

リークカリウムチャネルによる細胞骨格依存的な心房性不整脈の制御機構

岡本洋介

秋田大学大学院医学系研究科 細胞生理学講座

【研究の背景】

典型的な心房性不整脈である心房細動は、最も頻度の高い不整脈であり我が国では約 170 万人以上の罹患者がいると見積もられている。心房細動は脳梗塞や認知症の原因ともなっており、高齢化が進む日本においては社会問題というべき疾患である。

心房細動の発生源は肺静脈に存在する心筋層であり¹⁾、肺静脈を左房から電気的に隔離する肺静脈アブレーション治療が発展した。現在、肺静脈アブレーションは発作性心房細動に対する有効率が 80%以上を示す。一方で、持続化・慢性化した非発作性心房細動に対しての治療効果は限定的で、治療後も再発を繰り返す傾向があり、さらなる研究が必要となっている。本研究で注目する KCNK2 チャネルは、慢性心房細動患者の心臓で発現量が減少することが分かっており²⁾、心房性不整脈との関りを調べる必要がある。

【目 的】

本研究の目的は、リーク K^+ チャネルである KCNK2-細胞骨格連関と、心房性不整脈発生機構との関係を明らかにすることである。今回、KCNK2 の機能を多角的に評価する事で、心房細動に特化した創薬の橋渡し研究となる事を目指したい。

【方 法】

- (1) KCNK2 心臓特異的ノックアウト(cKO) マウスの心機能評価
- (2) KCNK2cKO の不整脈誘発実験
- (3) KCNK2cKO の単離心筋におけるパッチクランプ実験
- (4) 心房不整脈誘発ラットにおける KCNK2 の薬理学的評価
- (5) KCNK2 の結合タンパクである TPM1 の cKO 作出
- (6) TPM1cKO の心機能評価
- (7) TPM1cKO の単離心筋におけるパッチクランプ実験
- (8) KCNK2 の TPM1 との結合部位の検索

【結 果】

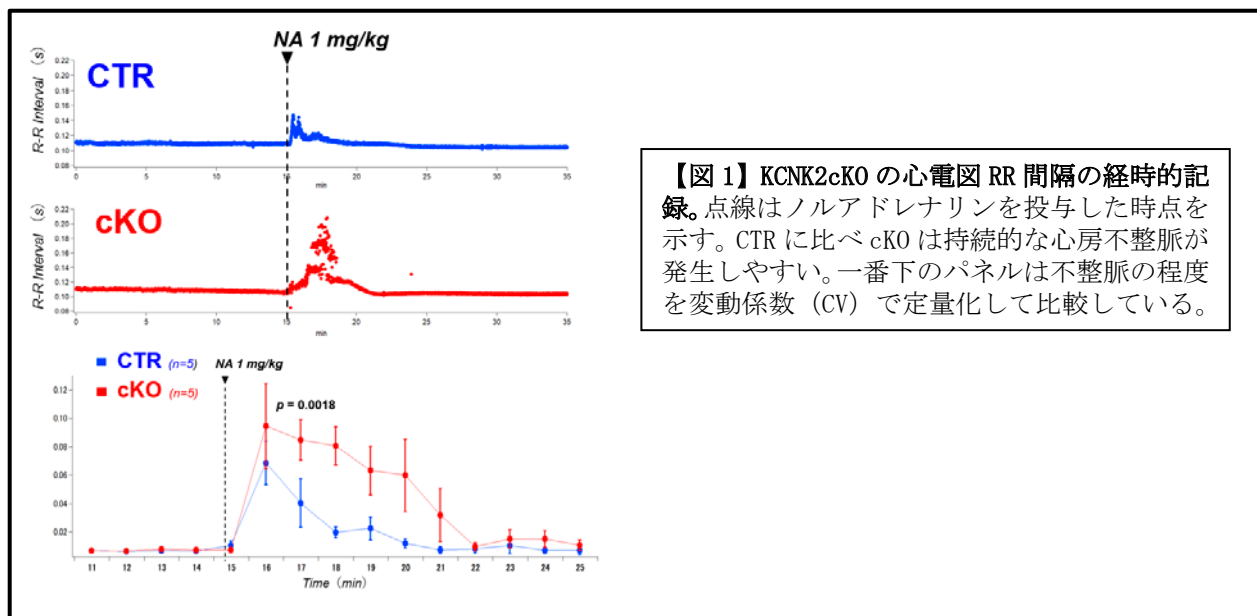
< (1) KCNK2cKO マウスの心機能評価 >

KCNK2 についての cKO マウス(Cre 陽性)の心エコー所見を対照群(Cre 陰性、CTR)と比較した結果、心室壁厚、心室容積、心機能に有意差は無く、異常所見は無かった(CTR; n = 4, cKO; n = 4)。心電図波形の各パラメータにおいても有意差は無く、異常所見を認めなかった(CTR; n = 5, cKO; n = 5)。

< (2) KCNK2cKO の不整脈誘発実験 >

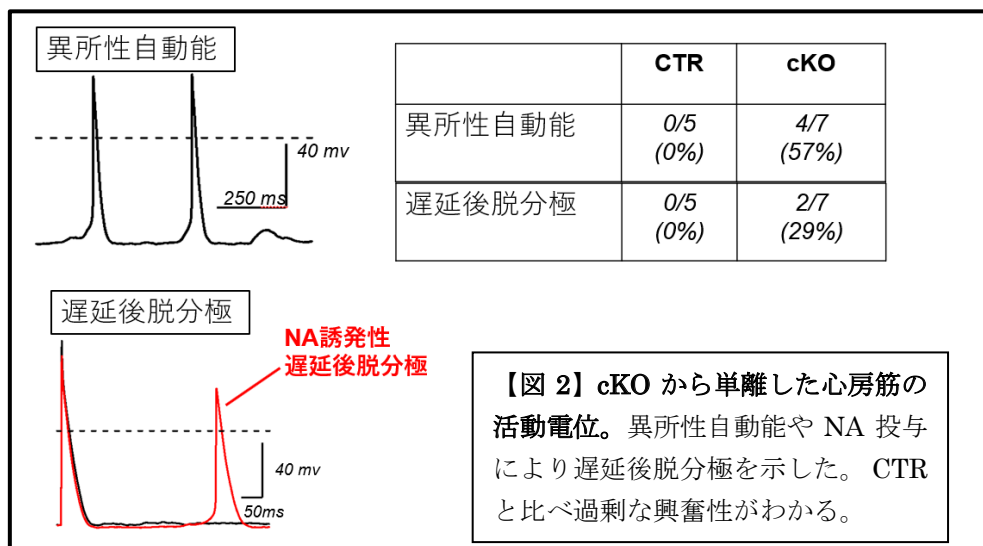
麻酔下で心電図を記録しながら、ノルアドレナリン (NA) 1 mg/kg を投与する事で心房性不整脈を誘発した。心電図の R-R 間隔を経時的に解析すると、CTR マウスと比較して cKO マウスにおいて顕著に不整脈が遷延する事が分かった【図 1】。

誘発した不整脈の心電図所見は異所性心房調律だった。



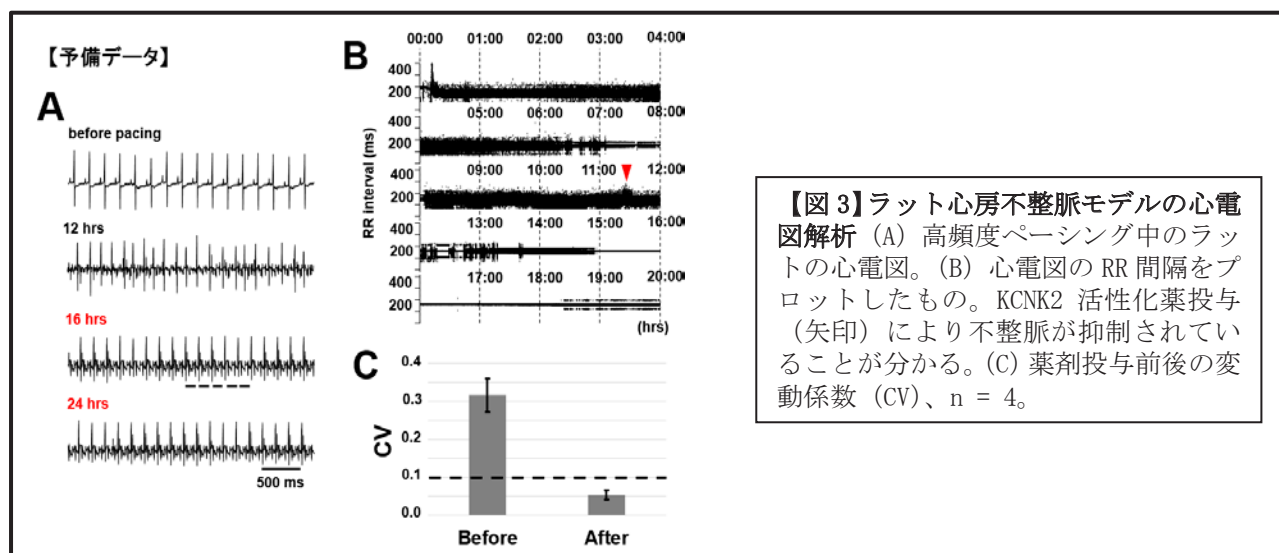
< (3) KCNK2cKO の単離心筋におけるパッチクランプ実験 >

心房筋を急性単離して活動電位を記録したところ、CKO マウスの心房筋細胞において異所性自動能や、NA 誘発性の遅延後脱分極が観察された【図 2】。



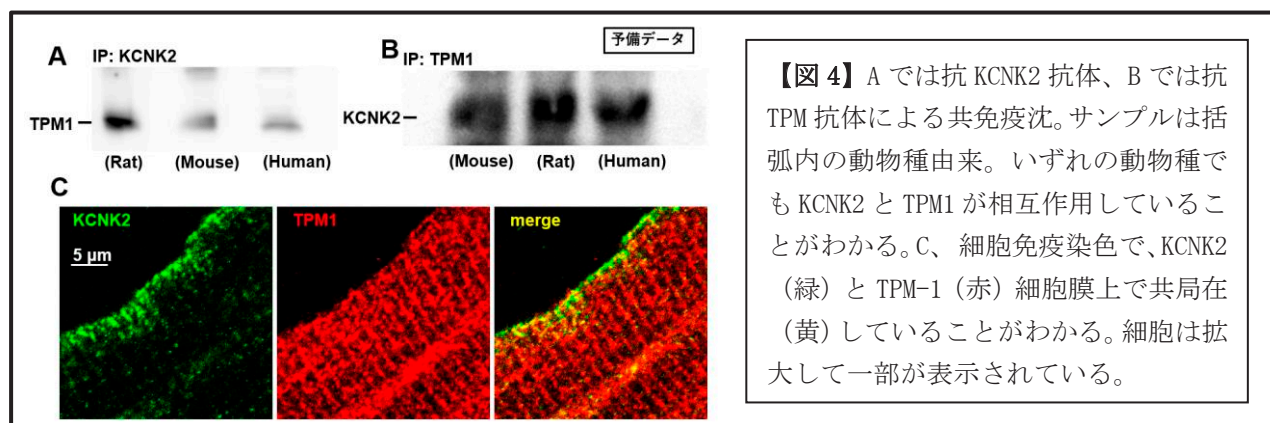
< (4) 心房不整脈誘発ラットにおける KCNK2 の薬理的評価 >

持続性不整脈が KCNK2 活性化薬 (BL1249) によって抑制されるかを確認するためにラット心房を高頻度心房ペーシングして心房性不整脈を誘発した。不整脈が生じている最中に BL1249 1 mg/kg を投与すると不整脈が改善された (n = 4) 【図 3】。



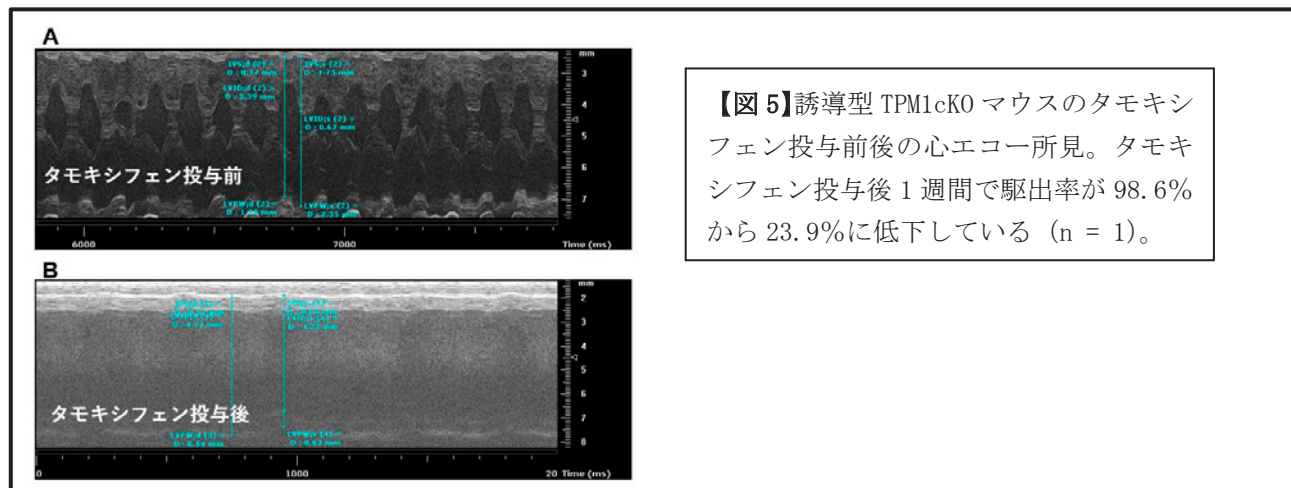
< (5)～(8)TPM1cKO を用いた実験 >

免疫沈降-質量分析解析により KCNK2 は細胞骨格蛋白である TPM1 と結合していることがわかった【図4】。



タモキシフェンにより後天的に心臓における TPM1 をノックアウトするマウスを作出した。

実験回数はまだ少ないが、この TPM1cKO はタモキシフェン投与後 5～20 日で死亡する (n = 3)。心エコー所見では著しい心機能の低下を認めた【図5】。



今後、TPM1cKO マウスにおける不整脈感受性や、KCNK2 の局在などを検証していく。アミノ酸配列に基づく計算では、KCNK2 の TPM1 結合部位は N 末端並びに C 末端側の細胞内側鎖であると予測されている。この結合部位も、実験で確認する予定である。

【考 察】

KCNK2 をノックアウトしたマウスでは心房筋細胞が異常に興奮するため心房性不整脈が起こりやすく、ラットを用いた実験では KCNK2 活性化薬の投与によって持続的に起こっていた心房性不整脈が改善されることがわかった。KCNK2 は心房筋において異常興奮の発生を制御している可能性がある。

さらに、KCNK2 は TPM1 を介して心筋細胞骨格に直接結合していた。今後、TPM1 の誘発型 cKO マウスを用いて、心筋収縮と膜興奮制御の機能連関を検証していく。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

心房性不整脈の代表である心房細動は、循環器領域の重要研究課題である。今回、新たな心房不整脈の分子機構が明らかになったことで、KCNK2 が治療標的になる可能性がある。

【参考・引用文献】

- [1] Haïssaguerre H, et al. *N Engl J Med*. 1998
- [2] Schmidt C, et al. *Prog Biophys Mol Biol*. 2017