

Banyu Foundation Research Grant 2015—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <概要>

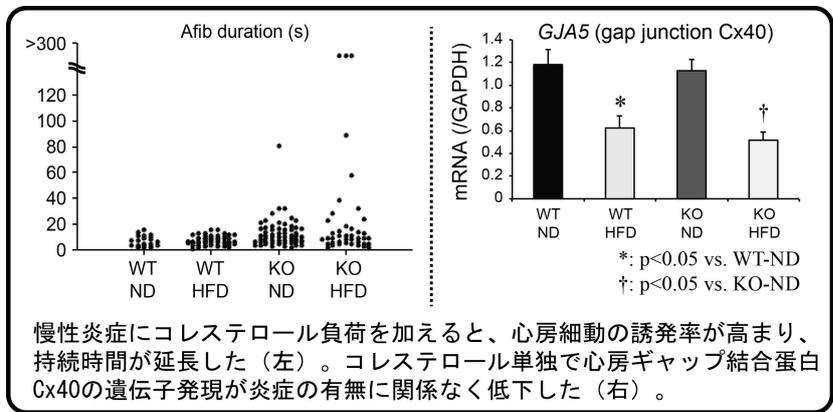
所 属	徳島大学病院 糖尿病対策センター
氏 名	高成 広起
研究テーマ	コレステロールが心房筋ギャップ結合蛋白コネキシン 40 の発現・分布に与える影響

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は 1 ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

【背景・目的】 高コレステロール血症が心房組織の特性や不整脈基質に及ぼす影響は不明な点が多い。我々は以前に、野生型(WT)マウスに高脂肪食(HFD:60%ラード含)を 4 週間与えると、心房細動の誘発率が増大し、心房ギャップ結合蛋白 Cx40 をコーディングする GJA5 遺伝子の mRNA 発現が減少することを予備実験で確認したが、そのメカニズムとして「コレステロールの直接作用」と「炎症による間接作用」が考えられた。本研究では炎症モデルマウスとして確立されている IL-10 ノックアウト(KO)マウスに HFD を与えた場合と、WT マウスに HFD を与えた場合とで、心房細動の誘発率や心房組織の特性、心房に発現する遺伝子プロファイルなどがどのように異なるかを検証した。

【方法】 WT マウスと KO マウスそれぞれに通常食(ND)と HFD を与えた、計 4 群での比較検討をおこなった。心房細動は経食道カテーテルによる左心房の頻回刺激により誘発した。心房細動誘発中は心電図記録を行い、心房の刺激伝導を示す P 波幅を測定した。心房の形態学的特性は心臓超音波検査による左室・左房の径測定で検証し、実験終了後に摘出した心臓は Masson-Trichrome 染色で線維化の有無を確認した。遺伝子発現は心房組織から抽出した mRNA の qPCR 法により検証した。

【結果】 WT マウスに HFD を与えると、ND を与えた群に比べて心房細動誘発率が増加した。KO マウスは ND 群においても心房細動誘発率が WT マウスに比べて高く、持続時間も長かった。KO マウスに HFD を与えると、心房細動の誘発率が著しく高くなり、持続時間もさらに延長した(図左)。コレステロールと慢性炎症は個別に心房組織に対して不整脈基質を形成し、それぞれに相乗作用があると示唆された。不整脈誘発前後の心電図では、KO マウスに HFD を与えた場合にのみ P 波幅の延長が見られたが、心臓超音波検査では左房径に変化はみられなかった。慢性炎症にコレステロール負荷が加わった場合にのみ、心房拡大を伴わずに刺激伝導遅延が生じることが示され、組織に伝導遅延を生じるリモデリングが生じていることが示唆された。これを裏付けるように、KO マウスに HFD を与えた群では、同マウスに ND を与えた場合よりも心房の線維化が顕著であった。GJA5 遺伝子発現は WT マウスおよび KO マウスに HFD を与えた場合に有意に低下し(図右)、GJA5 発現は炎症の有無に関係なくコレステロールが直接作用することが示された。一方、慢性炎症モデルでは KCNJ2 遺伝子が増加し、SCN5a 遺伝子が減少し、コレステロール負荷の影響を受けなかったことから、これらの変化は炎症のみによって生じている可能性が示唆された。線維化を示す α-SMA や Collagen I の遺伝子発現は慢性炎症モデルで増大していた。



慢性炎症にコレステロール負荷を加えると、心房細動の誘発率が高まり、持続時間が延長した(左)。コレステロール単独で心房ギャップ結合蛋白 Cx40 の遺伝子発現が炎症の有無に関係なく低下した(右)。

不整脈誘発前後の心電図では、KO マウスに HFD を与えた場合にのみ P 波幅の延長が見られたが、心臓超音波検査では左房径に変化はみられなかった。慢性炎症にコレステロール負荷が加わった場合にのみ、心房拡大を伴わずに刺激伝導遅延が生じることが示され、組織に伝導遅延を生じるリモデリングが生じていることが示唆された。これを裏付けるように、KO マウスに HFD を与えた群では、同マウスに ND を与えた場合よりも心房の線維化が顕著であった。GJA5 遺伝子発現は WT マウスおよび KO マウスに HFD を与えた場合に有意に低下し(図右)、GJA5 発現は炎症の有無に関係なくコレステロールが直接作用することが示された。一方、慢性炎症モデルでは KCNJ2 遺伝子が増加し、SCN5a 遺伝子が減少し、コレステロール負荷の影響を受けなかったことから、これらの変化は炎症のみによって生じている可能性が示唆された。線維化を示す α-SMA や Collagen I の遺伝子発現は慢性炎症モデルで増大していた。

【考察】 慢性炎症モデルにコレステロール負荷を加えると、心房組織の刺激伝導を規定する GJA5 と SCN5a が減少し(電気的リモデリング)、さらに刺激伝導を妨げる線維化が生じるため(組織学的リモデリング)、P 波幅延長や心房細動の易誘発性といった電気生理学的特性の変化が生じると考えられた。このことから、慢性炎症を生じる病態(高血圧・糖尿病などの生活習慣病)を持つ患者においてコレステロールを厳格にコントロールする重要性が強く示唆された。

Banyu Foundation Research Grant 2015—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <発表実績/予定一覧>

所	属	徳島大学病院 糖尿病対策センター
氏	名	高成 広起

1. 論文発表実績	
	<ul style="list-style-type: none"> 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。 掲載年次順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。 国内外雑誌を問わない。 印刷中は in press と記入、学会のアブストラクトおよび投稿中の論文は含めない。 欄が足りない場合は、増やして記入すること。
1	<u>Takanari H</u> , Fontes MSC, van der Heyden MAG, Vos MA, van Veen TAB: Corrigendum and response to the letter from Warren et al. <i>Cardiovasc Res</i> 2017 accepted. (査読あり)
2	Ji Y, Veldhuis MG, Zandvoort J, Romunde FL, Houtman MJC, Duran KJ, van Haaften G, Zangerl-Plessl EM, <u>Takanari H</u> , Stary-Weinzinger A, van der Heyden MAG: PA-6 inhibits inward rectifier currents carried by V93I and D172N gain-of-function KIR2.1 channels, but increases channel protein expression. <i>J Biomed Sci</i> 2017;24:44.(査読あり)
3	Ji Y, <u>Takanari H</u> , Nalos L, Houtman MJC, Heukers R, van Bergen en Henegouwen PMP, Vos MA, van der Heyden MAG: Class III antiarrhythmic drugs amiodarone and dronedarone impair KIR2.1 backward trafficking. <i>J Cell Mol Med</i> 2017;21:2514-23. (査読あり)
4	Kushiya Y, Honjo H, Niwa R, <u>Takanari H</u> , Yamazaki M, Takemoto Y, Sakuma I, Kodama I, Kamiya K: Partial IK1 blockade destabilizes spiral wave rotation center without inducing wave breakup and facilitates termination of reentrant arrhythmias in ventricles. <i>Am J Physiol Heart Circ Physiol</i> 2016;311:H750-8.(査読あり)
5	<u>Takanari H</u> , Bourgonje VJA, Fontes MSC, Raaijmakers AJA, Driessen H, Jansen JA, van der Nagel R, Kok B, van Stuijvenberg L, Boulaksil M, Takemoto Y, Yamazaki M, Tsuji Y, Honjo H, Kamiya K, Kodama I, Anderson ME, van der Heyden MAG, van Rijen HVM, van Veen TAB, Vos MA: Calmodulin/CaMKII inhibition improves intercellular communication and impulse propagation in the heart, and is anti-arrhythmic under conditions when fibrosis is absent. <i>Cardiovasc Res</i> 2016;111:410-21.(査読あり)
6	Morishima M, Iwata E, Nakada C, Tsukamoto Y, <u>Takanari H</u> , Miyamoto S, Moriyama M, Ono K: Atrial fibrillation-mediated up-regulation of miR-30d regulates myocardial electrical remodeling of G-protein-gated K ⁺ channel, IK _{ACh} . <i>Circ J</i> 2016;80:1346-55.(査読あり)
7	<u>Takanari H (corresponding)</u> , Miwa K, Fu X, Nakai J, Ito A, Ino K, Honda H, Tonomura W, Konishi S, Opthof T, van der Heyden MAG, Kodama I, Lee JK: A new in vitro co-culture model using magnetic force-based nanotechnology. <i>J Cell Physiol</i> 2016;231:2249-56.(査読あり)
8	平木洋子, 高成広起. [総説] ATP感受性 K ⁺ チャネル病の新規症候群---Cantú症候群. <i>脳と発達</i> 2016;48:5-11.(査読あり)
9	高成広起. [総説] ジギタリス---伝統的薬剤を現代医療でどのように用いるか---. <i>循環器内科</i> 2016;80:3-9. (査読なし)
10	Ma F, <u>Takanari H</u> , Masuda K, Morishima M, Ono K: Short- and long-term inhibition of cardiac inward-rectifier potassium channel current by an antiarrhythmic drug bepridil. <i>Heart Vessels</i> 2015;31:1176-84.(査読あり)
11	Okuda T, <u>Takanari H</u> , Shiotani S. Letter to the editor: A systematic review and pooled analysis of CPR-associated cardiovascular and thoracic injuries. <i>Resuscitation</i> 2015;97:e3.(査読あり)

様式 4-2②

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ・ 国内外を問わない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2016年3月24日	学会: 第93回日本生理学会大会 発表者: 高成 広起 演題: Structure-based analysis of the function of Kir2.1 channel using a novel I_{K1} blocker PA-6: Interplay of PA-6, intracellular spermine
2		
3		
4		
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2017年9月 論文投稿中	Cardiovascular Pathology
2	2017年11月 論文投稿予定	Biological and Pharmaceutical Bulletin
3	2017年12月 論文投稿予定	Journal of Molecular and Cellular Cardiology
4	2018年3月 論文投稿予定	Nature Genetics