

## 岩手医科大学審査論文内容の要旨(博士)

Nicorandil improves electrical remodeling, leading to the prevention of electrically induced ventricular tachyarrhythmia in a mouse model of desmin-related cardiomyopathy

(ニコランジルはデスミン関連心筋症モデルマウスにおける、電気的リモデリングを改善し、心室性頻脈性不整脈の誘発を防ぐ)

(松下尚子, 弘瀬雅教, 三部篤, 平英一, 入江康至, 近藤ゆき子)

(Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology 41 巻, 1 号 平成 26 年 2 月掲載)

### I. 研究目的

デスミンは筋細胞の細胞骨格を構成するフィラメント成分の一つであり、デスミン遺伝子の変異はデスミン関連心筋症を引き起こすことが知られている。低分子量ストレス蛋白の一つである $\alpha$ -B クリスタリン (CryAB, 別名 HSPB5) の 120 番目のアルギニンをグリシンに点変異させた (R120G) CryAB を心臓特異的に強発現させたトランスジェニック (TG) マウスは、デスミン関連心筋症を引き起こし心不全を発症することが報告されている。これまでの研究で、他のデスミン関連心筋症モデルマウスではギャップ結合のリモデリングと伝導速度低下が報告されている。また、我々の研究では、狭心症治療薬であるニコランジル [ATP 感受性 K (KATP) チャンネル開口薬であり硝酸薬] は、慢性心不全モデルマウスにおいて心室筋の電気的リモデリングを改善し心室頻拍 (VT) を抑制する。しかし、CryAB R120G TG マウスにおいて心筋の電気的リモデリングが引き起こされているか、ニコランジルが電気的リモデリングを改善するかについてはわかっていない。

そこで、本研究では、ニコランジルの慢性投与が CryAB R120G TG マウスの電気的リモデリングを改善し、VT を抑制できるか検討した。

### II. 研究対象ならび方法

Non-CryAB R120G TG マウス, CryAB R120G TG マウス, および CryAB R120G TG マウスにニコランジルを投与 (CryAB R120G TG + ニコランジル) の 3 群に分け検討した。ニコランジル (15 mg/kg/日) は 5 週齢から 30 週齢まで飲水投与で与えた。

30 週齢のマウスを用い、イソフルラン麻酔下に心臓超音波により左室短縮率を測定し、第 II 誘導体表面心電図を 10 分間記録して不整脈の発生を観察した。また各心電図パラメータを計測した。摘出心臓からランゲンドルフ心を作成し、左心室後壁外膜側から単層活動電位を、また左心室前壁外膜側から膜電位光学マッピング法により蛍光活動電位を記録した。活動電位は、心外膜側表面から 200ms, 150ms, 100ms の各刺激間隔で 10 秒間ペーシングをして測定した。高頻度刺激を 5 秒間行い、VT の誘発を行った。単層活動電位から活動電位幅を測定し、蛍光活動電位から心室筋外膜側の興奮波伝導速度を測定した。また摘出心臓を用いて、Connexin43, 蛋白の発現量と空間的分布について Western blotting 法と免疫組織染色で検討した。

データの解析は分散分析法と  $\chi^2$  乗検定を用いて行った。

### III. 研究結果

1. 心機能（左室短縮率）は、Non-CryAB R120G TG 群に比して CryAB R120G TG 群で有意に低下していたが、CryAB R120G TG+ニコランジル群で有意に改善した。
2. CryAB R120G TG 群では2例で洞不全がみられた。他の2群では不整脈は見られなかった。
3. CryAB R120G TG 群ではRR, QTc 間隔以外の心電図パラメーターが延長していた。CryAB R120G TG+ニコランジル群ではQT 時間以外改善した。QTc は3群間に有意差がなかった。
4. 刺激間隔 200, 150 mec でペーシングした時の単層活動電位幅は、Non-CryAB R120G TG 群に対して、CryAB R120G TG 群と CryAB R120G TG+ニコランジル群で有意に延長した。一方、刺激間隔 100msec でペーシングした時は、3群間に有意な差はなかった。
5. 興奮波伝導速度は、Non-CryAB R120G TG 群に比して CryAB R120G TG 群で有意に低下していたが、CryAB R120G TG+ニコランジル群で有意に改善した。
6. 高頻度刺激は、CryAB R120G TG 群で8例中6例にVTを誘発させた。他の2群ではVTの誘発はなかった。
7. Connexin43 蛋白の発現量は、Non-CryAB R120G TG 群に比して CryAB R120G TG 群で有意に増加していたが、CryAB R120G TG+ニコランジル群では有意に改善した。
8. 免疫組織染色では、Non-CryAB R120G TG 群に比して CryAB R120G TG 群で心筋細胞長軸側での Connexin43 蛋白の発現増加が見られたが、CryAB R120G TG+ニコランジル群では改善した。

### IV. 考按

Connexin43 は一般的に心筋の刺激伝導に重要な役割を果たしており、Connexin 43 タンパク発現量の低下は刺激伝導の低下に関連するということが一般的に知られている。本研究では、Connexin 43 発現と刺激伝導との関係に矛盾が生じているが、今回用いたデスミン関連心筋症モデルマウスは通常マウスとは異なった病態をしており、また Gard らの研究で、刺激伝導の低下が Connexin 43 発現の低下に関連していなかったという報告もある。さらに、近年の研究では Connexin 43 発現量の増加が、不整脈誘発に関連しているという実験データもでており、Gard らの研究でも、本研究と同様の Connexin 43 分布変化がみられ、ギャップ結合に存在する Connexin 43 の量が低下していたことが示されている。この分布の変化がニコランジル投与によって正常化することで刺激伝導速度低下を改善させることが考えられた。

また、先の研究で、点変異 HSPB5 を過剰発現させた心筋細胞に対し、ニコランジル投与したところ、BAX 増加、BCL2 減少、Caspase-3 活性、アポトーシスを抑制することで、細胞活性を量依存性に改善した。さらに、ニコランジル投与はミトコンドリア感受性 K チャネルの活性化により、R120GTG マウスの生存率を改善したという報告もあり、ニコランジルはミトコンドリア感受性 K チャネルの開口作用を通じて、心筋の Connexin 43 の機能改善に作用していると考えられる。

### V. 結 語

今回の研究から、ニコランジルは刺激伝導速度の低下を改善することにより VT の発生を抑制することがわかった。心臓の電気的および構造的リモデリングが VT の発生に関与しており、ニコランジルはデスミン関連心筋症マウスの Connexin43 の発現量を正常化することにより刺激伝導速度の低下を改善して VT 誘発を抑制することが示唆される。