

氏名(本籍)	許 東 洙 (中 国)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博 甲 第 5830 号
学位授与年月日	平成 23 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	Atrial fibrillation rat model induced by transvenous catheter pacing and PPAR-γ activator as upstream therapy for age-related atrial fibrillation (カテーテル刺激によるラットの心房細動モデルと PPAR- γ 活性薬を用いた加齢に伴う心房細動アップストリーム治療の開発)
主 査	筑波大学教授 医学博士 榊 原 謙
副 査	筑波大学講師 博士(医学) 高 橋 昭 光
副 査	筑波大学講師 博士(医学) 甲 斐 平 康
副 査	筑波大学准教授 博士(医学) 堀 米 仁 志

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

心房細動は臨床的に最も多い不整脈の一つであり、その有病率は加齢とともに増加する。生活の質や心機能の低下を引き起こすばかりでなく、心原性塞栓症の主要な原因となり、生命予後を有意に悪化させる。主に左心房・肺静脈から発生する異常電気興奮が引き金となって発症し、これを繰り返すうちに電氣的リモデリング・構造的リモデリングという、心房細動の持続しやすい基質が形成されていく。この変化を引き起こす重要な要因として、加齢、心房負荷、炎症、酸化ストレス、アポトーシスなどが挙げられる。

心房細動の治療は抗不整脈薬と肺静脈隔離アブレーション術が主流であり、既に起こってしまった心房細動を停止させる治療法である。それに対し、酸化ストレスや炎症、心房負荷を軽減することにより心房細動の発生を予防する治療はアップストリーム（上流）治療と呼ばれ、レニン・アンジオテンシン系抑制薬やスタチンの有効性が報告されている。しかしながら、慢性心房細動や心房リモデリングの進行した例に対しては、治療効果が不十分である。

Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) - γ activator であるピオグリタゾン[®]はⅡ型糖尿病治療薬であり、血管や心臓における酸化ストレス抑制作用や炎症抑制作用が報告されている。したがって、同様の機序で心房リモデリングを改善し、心房細動を抑制できる可能性がある。しかし、加齢に伴う心房細動を抑制できるかどうかは不明である。

本研究では、加齢に伴う心房細動の発症機序をより詳細に解明し、新たな治療法の開発に役立てるために、まずラット心房細動モデルを作成し、その特性と有用性を検証すること、次にこのモデルを用いて、ピオグリタゾンが心房リモデリングを改善し、加齢に伴う心房細動を抑制できるかどうかを検討することをその目的とした。

(対象と方法)

第一部：3ヶ月齢および9ヶ月齢ラット（Wistar、雄）をそれぞれ若年群、高齢群とした。麻酔後、心電図および心臓超音波検査を行い、次に頸静脈から2-French電極カテーテルを挿入し、右心房で30秒間の高頻度電気刺激を行った。刺激終了直後から記録される心房細動出現の有無および持続時間を記録した（1日おきに計2回）。さらに抗不整脈薬の効果を確認するため、高齢群にpilsicainide（1mg/kg）またはamiodarone（10mg/kg）を静脈注射し10分後、同様に誘発試験を行った。誘発試験後、心房組織をMasson Trichrome染色し、心房筋短径および心房線維化率を算出した。さらに誘発された心房細動持続時間と心電図、心臓超音波、組織所見の各パラメーターとの相関を検討した。

第二部：Wistar雄ラットを三群：3ヶ月齢（若年群：溶媒のみ内服）、9ヶ月齢（高齢群：溶媒のみ）、9ヶ月齢+ピオグリタゾン内服（ピオグリタゾン投与群：3mg/kg/day、4週間）に分けた。4週後、経静脈カテーテルによる心房細動誘発試験を行った。心房組織からRNA、タンパクを抽出し、それぞれreal-time RT-PCR法、Western blotting法にて発現を解析した。心房組織中の活性酸素の測定は、ラジカルプローブ（3-Carbamoyl-PLOXYL）を静脈注射し、15分後心房を摘出・ホモジネート後、電子スピン共鳴法（ESR）によって測定した。心房組織切片をMasson trichrome染色およびTUNEL染色にて観察し、心房組織の心房筋肥大、線維化、およびアポトーシス陽性核の出現の程度を評価した。

(結果)

第一部：誘発された心房細動の持続時間は、若年群に対して高齢群では3倍以上に有意に延長していた。それに対し、ピルジカイニド投与群、アミオダロン投与群では有意に短縮した。組織学的検査では、心房における線維化率および心房筋短径は、若年群と比較し、高齢群で有意に増大していた。誘発された心房細動持続時間は、左心房径、P波幅、線維化率と有意な正の相関を示した。

第二部：心房細動持続時間は高齢群で有意に延長していたが、ピオグリタゾン投与群では有意に抑制された。加齢による心房組織中活性酸素の増加はピオグリタゾンによって有意に回復した。高齢群の心房では抗酸化因子であるMnSOD（manganese superoxide dismutase）、熱ストレス応答タンパクHSP70（heat shock protein）の遺伝子発現およびタンパク発現が有意に低下し、酸化ストレス産生系であるNADPH oxidaseのp22^{phox}とgp91^{phox}の発現は有意に増大していたのに対し、ピオグリタゾン投与によっていずれも有意に回復した。ピオグリタゾン投与によってリン酸化Aktは有意に亢進し、リン酸化ERK1/2・JNKは有意に抑制された。ピオグリタゾンはアポトーシス関連因子であるリン酸化Bad・Bcl-2の発現を有意に回復させ、caspase-3とcaspase-9を有意に抑制したことから、ピオグリタゾンは加齢に伴うアポトーシスを抑制したことが示唆された。組織所見では加齢に伴う心房線維化およびアポトーシスがピオグリタゾンによって有意に抑制された。

(考察)

本研究では、経静脈カテーテルによる刺激により、低酸素や薬理的介入なくラットで心房細動が誘発されること、若年ラットと比較して、高齢ラットでは心房細動の持続時間が有意に延長していること、さらに通常の臨床で使用される抗不整脈薬投与により心房細動持続時間および誘発率が有意に抑制されることを明らかにした。また、洞調律者と比較して心房細動患者では、心電図上のP波幅の拡大、左心房径の拡大、左心房の線維化が認められることが報告されているが、本研究では、ラットにおいてもP波幅、左心房径、心房線維化率が心房細動持続時間と正の相関を有することを示した。このことからこのモデルは、心房細動に対する薬理的効果の研究および加齢に伴う心房リモデリングの機序の解明に有用であると考えられた。

PPAR- γ activatorであるピオグリタゾンが心房細動持続時間を有意に抑制した機序に関して、ピオグリタゾンは核内受容体型転写因子であるPPAR- γ を活性化することにより、直接的にhsp70やMnSODの発現を増加させ、これらが酸化ストレスの抑制に関与したものと考えられる。一方、ピオグリタゾンには、受容体

を介さずに ERK や JNK の活性化を抑制する作用が知られている。このような MAPK の抑制によって、主に心房線維化の抑制に働いたものと考えられる。また同様にピオグリタゾンには細胞生存シグナルとして重要な Akt を活性化する作用が報告されており、活性型 Akt による Bad のリン酸化を介して、アポトーシスのミトコンドリア経路を抑制し、結果として心房リモデリングを抑制した可能性が考えられる。

(結論)

経静脈カテーテルを用いた高頻度刺激によって誘発される心房細動ラットモデルは、心房細動に対する薬理的効果の研究および加齢に伴う心房リモデリングの機序の解明に非常に有用であると考えられる。

また、ピオグリタゾンは、酸化還元反応の恒常性を改善し、ミトコンドリア経路を介するアポトーシスを抑制することによって、加齢に伴う心房の構造的リモデリングと心房細動の持続を抑制した。PPAR γ 活性化薬は加齢に伴う心房細動の新たなアップストリーム治療として有効である可能性がある。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究では、経静脈カテーテルを用いた高頻度刺激によって誘発される心房細動ラットモデルの開発に引き続き、ピオグリタゾンによる加齢に伴う心房細動の新たなアップストリーム治療の可能性を示した。

論文審査ならびに最終試験の結果に基づき、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。