

【助成 39-38】

光エネルギーによる新たな無痛性不整脈治療の開発

代表研究者 北海道大学病院 循環器内科 助教 渡邊 昌也

〔研究の概要〕

光遺伝学とは対象となる細胞や組織に光感受性タンパクや蛍光タンパク質を遺伝的に発現させることで、生体機能を非接触で高精度に制御もしくはモニタリングする技術の総称である。現在、光駆動形チャネルまたはポンプを心筋細胞に発現させることで、心臓電気生理学特性の解明や、心筋ペーシングや除細動などの心臓電気生理制御法の開発が進められている。本研究では光駆動型チャネルであるチャネルロドプシン 2 (channelrhodopsin-2: ChR2)をプルキンエ線維および心房筋に特異的に発現させたトランスジェニックマウスを用い、短時間の光照射中の活動電位持続時間 (APD)、有効不応期 (ERP)の変化を光学マッピングを用いて詳細に検討した。短時間光刺激は、光照射後も APD、ERP を有意に延長させた。更に、心房細動の光除細動の波形解析から、不応期の延長が光除細動器の機序に関与することが示唆された。

〔研究経過および成果〕

【背景と目的】心房細動は日常診療で遭遇する最も一般的な不整脈である。電氣的除細動は、最も確実な除細動手技であるが、疼痛を伴うため十分な鎮静管理を要する。光遺伝学を用いた「光除細動」は無痛な除細動方法として臨床応用が期待されている。ChR2 発現心筋において、リエントリー性不整脈発症時に光刺激を与えることで光除細動が可能であることが報告されているが、光除細動の機序は十分に明らかになっていない。最も有力な説は「伝導ブロック説」である。これは光刺激により静止膜電位が上昇し、細胞膜に存在する電位依存性 Na⁺チャンネルが不活化することで心筋の興奮性が低下し、伝導ブロックを形成するものである。その一方で、短時間の活動電位波形の修飾など、伝導ブロック説に依らない光除細動機序の関与も示唆されている。我々は「活動電位持続中に実施される光刺激による活動電位持続時間(action potential duration: APD)および有効不応期

(effective refractory period: ERP)の延長が光除細動に関与している」と仮説を立て「還流心の心筋において、短時間パルス光刺激が APD および ERP に与える影響を明らかにすること、APD および ERP 延長効果と短時間パルス光刺激による光除細動の関連を明らかにすること」を目的とした。

【方法】Cre-loxP システムを用い、プルキンエ線維および心房筋に特異的に ChR2-tdTomato を発現させたマウスを使用し、凍結切片で ChR2-tdTomato の発現を確認した。ランゲンドルフ灌流心に対して、右心房を心外膜側から青色光(470nm)で刺激する心房光照射系を確立した。K_{ACh}-channel activator である Carbachol を溶解し、さらに低カリウム状態にした溶液 (Carbachol + 低カリウム溶液)を灌流し、電氣的連続刺激を行うことで心房細動を誘発した。心房細動誘発後に右心房にパルス光刺激を行い、心房細動抑制効果を検証した。活動電位持続中に実施されるパルス光刺激による APD 延長効果および ERP 延長効

果を、光学マッピング法を用いて観察した。パルス光刺激による光除細動時の活動電位波形を、光学マッピング法を用いて観察した。

【結果】凍結切片で心房に tdTomato を確認し ChR2 の発現を確認した。心房光照射系を用いたパルス光刺激で心房光ペーシングが確認された。Carbachol + 低カリウム溶液灌流および心房連続電気刺激により誘発された心房細動はパルス光刺激により光除細動された。光除細動率はパルス光刺激の光強度およびパルス幅に依存した。絶対不応期を含む活動電位持続中に実施されるパルス光刺激により APD は有意に延長し(図 1)、ERP も同様に有意に延長した。APD および ERP は活動電位再分極相でパルス光刺激を受けた場合に最も延長した。また、ERP 延長効果は光刺激のパルス幅に依存した。一方で一定値以上の光強度は ERP 延長に追加効果を与えなかった。パルス光刺激による光除細動は APD の延長を伴っていた(図 2)。【結論】光遺伝学を用いた光除細動の機序

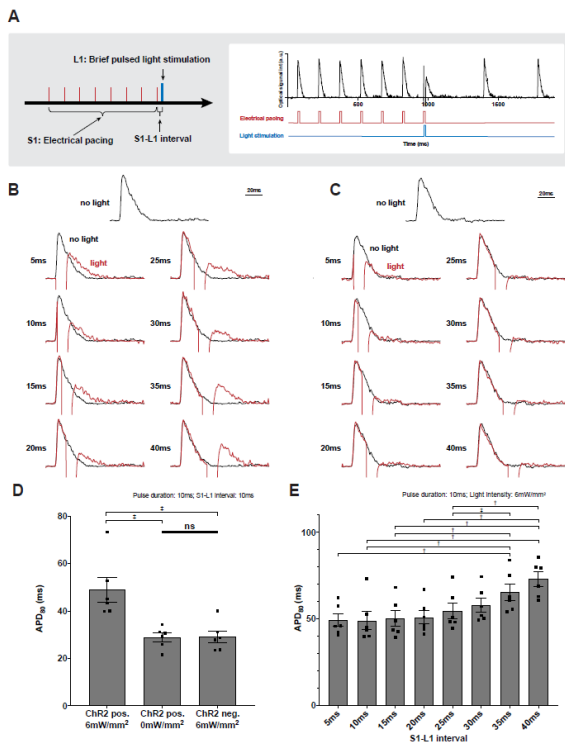


図 1. 光刺激中の活動電位波形の変化

の一つとして、光刺激による APD の延長および ERP の延長が関与していることが示唆される。

[発表論文]

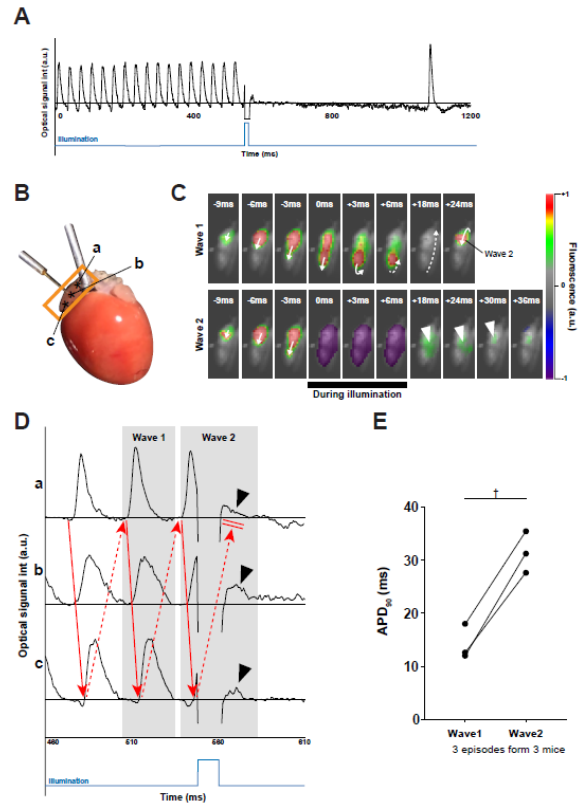


図 2. 光除細動中の活動電位波形

1. Nakao M, Watanabe M, Natsui H, Koya T, Takahashi Y, Hagiwara H, Kamada R, Temma T, Anzai T. Optogenetic termination of atrial fibrillation delivered by brief pulse illumination in mice. 第 5 回日本循環器学会基礎研究フォーラム 2021.9.11-12. Oral on line.
2. Nakao M, Watanabe M, Natsui H, Koya T, Takahashi Y, Hagiwara H, Kamada R, Temma T, Anzai T. Prolongation of the Refractory Period is a Key Mechanism of Optogenetic Termination of Atrial Fibrillation in Mouse Hearts. AHA Scientific Session 2021.11.15. ePosters on line.