

心室細動ストームの成立機序：PDK4 過剰発現の役割と治療標的としての可能性

辻 幸臣

国立大学法人 東海国立大学機構
名古屋大学大学院医学系研究科 循環器先端医療研究学寄附講座

【研究の背景】

心室細動(VF)の発生机序として、マザーローター説「細動様伝導を伴う単一旋回興奮波(ローター)によって維持される」¹⁾が提唱されているが、VF 駆動ローターの詳細、その好発部位・形成機序・動態などはよくわかっていない。我々は、VF ストーム家兎モデルを用いた予備実験にて、VF 発生時に心室中隔で持続するローターを捉えている(未発表)。ローターは、さまよい運動特性を有し、通常、短命で持続しない。房室弁輪部など解剖学的構造物への侵入、ローターの相互作用・干渉などにより、消滅または分裂する。VF が発生・成立するためには、ローターの安定化・定在化を促す電気生理学的・構造的基質の存在が必須であると考えられているが、その詳細について十分には解明されていない。

【目 的】

VF ストーム家兎モデルを用いて、心室筋組織の蛋白発現の変化を包括的に検討することで、心筋リモデリングの分子生物学的基盤の特徴を明らかにし、催心室細動分子・シグナル経路プロファイルと呼べる性質が備わっているのかを評価する。

【方 法】

VF ストーム家兎モデルの左右心室筋、心室中隔心筋から精製・濃縮・ラベル化されたペプチドを、液体クロマトグラフ質量分析計で解析(LC-MS/MS)し、アミノ酸配列を決定、データベースに基づき、蛋白を同定・定量した。コントロールとして3羽の健常家兎を用いた。プロテオーム解析から得られたデータセットを用いて、キアゲン社製統合パスウェイ解析(IPA: Ingenuity Pathway Analysis)による統合解析を行い、発現変化に関わる主要シグナル経路を探索した。

VF ストーム家兎モデルは、研究代表者が作出した VF の実験モデル動物で、完全房室ブロック作成と植込み型除細動器(ICD)埋込を組み合わせ作成される(図1)²⁾。著明なQT延長を示し、トルサドポアンツ(TdP)型心室頻拍(VT)・VF エピソードが発生する。また、慢性徐脈に伴う容量負荷によって両心室

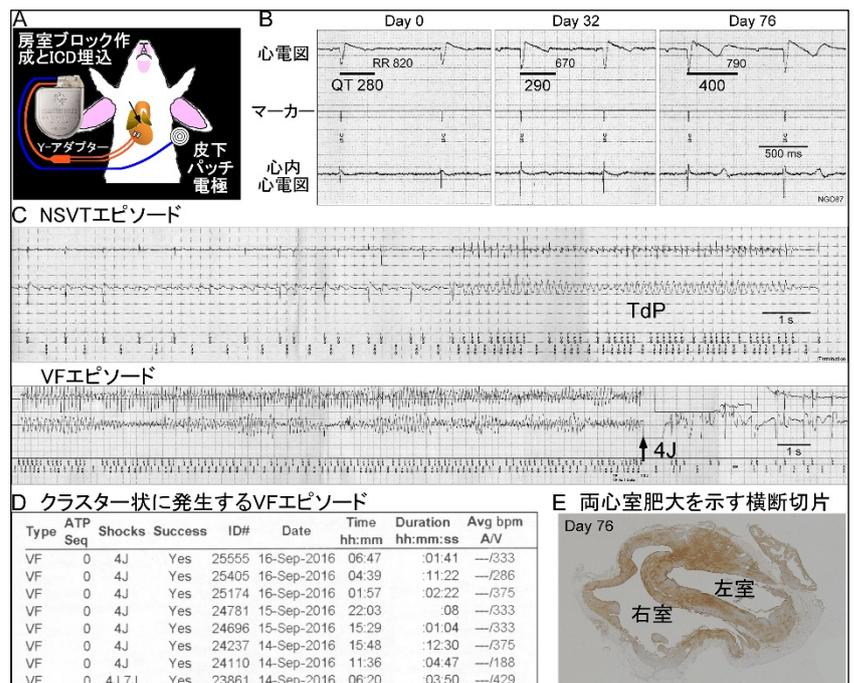


図1 VF ストーム家兎モデル

肥大が形成される。VF ストームは 24 時間以内に 3 回以上の VF エピソードが発生する状態と定義された。

【結 果】

VF ストーム家兎 3 羽は各々、88、94、70 日間の経過観察中、139、19、86 回のVFエピソードを経験した。1,938 個の蛋白が同定され、106 個の蛋白の発現量に有意差があった。63 個の蛋白が有意に発現低下し、その内、42 個がミトコンドリア蛋白であった。Gene Ontology term エンリッチメント解析の結果、ミトコンドリアに関連した terms が圧倒的有意差をもってアノテーションされた。一方、43 個の蛋白発現が有意に増加し、その内 8 個が、サルコメアを構成する巨大蛋白タイチンに結合する蛋白であった。IPA 解析の結果(図 2)、顕著な有意差をもって、「①ミトコンドリア機能異常」が推測された。次いで、「②TCA サイクルと呼吸電子伝達系、③ATP 生成」に加え、「⑤ケトン体分解、⑥酸化的リン酸化、⑨脂肪酸β酸化、⑫蛋白のミトコンドリア輸送」等、ミトコンドリア関連経路の多くが不活性化されていた。

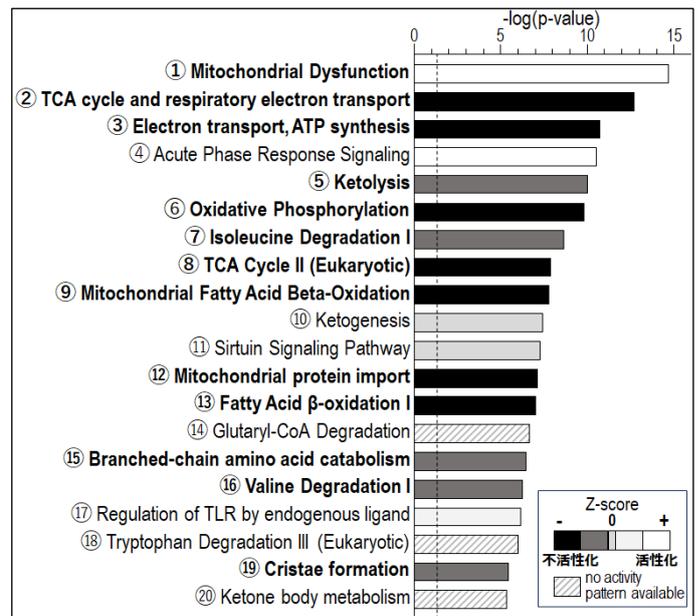


図2 IPA の主要シグナル経路トップ 20 (太字: 不活性化を示したミトコンドリア関連経路)

【考 察】

VT・VF の発生機序として、ローターが重要な役割を果たすと考えられている。光学マッピング法を用いて、当該 VF 家兎モデルの興奮伝播過程の解析を行ったところ、TdP 型 VT と VF は共に、ローターによって維持されること、一方で、ローターの動態には明確な差異があることが判明している(未発表)。VF 駆動ローターの巡回周波数は、TdP 型 VT 駆動ローターより高い(~9 vs. ~6Hz)。高周波数ローターは通常、心室筋細胞の活動電位持続時間または心筋の不応期が短縮していなければ、形成されにくい。その例として、心筋虚血が挙げられる。細胞内 ATP 濃度の減少により開口する ATP 感受性 K⁺チャンネル(I_{K-ATP})が活性化されることで、活動電位持続時間は短縮するので、高周波数ローターが成立・安定化しやすくなる。最近、虚血性・非虚血性心筋症を有する ICD 患者を対象に、³¹P-MR スペクトロメトリーを用いて心筋 ATP 含有量の定量解析が行われた。VT・VF エピソードを有した患者では、無かった患者に比し、心筋 ATP 含有量が低下していることが報告された³⁾。今回我々が得た結果(図2)は、これらの所見に矛盾せず、VF ストームへの進展にミトコンドリア障害に伴う ATP 減少が重要な役割を果たしていると考えられる。

心臓突然死するモルモット心不全モデルを用いた実験研究にて、ミトコンドリア標的抗酸化薬 mitoTEMPO が、プロテオームリモデリングを抑制、心臓突然死を予防することが報告されている⁴⁾。同論文で示されたプロテオームの IPA 解析では、我々が得た結果(図2)ほど、ミトコンドリア関連経路の関与は多くない。この相違点から、VF ストーム家兎モデルの心筋リモデリングは、従来型の心肥大・心不全に伴う心筋リモデリングとは異なると考えられる。反復発生するVFに対する頻回のICDショック通電によってミトコンドリア障害が引き起こされる可能性が示唆される。今後、mitoTEMPO やミトコンドリア内膜リン脂質カルジオリピン安定化薬 elamipretide が、VF ストーム家兎モデルにどのような影響を及ぼすのかについて、生体位心・摘出灌流心・単離心室筋細胞を用いて検討し、ミトコンドリアを標的とする治療戦略が、VF 予防・治療に有用であるか判定してゆく。

VF ストーム家兎モデルの心筋組織で遺伝子チップ解析を行ったところ、TCA サイクルの主要酵素ピルビン酸脱水素酵素(pyruvate dehydrogenase, PDH)を抑制するリン酸化酵素・ピルビン酸デヒドロゲナーゼキナーゼ 4 (PDK4) の遺伝子発現が、健常家兎に比し約 10 倍増加していた。PDK の発現亢進は、ミトコンドリア機能障害と深く関連することが、これまでに、糖尿病、癌、非アルコール性脂肪肝、癌関連悪液質、敗血症など様々な病態で示されている⁵⁾。本研究の実験結果も、同様な関連性を示した。PDK4 の発現亢進は、ミトコンドリア機能低下に伴う副次的反応であることが示唆される。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

VF ストーム家兎モデルは、極めて重篤な不整脈状態を呈する慢性実験モデルで、類似のモデル動物(ICD が埋め込まれ電氣的ストームが再現されたモデル動物)は、国内外を問わず存在しない。これを用いて実施した本研究の結果は、従来のモデル動物からでは決して得られない基礎的知見であり、VF の発生機序を解明、新たな治療法・予防法を構築するのに有用な情報となると思われる。

【参考・引用文献】

1. Samie FH, Mandapati R, Gray RA, Watanabe Y, Zuur C, Beaumont J, Jalife J. A mechanism of transition from ventricular fibrillation to tachycardia : effect of calcium channel blockade on the dynamics of rotating waves. *Circ Res.* 2000;86:684-691. doi: 10.1161/01.res.86.6.684
2. Tsuji Y, Hojo M, Voigt N, El-Armouche A, Inden Y, Murohara T, Dobrev D, Nattel S, Kodama I, Kamiya K. Ca²⁺-related signaling and protein phosphorylation abnormalities play central roles in a new experimental model of electrical storm. *Circulation.* 2011;123:2192-2203. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.016683
3. Samuel TJ, Lai S, Schar M, Wu KC, Steinberg AM, Wei AC, Anderson ME, Tomaselli GF, Gerstenblith G, Bottomley PA, et al. Myocardial ATP depletion detected noninvasively predicts sudden cardiac death risk in patients with heart failure. *JCI Insight.* 2022;7:e15755. doi: 10.1172/jci.insight.157557
4. Dey S, DeMazumder D, Sidor A, Foster DB, O'Rourke B. Mitochondrial ROS Drive Sudden Cardiac Death and Chronic Proteome Remodeling in Heart Failure. *Circ Res.* 2018;123:356-371. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.312708
5. Jeon JH, Thoudam T, Choi EJ, Kim MJ, Harris RA, Lee IK. Loss of metabolic flexibility as a result of overexpression of pyruvate dehydrogenase kinases in muscle, liver and the immune system: Therapeutic targets in metabolic diseases. *J Diabetes Investig.* 2021;12:21-31. doi: 10.1111/jdi.13345