

光遺伝学を用いた効果的な心房細動光除細法の開発

中尾元基

北海道大学大学院 医学研究院 循環病態内科

【研究の背景】

光遺伝学は光駆動型チャネルを細胞膜に発現させ、光を用いて細胞の膜電位を操作する新しい技術である。最も代表的な光駆動型チャネルであるチャンネルロドプシン 2 (ChR2) は波長 470nm の青色光照射により開口し、濃度勾配に従って陽イオンが通過する。ChR2 を心筋細胞に発現させることで、光刺激による心筋ペーシングが可能であることが知られている。また、心房細動などのリエントリー性不整脈中に光刺激を与えることで、不整脈を停止させる「光除細動」も報告され、臨床応用が期待されている。心房細動を効率的に光除細動するためには、広範囲の心房を光照射する必要があるが、ヒト心筋の場合、解剖学的に困難である。ChR2 を通過する電流量が電位依存性であるという特性に着目し、光を照射する時相を工夫することで光除細動効率を高められると考えた。本研究では不整脈の活動電位時相別に施される光刺激による光除細動の除細動効率について解明する。

【目 的】

本研究の目的は「活動電位再分極の時相で与えられる光刺激は活動電位持続時間 (APD) を強く延長し、光除細動効率を高められる」という仮説の検証である。

【方 法】

本研究では、ChR2 を心房筋に発現させたトランスジェニックマウスの心臓で光学マッピング法を用い、活動電位の各時相での光刺激が活動電位に与える影響を明らかにする。また、誘発した心房細動に対する光除細動効果を明らかにする。具体的には、①活動電位の各時相における光刺激による活動電位持続時間の延長効果を、ランゲンドルフ還流心およびプログラム電気/光刺激を用いて検証する。ChR2 開口により多くの陽イオンが流入するであろう、再分極相での光刺激で最も APD が延長すると予想される。光除細動の主要なメカニズムは APD 延長による電氣的不応期 (ERP) 延長であるため②活動電位の各時相における光刺激による ERP の延長効果をプログラム電気/光刺激を用いて検証する。APD と同様に、再分極相での光刺激で最も ERP が延長すると予想される。また、③誘発された心房細動に対する光除細動効果を各照射時相で検証する。

【結 果】

①活動電位の各時相における光刺激による活動電位持続時間の延長効果: ChR2 発現マウスおよび ChR2 非発現マウスにおいて、電氣的に誘発された各活動電位時相で、パルス幅を 10 msec、光強度を 6 mW/mm²、照射範囲を 25 mm² のパルス光刺激を行い、活動電位波形を観察した。ChR2 発現マウスに於いて、絶対不応期の時相を含むすべての光照射時相に於いて、パルス光刺激により活動電位が延長した。その一方で ChR2 非発現マウスではパルス光刺激による活動電位修飾効果は認めず、非パルス光刺激時と同様の波形であった。APD80 の延長効果は活動電位再分極相でパルス光刺激を受けた場合に著明な延長効果を認めた。②活動電位の各時相における光刺激による ERP の延長効果: 活動電位に対する照射

時相ごとのERPの延長効果を比較検証した。ChR2発現マウスにおいて、すべての活動電位時相でパルス光刺激によりERPは延長した。特に活動電位再分極相でパルス光刺激を受けた場合に著明な延長効果を認めた。一方で、ChR2非発現マウスではすべての照射時相においてパルス光刺激によるERPの延長効果を認めなかった。③各照射時相における誘発された心房細動に対する光除細動効果の検証:短時間パルス光刺激による光除細動時の活動電位を、光学マッピング法を用いて観察した。活動電位再分極の時相において光量 6 mW/mm²の青色光を照射することで光除細動が得られた。短時間パルス光刺激により活動電位持続時間が延長した後に除細動が得られた。

【考 察】

本研究では特に活動電位再分極相における短時間パルス光刺激が活動電位持続時間および有効不応期を著明に延長した。また、光除細動は活動電位持続時間の延長を伴って停止していることが確認された。光遺伝学を用いたリエントリー性不整脈の停止機序は十分に明らかになっていない。培養心筋で証明された伝導ブロック仮説が有力である。伝導ブロック説において、伝導ブロックは光刺激により電位依存性 Na⁺チャンネルが抑制される事で生じるため、伝導ブロックは光刺激中のみ生じると考えられている。よって光除細動の成功には、伝導ブロックを不整脈波面の前面に形成する必要がある。このため、パルス光刺激により光除細動が得られる不整脈は限定的であると考えられる。本研究で示された光刺激による有効不応期の延長は、光刺激による除細動効率を上昇させる追加の機序と考えられる。本研究では光を照射時相ごとの光除細動効率の検証が不十分である。これは心房性頻脈の誘発に活動電位持続時間を短縮する薬剤を用いたため、光照射時間に対して活動電位持続時間が短く活動電位の観察が困難であることに起因する。今後、伝導遅延を不整脈発症機序とするモデルでの検証を行う。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

光除細動は無痛性の除細動法としてヒトへの臨床応用が期待されており、これまでに、マウスへの植込み型光除細動デバイスの開発が報告されている。しかしながら、ヒト心房はマウス心房よりも容量が大きく、伝導ブロック仮説では十分な光除細動効果が得られないことが想定される。本研究成果はヒトへの臨床応用において限られた照射範囲の中で高い除細動効果を得る光照射方法を提案する可能性がある。

【参考・引用文献】

- Bruegmann T, Boyle PM, Vogt CC, et al. Optogenetic defibrillation terminates ventricular arrhythmia in mouse hearts and human simulations. J Clin Invest. 2016;126:3894-3904.
- Nyns ECA, Poelma RH, Volkens L, et al. An automated hybrid bioelectronic system for autogenous restoration of sinus rhythm in atrial fibrillation. Sci Transl Med. 2019;11.
- Nakao M, Watanabe M, Miquerol L, et al. Optogenetic termination of atrial tachyarrhythmias by brief pulsed light stimulation. J Mol Cell Cardiol. 2023;178:9-21.