えることで細動を停止させるという仮定に基づき、渦巻き型旋回興奮波への高周波通電治療を施行する。

4. 研究成果

(1) 心房梗塞誘発心房細動モデル作成

ヒツジ心房梗塞誘発心房細動モデルの作成（N=5）に成功した。心房梗塞領域は色調が明らかに変化しており、同梗塞領域の心房収縮は微弱であった。心房梗塞作成術後8日目に心臓を摘出し同モデル心臓の光学マッピングを引き続き施行した。心房梗塞作成手技後から自然発生する心房細動の発生が確認され、対照群と比較しても有意な出現数増加を認めた(図3)。

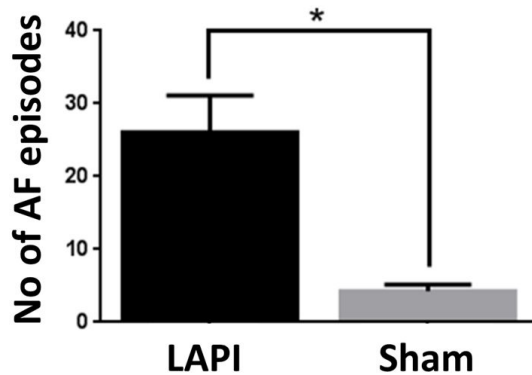


図3：心房細動発生率の比較（心房梗塞モデル；LAPI, 対照群 Sham）

(2) 陳旧性心房梗塞誘発心房細動の興奮様式

心房梗塞誘発心房細動中に、巣状興奮と旋回興奮波が頻回に観察された。さらに、巣状興奮と旋回興奮波は比較的限局された梗塞境界領域に局在することが確認された(図4, BZ: 梗塞 非梗塞領域の境界部, IZ: 梗塞領域, NIZ: 非梗塞領域)。心房梗塞誘発心房細動は巣状興奮と旋回興奮波の相互作用によって維持されていることが示唆された。

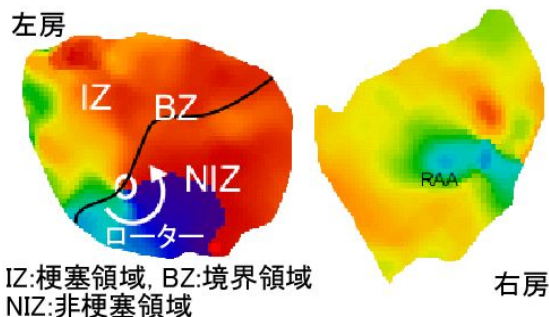


図4：心房梗塞誘発心房細動中に観察された梗塞境界部領域に同在する旋回興奮波

(3) 細胞内カルシウム (Ca²⁺) と活動電位の二重光学マッピング実験

膜電位に先行して変化する Ca²⁺ 電位の存在から、心房梗塞誘発心房細動中に観察される湧き出し興奮波の多くが Ca²⁺ に関連した巣状興奮によるものであることが示唆された。上記の結果から、リアノジン受容体からの Ca²⁺ 漏出が本不整脈に関与している可能性を考慮し、悪性高熱の治療薬でもあるダントロレンを使用すると、巣状興奮を抑制し心房細動の停止が確認された。ダントロレンが、リアノジン受容体内のドメイン連関障害を是正することで心房梗塞誘発心房細動を抑制することが示唆された。

(4) 旋回興奮波に対する高周波通電

心房梗塞誘発心房細動中に観察される旋回興奮波への高周波通電による効果の詳細は不明である。旋回中心への高周波治療による心房細動の停止を 2/7 例で確認した。停止例と非停止例における詳細な評価が今後の検討課題である。

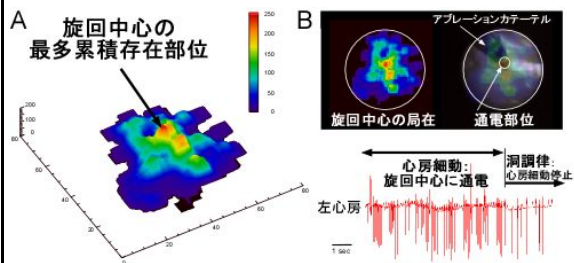


図5：旋回中心の累積存在部位(A)と、高周波通電による心房細動の停止(B)

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)

山崎正俊: [Point of View] Rotor(渦巻き型旋回興奮波)と心房細動-光学マッピングシステムを用いた実験的検討-心電図 2014;34 巻 2 号:82-87 頁

Berenfeld O, **Yamazaki M**, Filgueras-Rama D, Kalifa J. Surface and Intramural Reentrant Patterns during Atrial Fibrillation in the Sheep. *Methods Inf Med.* 2014;53(4):314-9

〔学会発表〕(計 11 件)

Avula UM, **Yamazaki M**, Honjo H, Berenfeld O, Jalife J, Kodama I, Kamiya K, Kalifa J: Mechanistic Comparison of “Nearly-Missed” versus “On-Target” Rotor

Ablation. AHA2014 2014. 11.17 (Chicago, USA)

Avula UM, **Yamazaki M**, Honjo H, Rojas-Pena A, Valdivia CR, O'Connell R, Musa H, Anumonwo J, Valdivia HH, Kalifa J: Dantrolene Prevents Left Atrial Infarction-induced Spontaneous Focal Discharges and Atrial Fibrillation Initiation in Sheep. Cardiac EPS 2014 2014. 11.14 (Chicago, USA)

Yamazaki M: Optical Mapping of Atrial Fibrillation. 9th Annual Advanced Catheter Ablation Course at Toyohashi Heart Center at Toyohashi (2014.8.4)

Yamazaki M, Honjo H, Nakagawa Y, Ueda N, Niwa R, Ogawa T, Kodama I, Kamiya K, Kuwahara K: Role of renin-angiotensin system on the lethal arrhythmias in a transgenic mouse model with reactivation of the fetal gene program. JHRS2014 2014. 7.24 (Tokyo)

Yamazaki M, Honjo H, AVULA UM, Ogawa T, Niwa R, Ueda N, Kodama I, Kamiya K, Kalifa J: Heterogeneous wall thickness provides a substrate for anchoring of I-shaped filament scroll waves during stretch-related atrial fibrillation. The 78th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2014.3.21 (Tokyo)

Yamazaki M, Honjo H, Nakagawa Y, Yamada C, Kodama I, Kamiya K, Kuwahara K: Prevention of ventricular reentrant activity in a transgenic mouse model with sudden cardiac death by aliskiren. Cardiostim/Europace 2014. 6.30 (Nice, France)

〔図書〕(計 2 件)

Kalifa J, Avula U and **Yamazaki M**: Acute atrial ischemia and fibrillation. *In Cardiac Electrophysiology: From Cell to Bedside 6th Edition* edited by Zipes DP and Jalife J. ELSEVIER SAUNDERS, Philadelphia, PA, USA:2014, P. 443-448.

山崎正俊: Driver ablation は持続性・慢性心房細動の革新的治療法になり得るか? 日経メディカルオンライン,日経BP社, 2014

6 . 研究組織

(1)研究代表者

山崎 正俊 (MASATOSHI YAMAZAKI)
名古屋大学・環境医学研究所・特任助教
研究者番号 : 30627328