

# 心室細動の基礎的研究

所属機関 慶應義塾大学医学部内科学  
研究者名 小川 聡

## 《研究の概要》

心臓性急死（突然死）の頻度が欧米並に急増しており、その予防法および治療法の確立が社会的課題となっている。中でも虚血性心疾患に伴う突然死の大半が心室細動をはじめとする致死的不整脈に起因することが示されているにも拘わらず、その発生機序、発生予知法、治療・予防法等は確立されていない。そこで、突然死の主因である心室細動の発生機序を細胞電気生理学的レベルから生体位心臓レベルまでを包括して解明することを目的として、平成6年度車両財団助成金の交付を受けて研究班が組織された。主任研究者小川聡のもと、橋本敬太郎、児玉逸雄、萩原誠久、村川裕二、岡崎修、岡本良夫の6名の分担研究者によって3年間にわたり研究活動が継続され、各研究グループにおける研究成果が順調に集積されるに至った。その研究成果は研究班の中間報告会をかねて約120名の参加者を迎えて平成8年6月22日に開催された「心室細動公開シンポジウム」において発表された。

突然死の主因である心室細動の発生には心筋虚血あるいは諸原因による交感神経活性の増大が深く関与していることが臨床的に明かにされており、本研究班の主たる研究課題として、心筋梗塞において交感神経支配の異常を直接証明し、その異常がいかなる電気生理学的修飾をもたらして心室細動発生へ至るのかを、特に局所心筋不応期の延長あるいは不均一性に注目して検討を加えた（小川）。同じく生体位心を用いた興奮伝播マッピングにより細動がリエントリー性であるのかあるいは撃発活動などに起因するのかを検討した（村川）。これらから得られた知見は同時にコンピュータシミュレーションにより検証された（岡崎・岡本）。一方、さらにこうした電気生理学的変化が起こる背景は細胞レベル、膜レベルで検討された（児玉、萩原）。特に、児玉のレーザー光を用いて膜電位を光学的に測定するシステムはわが国初で、これまで困難であった細動発生時の活動電位波形変化を明かにし、膜レベルからの心室細動の発生機序の解明に大きな貢献がなされた。また、萩原のヒト心筋細胞を用いて実施された膜伸展刺激に伴う電流系の解析は国内外を通じて例がなく、心室細動を含めた不整脈の発生機序を検討するために有用であることが証明された。

以上のごとく、臨床例の細動発生とその停止を規定する種々の因子をまず動物生体位心レベルで検討し、その妥当性がさらにコンピュータシミュレーションモデルで検証され、その細胞レベルでの変化へと研究が展開できた所に本研究班の独創的な構成が集約される。本研究班の成果により、突然死の主因である心室細動発生に至る機構の解明が大きく前進したといえる。さらに、薬理学部門の橋本による研究は、解明されつつある細動発生機序を踏まえ、それに対する抑止効果のある様々な新しい薬理的知見を明らかにしてきた。これにより、近い将来の突然死発生予防への有効な対応策が解明されるものと期待される。

## 研究者氏名及び所属機関

研究者氏名	所属機関及び地位	分担研究課題
主任研究者		
小川 聡	慶應義塾大学医学部 内科学教授	生体位心モデルでの心室細動発生機序の解析
分担研究者		
橋本敬太郎	山梨医科大学 第一薬理学教授	虚血性心室細動の研究
児玉逸雄	名古屋大学 環境医学研究所教授	直流通電による心機能障害の検討
萩原誠久	東京女子医科大学 心臓血管研究所講師	伸展活性化電流の役割
村川裕二	東京大学医学部 第二内科学助手	心室性不整脈の三次元マッピング
岡崎 修	国立国際医療センター 医員	コンピュータモデルでの心室細動発生メカニズムの解析
岡本良夫	千葉工業大学 電気工学科教授	心室細動コンピュータモデルの開発

## 研究報告

### I. 研究目的

突然死の頻度は疾患動態の欧米化にともないわが国でも近年増加傾向にあり、その予防法および治療法の確立が社会的課題となっています。米国では年間約 30 万人が突然死を来すことが報告され、その大部分が心筋梗塞をはじめとした虚血性心疾患に起因するものとされています。一方、わが国では厚生省が突然死研究班を組織し、わが国における突然死の実態調査が始められたばかりであります。

通常の世界生活を送っている人が突然意識を失ってその場に昏倒し、24 時間以内に死に至る突然死は、現場で記録された心電図所見などから心室細動あるいは心室頻拍という重篤な頻脈性不整脈が主因であることを示す情報が得られています。すなわち、これらは心臓の拍動が突然毎分 200 以上に増加する不整脈で、一旦これが発生すると心臓の正常なポンプとしての機能が失われ、血液の全身への駆出が停止してしまう状態です。従来臨床統計学的検討から、突然死は心筋梗塞など心臓に異常が存在する例において、強いストレス等がきっかけに発症することが知られており、自律神経活動と突然死の関連性が強く疑われております。突然死の発生予知法と予防対策を確立するには、こうした自律神経系のストレスが実際にどのような機構で心臓に致死的不整脈をもたらすのか、あるいはこの致死的不整脈がどのような心臓電気現象の異常に基づいて発生するのかを解明する必要がありますが、臨床研究では極めて困難な課題であります。本研究事業の目的は、細胞電気生理学的レベルから生体位心臓モデルまでを包括し、心室細動を含めた致死的不整脈の発生機序

を解明し、その発生予知と治療・予防への対応策を検討する事であります。

## II. 研究計画及び材料と方法

総括責任者小川聡のもとで、大学・医療施設の共同研究者 6 名からなる研究班を組織して、心室細動発現に至る分子、細胞レベルから生体位心レベルでの電気生理学的機序を解明し、その情報をもとに心室細動のコンピュータシミュレーションを行い、各種抗不整脈薬あるいは非薬物療法による心室細動発生予防あるいは治療法の検証を行った。

1. 萩原班員は、単一家兎およびヒト心筋細胞を用いて伸展刺激時の活動電位と電流の変化を明かとし、さらにこの際活性化される Cl、K、Ca 電流を解析し、これらの細胞内調節機構や抗不整脈薬による修飾機転を検討した。特に、Cl 電流に関しては messenger RNA レベルでの発現および発現調節を RT-PCR 法で検討した。さらに、2~3 年度には手術時に採取して単離したヒト心筋細胞にパッチクランプ法を応用して心筋細胞の活動に重要な Cl、K、Ca イオン電流を解析し、抗不整脈薬による修飾を検討した。

2. 児玉班員は、膜電位感受性色素で染色した灌流心の表面にレーザー光を照射し、色素の励起により生じた蛍光を集めて活動電位の光シグナルを光学的に測定するシステムを開発し、細動発生時の活動電位波形変化を観察した。更に、局所の再分極を多数点で同時計測する装置を開発し、心表面での再分極マッピングを行い、再分極過程と致死的不整脈発生時の心表面興奮伝播と消退過程との関係を検討した。

3. 橋本班員は、心筋細胞膜のイオンチャネルやポンプに影響する薬物あるいは心筋代謝を修飾する薬物の心室細動発生予防への有効性と限界を検討するため、イヌ及びラットの左冠動脈前下行枝を閉塞した後開放する心筋虚血/再灌流時の心室細動発生に対する  $\alpha$  受容体遮断薬他各種薬剤の有効性を検証した。

4. 小川班員は、不均一な交感神経除神経を背景として心室細動が発生すると推定されている慢性期（梗塞作成後 1 週間）心筋梗塞モデル犬で、星状神経節電気刺激（SS）とノルエピネフリン静注（NE）時の局所心筋不応期の変化から梗塞心筋局所の交感神経支配の異常を示し、心室細動発生との関連性を示すことを目的とした。梗塞部心表面に 47 極の電極板を装着し、早期刺激法により 18 頭で 8-43 点/犬（計 568 点）の不応期を計測した。対照群での SS 前後および NE 前後の不応期変化率から、各部位を交感神経支配正常領域、除神経領域（DN）、過剰反応領域（DNS）、 $\alpha$  受容体反応増大領域（ $\alpha$ ）に分類した。単一早期刺激による不応期測定中に細動誘発を観察し、SS あるいは NE 時に細動が誘発された 10 頭と誘発されなかった 8 頭に分けた（左室梗塞重量比：24.1%対 21.1%）。さらに心表面マッピングを施行し、QT 間隔の不均一性と心室細動発生との関連性を検討し、さらに心室細動発生に対する III 群抗不整脈薬の有効性を、 $\beta$  受容体刺激の有無で検討した。

5. 村川班員は、イヌの麻酔開胸モデルにおいて、本助成金で新たに開発した 384 チャンネルマッピングシステムを用いて致死的不整脈発生時の心筋内興奮伝播過程を三次元的に検討し、さらに新規 III 群抗不整脈薬投与による修飾について検討した。実験 1 では、非選択的 K チャンネル遮断薬セシウム 1mM/kg の反復静脈内投与により出現する頻拍のマッピングを施行。実験 2 では、d1-ソタロール（2mg/kg）投与下で高頻度電気刺激法により誘発される多形性心室頻拍停止時のマッピングを実施した。

6. 岡崎、岡本班員は共同で、コンピュータモデルを用いて種々の電気生理学的パラメー

タを変化させることで、細動をもたらす電気生理学的因子を解析するとともに、細動発生を抑止するための手段を解明する。従来の興奮膜モデルと比較して活動電位波形を損なうことなく興奮伝播特性のみを実測値に近づけるよう試みた。また、興奮伝播速度の興奮周期依存性を大きくするため、興奮膜の特性を空間的に不均一とし、特に不応期が場所によって変化するようなモデルの構築を試みた。こうした二次元領域でのモデルを用いて、辺縁より適当な間隔で刺激を加えて生体モデルと同様な興奮旋回の誘発の有無を検討した。

### III. 研究成果

1. 萩原班員は、ヒトの心筋細胞膜の伸展に伴って Cl 電流が活性化されることを確認し、この Cl 電流活性化が心不全や虚血時に認められる心筋細胞膜電位の脱分極や活動電位の短縮などを惹起し、致死的不整脈の発生に関与する可能性を考えた。

K 電流に関してはヒト心筋細胞に特異的な ultra rapid 型 K 電流 (IKur) が確認され、ヒト心筋細胞の再分極相に重要な役割を果たしていることが示唆された。

2. 児玉班員は、平成 7 年度の研究において小型青色発光ダイオードと光ファイバー束を用いた 1 チャンネル記録装置を開発し、直径 2mm の心表面のスポットから S/N の良好なシグナルを得ることに成功した。本装置を用いた実験では、心室の一部は強い電界 (15V/cm) を加えると通電後 1~3 分にわたって electroporation によると思われる活動電位波形変化が生じることが観察された。その後、プローブの小型化と多チャンネル化に取り組み、平成 8 年度には 4 チャンネル同時記録装置を完成させ、これにより局所の再分極を多数点同時測定するシステム (再分極マッピング) の検討中である。

3. 橋本班員は 3 年の研究期間中に、新規 K チャンネル遮断薬としてセマチリド、ドフェチライド、MS551 を、自律神経作動薬として  $\alpha 1$  交感神経遮断薬 (プラゾシン、KMD3213) を、さらに Na/H 交換遮断薬 (HOE321) の抗心室細動作用を検討した。虚血/再灌流不整脈に対しては K チャンネル遮断薬の有効性が確認されたが、薬物自体による催不整脈作用も観察された。 $\alpha 1$  交感神経遮断薬には有効性は認められなかった。一方、新規に開発された Na/H 交換遮断薬は循環動態や心電図指標に影響することなく細動の発生を抑制した。

4. 小川班員は、心筋梗塞犬モデルで交感神経刺激に伴う局所有効不応期とその不均一性の変化を検討し、心室細動発生への交感神経活性化の影響を明らかにした。心室細動が誘発される群とそうでない群での梗塞部心筋層の交感神経支配異常の分布様式に差を認め、DN、 $\alpha$  領域が誘発群で高頻度であった。刺激部位別に心室細動誘発率を検討すると、最も誘発率が高かったのは DN、 $\alpha$  領域と接する正常の交感神経支配を示す領域であった。また、心室細動誘発部位は大部分が梗塞辺縁部に局在した。以上より、交感神経支配の異常を伴う梗塞心では交感神経活性増大乃至残存心筋虚血時に、梗塞辺縁部より発生する心室期外収縮が心室細動発現への引金となる可能性が示唆された。

5. 村川班員は、K チャンネル遮断薬投与による活動電位延長時に発生する頻拍に関して、単形性頻拍の発生源は単一で、その局在は心筋全層に及び、一方、多形性頻拍の場合は頻拍起源が移動する場合と固定性起源からの興奮伝播が心拍毎に変動する場合があることを示した。

6. 岡崎班員は、コンピュータモデルでの心室細動発生時の興奮伝播過程を可視化し、興奮旋回が伝導遅延の存在下で不応期配列の不均等分布のある部位周辺から発生すること

を画像上確認した。

岡本班員の研究では、1) 各種ゲートの最大コンダクタンス、開閉速度定数等、多くのパラメーターを修正したが、活動電位波形を損なうことなく興奮伝播特性のみを改良することは出来なかった。2) BR モデルにおける  $I_{K1}$  を修飾して活動電位持続時間を空間分布させ、二次元の興奮伝播シミュレーションを行った結果、一様モデルに比べて興奮伝播速度が低下し、より周期の短い刺激にも応答できることが判った。3) 一辺 12.8cm の正方形領域を 256x256 個のセルに分割して興奮伝播基礎方程式を離散化し、隣接する 2 辺から適当な間隔で 3 回程度刺激することによって刺激後 6 秒間程度持続する興奮旋回が観察された。興奮は不応期を脱した領域に螺旋状に回り込み、複雑さを増しながら旋回を繰り返すこと、初期刺激の間隔を僅かに変えるだけで興奮旋回の時間発展が大きく変わることを観察された。

#### IV. 考察

心臓性急死の頻度が欧米並に急増している状況にあつて、その予防法および治療法の確立が社会的課題となっている。中でも虚血性心疾患に伴う致死的不整脈の予防は急務であるにも拘わらず、その病態把握を含めて、臨床研究による成果は必ずしも十分ではなかった。心臓性急死の主因である心室細動の発生機序を細胞電気生理学的レベルから生体位心臓レベルまでを包括して解明することを目的として、平成 6 年度車両財団助成金の交付を受けて研究班が組織された。以後 3 年間にわたり研究活動が継続され、各研究グループにおける研究成果が順調に集積されるに至った。その研究成果の中間報告を兼ね、平成 8 年 6 月 22 日には当研究班主催による「心室細動公開シンポジウム」が約 120 名の参加者を迎えて開催された（別刷り添付）。ここでは、心室細動発生を規定する電気現象が様々な角度から討議され、細動の病態の解明から治療への示唆が得られた。平成 8 年度助成金により、心室細動予防へ向けた研究が更に展開された。

突然死の主因である心室細動の発生には心筋虚血あるいは諸原因による交感神経活性の増大が深く関与していることが臨床的に明かにされている。近年、梗塞心における自律神経支配の異常が示され、特に、交感神経節後線維の不均一な除神経を背景として交感神経活性増大時に心筋の電氣的不安定性が増し、心室細動が発生するものと推定されてきた。しかしその基礎的メカニズムについては十分には知らされていない。そこで本研究班の主たる研究課題として、心筋梗塞において交感神経支配の異常を直接証明し、その異常がいかなる電気生理学的修飾をもたらして心室細動発生へ至るのかを、特に局所心筋不応期の延長あるいは不均一性に注目して検討を加えた（小川班員）。同じく生体位心を用いた興奮伝播マッピングにより細動がリエントリー性であるのかあるいは撃発活動などに起因するのかを検討した（村川班員）。これらから得られた知見は同時にコンピュータシミュレーションにより検証された（岡崎・岡本班員）。一方、さらにこうした電気生理学的変化が起こる背景は細胞レベル、膜レベルで検討された（児玉、萩原班員）。特に、児玉のレーザー光を用いて膜電位を光学的に測定するシステムはわが国初で、これまで困難であった細動発生時の活動電位波形変化を明かにし、膜レベルからの心室細動の発生機序の解明に大きな貢献がなされた。また、萩原のヒト心筋細胞を用いて実施された膜伸展刺激に伴う電流系の解析は国内外を通じて例がなく、心室細動を含めた不整脈の発生機序を検討するため

に有用であることが証明された。

以上のごとく、臨床例の細動発生とその停止を規定する種々の因子をまず動物生体心レベルで検討し、その妥当性がさらにコンピュータシミュレーションモデルで検証され、その細胞レベルでの変化へと研究が展開できた所に本研究班の独創的な構成が集約される。本研究班の成果により、突然死の主因である心室細動発生に至る機構の解明が大きく前進したといえよう。さらに、薬理学部門の橋本班員による研究は、解明されつつある細動発生機序を踏まえ、それに対する抑止効果のある様々な新しい薬理的知見を明らかにしてきた。これにより、近い将来の突然死発生予防への有効な対応策が解明されるものと期待される。

本研究班の3年間の成果によって心室細動に関する研究は大きく前進したと言えるが、突然死予防という最終目標を達成するためには今後更なる研究の継続が必要であることも事実である。

## V. 研究成果の発表

小川聡

- 1) 三田村秀雄、好本達司、高月誠司、小川聡：細動中の局所心筋 RR 間隔の自律神経刺激による修飾・心臓 29：705、1997
- 2) Okada Y, Ogawa S, Sadanaga T, Mitamura H: Assessment of reverse use-dependent blocking actions of class III antiarrhythmic drugs by 24-hour Holter electrocardiogram: rate dependence in QT prolongation by class III drugs. J Am Coll Cardiol 27: 84, 1996
- 3) Tsutsumi N, Mitamura H, Okada Y, Yoshimoto T, Sadanaga T, Furuno I, Ogawa S: Rate-dependent anisotropic conduction property in the epicardial border zone of canine myocardial infarcts and its modification by moricizine. Cardiovasc Drugs and Therapy 9: 715, 1995
- 4) Anzai T, Yoshikawa T, Asakura Y, Abe S, Akaishi M, Mitamura H, Randa S, Ogawa S: Preinfarction angina as a major predictor of left ventricular function and long-term prognosis after a first Q wave myocardial infarction. J Am Coll Cardiol (in press)
- 5) Yoshikawa T, Handa S, Akaishi M, Mitamura H, Ogawa S: Beta-1 selectivity is not essential to achieve therapeutic efficacy with betablockade. Gen Cardiol 86: 217, 1995

橋本敬太郎

- 1) Hashimoto K, et al: Effects of class III antiarrhythmic drugs on ventricular arrhythmias in dogs. Exp Clin Cardiol 2: 25, 1997
- 2) Arita J, et al: Antiarrhythmic effects of an aconitine-like compound, TJN-505, on canine arrhythmia models. Europ J Pharmacol 318: 333, 1996
- 3) Xue YX, Aye NN, Hashimoto K: Antiarrhythmic effects of HOE642, a novel Na-H exchange inhibitor, on ventricular arrhythmias in animal hearts. Europ J

Pharmacol 317: 309, 1996

- 4) Hashimoto K: Effects of new class III antiarrhythmic drugs MS-551 and d-sotalol on canine coronary ligation-reperfusion ventricular arrhythmias. Jap J Pharmacol 68: 1, 1995

児玉逸雄

- 1) Sakuma I, et al: A model analysis of aftereffects of high-intensity DC stimulation on action potential of ventricular muscle. IEEE tranS BME 45: 1997 (in press)
- 2) 児玉逸雄、他：除細動通電時の活動電位波形変化—膜電位感受性色素を用いた光学計測実験。心臓 29: 685、1997
- 3) Kodama I, Suzuki R, Maruyama K, Toyama J: Electrophysiological effects of SD-3212, a new antiarrhythmic agent with vasodilator action, on guinea-pig ventricular cells. Br J Pharmacol 114: 19, 1995
- 4) Boyett MR, Kodama I, Honjo H, Arai A, Suzuki R, Toyama J: Ionic basis of the chronotropic effect of acetylcholine on the rabbit sinoatrial node. Cardiovasc Res 29: 867, 1995
- 5) Kodama I, Shibata N, Sakuma I, Mitsui K, Iida M, Suzuki R, Fukui Y, Hosoda S, Toyama J: Aftereffects of high-intensity DC stimulation on the electromechanical performance of ventricular muscle. Am J Physiol 267: H248, 1994
- 6) Taniguchi A, Toyama J, Kodama I, Anno T, Shirakawa M, Usui S: Inhomogeneity of cellular activation time and Vmax in normal myocardial tissue under electrical field stimulation. Am J Physiol 267: H694, 1994
- 7) Toyama J, Sugiura H, Kamiya K, Kodama I, Terasawa M, Hidaka H:  $Ca^{2+}$ -calmodulin mediated modulation of the electrical coupling of ventricular myocytes isolated from guinea pig heart. J Mol Cell Cardiol 26: 1007, 1994

萩原誠久

- 1) 萩原誠久、他：ヒト心筋細胞におけるKチャンネルの分布。心臓 29: 677 1997
- 2) Kajimoto K, Hagiwara N, Kasanuki H, Hosoda H: Contribution of phosphodiesterase isozymes to the regulation of the L-type calcium current in human cardiac myocytes. Brit J Pharmacol 121: 1549, 1997
- 3) Matsuda N, Hagiwara N, et al: Enhancement of the L-type calcium current by mechanical stimulation in single rabbit cardiac myocytes. Circ Res 78: 650, 1996
- 4) Hagiwara N, Masuda H, Sakai H, Kasanuki H, Hosoda S: Volume-regulated cardiac ion channels. "Molecular physiology and pharmacology of cardiac ion channels and transporters", ed by Morad M, Kluwer Academic Publishers, 1995
- 5) Sakai H, Hagiwara N, Kasanuki H, Hosoda S: Chloride conductance in human atrial cells. J Mol Cell Cardiol (in press), 1995



村川裕二

- 1) Murakawa Y, et al: Three-dimensional activation sequence of cecium-induced ventricular arrhythmias. Am J Physiol 273: H1377, 1997
- 2) 瀬崎和典、村川裕二、他： III 群抗不整脈薬と高頻度心房刺激による心室細動の自然停止の誘導とその機序。心臓ペースング 13: 193、1997
- 3) Murakawa Y, Inoue H, Kuo T, Sezaki K, Nakajima T, Usui M, Yamashita M, Ajiki K, Oikawa N, Iwasawa K, Sugimoto K and Omata M: Prolongation of intraventricular conduction associated with fatal impairment of defibrillation efficiency during treatment with class I antiarrhythmic agents. J Cardiovasc Pharmacol 25: 194, 1995
- 4) Murakawa Y, Sezaki K, Inoue H, Usui M, Yamashita M, Ajiki K, Oikawa N, Iwasawa K and Omata M: Shock-induced refractory period extension and pharmacological modulation of the defibrillation threshold. J Cardiovasc Pharmacol 23: 822, 1994

岡崎修・岡本良夫

- 1) 岡本良夫：心電現象におけるコンピュータシミュレーション。心電図 19 巻 1997 年掲載予定
- 2) 岡崎修、他：心室細動発生時の体表面電位図—異方向伝導コンピュータモデルでの検討。心臓 29: 724、1997
- 3) Okazaki O: Ventricular fibrillation induced by extra-stimuli on a three-dimensional computer cardiac model. J Electrocardiol 25 (Suppl): 112, 1993
- 4) Homma S, Musha T, Nakajima Y, Okamoto Y, et al: Conductivity ratios of the scalp-skull-brain head model in estimating equivalent dipole sources in human brain. Neuroscience Research 22: 51, 1995
- 5) Homma S, Musha T, Nakajima Y, Okamoto Y, et al: Location of electric current sources in the human brain estimated by the dipole tracing method of the scalp-skull-brain (SSB) head model. Electroencephalography & Clinical Neurophysiology 91: 374, 1994