

# 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医学） 氏名 渡邊 昌也

## 学位論文題名

膜電位光学マッピング法を用いた1型糖尿病ラットにおける心房細動基質の検討

### [背景と目的]

糖尿病は心房細動の独立した危険因子であるが、糖尿病が心房の電気生理学的特性に与える変化については十分に検討されていない。実験的研究においても、間質の線維化亢進に関連した興奮伝導遅延や交感神経活性の増強による不応期の不均一性の増大によって心房細動の誘発性が高まることが報告されているのみであり、糖尿病心の心房における催不整脈的機序に関する知見は未だ不足している。特に、多くの発作性心房細動は肺静脈内起源の高頻度反復性異常興奮によって発生するため、高頻度の電氣的興奮に対する糖尿病心の心房での電気生理的变化を解明することは臨床医学的にも求められている。このため、我々は糖尿病動物の心房において、興奮伝導遅延や興奮伝導の不均一性、活動電位持続時間 (APD) の時間的空間的不均一性が増大しているか、また、それらが興奮頻度の増加に伴って増強されるかを検証する目的で、膜電位光学マッピング法を用い薬剤誘発性糖尿病ラットの右心房における電気生理的变化について検討した。

### [材料と方法]

8週齢のWistar rat(オス)にStreptozotocin (STZ) 65mg/kgを腹腔内投与し、糖尿病ラットを作成した。実験には糖尿病ラット20匹、対照ラット21匹を使用した。直接的気管切開による人工呼吸下に心臓を摘出し、Langendorff法により逆行性灌流を行った。心房細動誘発試験は対照ラット12匹、糖尿病ラット10匹に対して行い、5秒間の連続刺激法を計5回行い、最長持続時間を心房細動持続時間とした。膜電位光学マッピング法は、対照ラット9匹、糖尿病ラット10匹に対して行った。膜電位感受性色素 Di-4-ANEPPS の投与後、ミオシンII特異的阻害剤 Blebbistatine の持続灌流により、電氣的活動を保ったまま心拍動を停止させた。励起光源を標本心臓に照射し、放射蛍光を高感度電荷結合素子 (CCD) カメラにて撮影した。撮影は右心耳からの頻回刺激中に行い、刺激間隔は200、150、100、80、75msec、以下は刺激頻度と心房興奮が1:1に繋がらなくなるまで5msecずつ減少させた。活動電位持続時間 (Action potential duration, APD) として、その80%再分極点までの時間 APD80 と同 APD50 を測定した。局所の脱分極点は、活動電位波形の立ち上がり最大速度時点とし、ペーシング部位と各ピクセル間の時間差を算出し、興奮伝播マップを当時間線で表した。更に、それを元に速度ベクトルマップを作成し、ベクトルの平均値を平均興奮伝導速度とした。また、興奮伝導の不均一性の評価として、ピクセル間の脱分極時間の差 (phase difference) から phase difference マップを作製し、その定量評価として不均一性絶対値、不均一性指数を算出し、両群間の差を比較した。組織学的検討は両群6匹ずつのラットで行い、組織断面積における線維化領域面積の割合を測定した。

[結果] 心房細動の持続時間は糖尿病ラットで有意に延長した (対照ラット  $0.9 \pm 0.3$  vs. 糖尿病ラット  $2.4 \pm 0.6$  sec,  $P < 0.05$ )。興奮伝導速度は糖尿病ラットで有意に低下した。不均一性絶対値、不均一性指数は糖尿病ラットにおいて有意に高値だった。また、これらの数値は、糖尿病ラットにおいて刺激周期の短縮に伴う上昇を認めた。APD80 は右心房内の4領域 (右心耳、右心房自由壁、高位右心房、下位右心房) で測定し、その平均値は糖尿病ラットで有意に延長

した（対照ラット  $40.4 \pm 2.6$  vs. 糖尿病ラット  $53.4 \pm 2.3$  msec、 $P < 0.01$ ）。また、APD80 の不均一性を示す変動係数（標準偏差/平均）は、糖尿病ラットにおいて有意に高値だった（対照  $0.15 \pm 0.01$  vs. 糖尿病ラット  $0.20 \pm 0.02$ ）。刺激周期の変化による APD の短縮は糖尿病ラットにおいて強調されており、刺激周期 200msec での APD80 に対する刺激周期 150、100、80msec の APD80 の割合は、糖尿病ラットで有意に低下しており、同様の結果は、APD50 でも認めた。糖尿病ラットでは 100msec 前後の刺激周期で、活動電位オルタナンスと呼ばれる活動電位が 1 拍毎に長短長短を繰り返す現象が頻繁に認められ、その出現頻度は対照ラットで 11%、糖尿病ラットで 100%と糖尿病ラットで高値だった（ $P < 0.001$ ）。更に刺激頻度を短くしていくと、一部の糖尿病ラットでは活動電位波形が複雑に変化し、局所的な興奮伝導ブロックが観察された。活動電位オルタナンスの出現機序の一つと考えられている APD の回復曲線特性を検討したが、曲線の最大傾きは対照  $0.6 \pm 0.2$ 、糖尿病ラット  $0.8 \pm 0.2$  と有意差を認めず、最大傾き値 1 以上であった個体の割合についても対照 22%、糖尿病ラット 20%と有意差を認めなかった。組織学的検討において、線維化領域の割合は対照ラット  $7.0 \pm 0.4\%$  に対し、糖尿病ラット  $12.0 \pm 0.8\%$  と糖尿病ラットで有意に線維化の亢進を認めた（ $P < 0.001$ ）。

#### [考察]

今回の研究において、糖尿病心の心房における心房細動持続時間の延長、興奮伝導速度の低下と興奮伝導の不均一性の増大、APD の延長、刺激周期の短縮に伴う APD 短縮度の増大、活動電位オルタナンスの易出現性、間質の線維化の増大を認めた。興奮伝導速度低下や興奮伝導の不均一性の増大は、過去の報告から心房細動基質として重要であることが報告されているが、我々は膜電位光学マッピングを用いることにより、糖尿病心の心房におけるこれらの指標を初めて詳細に検討し得た。また、我々は糖尿病心の心房における APD の延長も確認した。糖尿病心の心房における APD に関する報告は非常に限られている。加えて、それらの結果は動物モデルによって異なっており、今後のエビデンスの蓄積が必要と思われる。この APD 延長の機序については全く明らかとされていないが、糖尿病心の心室では外向きカリウム電流の減弱やナトリウム-カルシウム交換電流の増強が報告されており、心房においても同様の機序の関与が推測される。APD の延長が有する催不整脈性についても未だ明らかではないが、近年の動物実験における報告から早期脱分極による異所性興奮が関与していると推測される。今回、APD の空間的不均一性の増大や活動電位オルタナンスの易出現性についても確認したが、これらの再分極異常は心房内での伝導ブロックを助長し、心房細動の発生に関与する可能性があり、糖尿病における心房細動発生機序の一つと考えられた。活動電位オルタナンスの出現機序については、これまでの研究から回復曲線の影響と細胞内カルシウム制御不全の影響の二つの可能性が考えられている。今回の研究では、その一つである APD 回復曲線の特性について検討したが、両群間に差は認めなかった。この結果に加え、糖尿病下の心室筋では細胞内カルシウム制御異常が報告されていることから、我々が観察した糖尿病下の心房における活動電位オルタナンスの出現には細胞内カルシウム制御不全が関与していることが間接的に示唆される。

上述のような糖尿病下の心房における電気生理学的変化は、基礎疾患を背景としない心房細動患者における心房細動の病態進行における機序とは異なっており、今後の更なる研究により詳細な病態の把握と背景にある機序の解明が望まれる。

#### [結論]

本研究では、STZ 投与により誘発された糖尿病ラットの右心房において、正常対照ラットとの比較により、下記のような電気生理学的、組織学的変化が確認された。(1)心房細動持続時間の延長、(2)興奮伝導速度の低下、(3)興奮伝導の不均一性が増大、(4)APD が延長、(5)APD の空間的不均一性の増大、(6)APD の頻度依存性短縮度の増大、(7)活動電位オルタナンスの易出現性、(9)間質の線維化の亢進。

上記のような糖尿病ラットの心房における変化は、糖尿病患者における心房細動発生の機序となっている可能性が示唆された。