

氏 名 つぶらや りゅうじ
圓谷 隆治

学位の種類 博士（医学）

学位授与年月日 平成 22 年 3 月 25 日

学位授与の条件 学位規則第 4 条第 1 項

研究科専攻 東北大学大学院医学系研究科（博士課程）医科学 専攻

学位論文題目 Long-Term Treatment with Eicosapentaenoic Acid Suppresses

Ischemia-Induced Ventricular Fibrillation in Pigs in Vivo. -Possible

Involvement of ATP-Sensitive Potassium Channel Inhibition- (エイコサペ

ンタエン酸によるブタ虚血性心室細動抑制効果の分子機序解明：ATP 感受性

カリウムチャネルの役割)

論文審査委員 主査 教授 下川 宏明

教授 田林 暁一

教授 加藤 正人

論文内容要旨

背景：急性心筋梗塞に対する治療、管理は近年発展してきたが、心室性不整脈による院外心停止（突然死）は、依然として多い。我が国における院外心停止の発生件数は年間 2 - 3 万件におよび、その治療、予防は重要な課題である。これまで複数の疫学・臨床試験において、魚（魚油）に多く含まれる N-3 系多価不飽和脂肪酸が、致命的虚血性心疾患、特に突然死を有意に抑制させることが報告されている。しかしながら、その分子機序についてはこれまでに十分な検討はなされていない。本研究の目的は、ブタ急性心筋梗塞モデルを用いて In vivo から In vitro まで多面的な検討を行い、N-3 系多価不飽和脂肪酸の主成分であるエイコサペンタエン酸（EPA）の虚血性突然死予防効果の分子機序について明らかにすることである。

方法・結果：ブタ（雄、2-3 ヶ月、体重 25-30kg）を、通常食のみの対照群と、通常食に加えて EPA を経口投与（600 mg/kg/日）する EPA 投与群の 2 群にわけ、21 日間飼育した。22 日目バルーンカテーテルを用いて左回旋枝近位部を閉塞しブタ急性心筋梗塞モデルを作成した（各群 n=8）。この時点での EPA 投与群の赤血球膜 EPA 分画は $4.4 \pm 0.3 \text{ mol\%} [\text{mean} \pm \text{SE}]$ であり、過去のヒト研究（2400mg/日投与）において報告されている臨床的濃度（ $5.8 \pm 1.2 \text{ mol\%}$ ）と同等であった。EPA 投与群では、虚血による心室細動の発生が有意に抑制され（頻度：対照群 5.1 ± 1.7 回 vs. EPA 群 1.5 ± 0.8 回, $P < 0.05$ ）、虚血性突然死を有意に回避しえた（致死率：対照群 50% vs. EPA 群 0%, $P < 0.05$ ）。虚血による心室筋の電気生理学的変化について検討するために、単相性活動電位（monophasic action

potential: MAP) を測定した。対照群では虚血により MAP は短縮するが、EPA 群ではその短縮が有意に抑制された (MAP 変化率: 対照群 $-28.1 \pm 3.0\%$ vs. EPA 群 $-18.2 \pm 1.4\%$, $P < 0.05$)。虚血による活動電位の短縮には ATP 感受性カリウムチャネル (K_{ATP}) が関与することが知られている。 K_{ATP} 開口薬である Cromakalim の事前投与 ($0.3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ 、冠動脈内注入) を行ったところ (各群 $n=8$)、EPA の抗不整脈効果、MAP 短縮抑制効果が相殺された (平均頻度: 6.0 ± 1.8 回, MAP 短縮率 $-32.0 \pm 4.0\%$, $P < 0.05$)。心室筋の K_{ATP} の mRNA 発現について定量的 RT-PCR で検討したところ、EPA 群では心筋膜 K_{ATP} の主要成分である Kir6.2 の発現が有意に抑制されていた (GAPDH との比: 対照群 0.82 ± 0.06 、EPA 群 0.39 ± 0.05 , $P < 0.01$)。Western Blot による蛋白発現量評価でも同様に、EPA 群において Kir6.2 の発現が有意に抑制されていた (GAPDH との比: 対照群 0.26 ± 0.05 、EPA 群 0.08 ± 0.03 , $P < 0.05$)

結論: 本研究により、長期 EPA 投与は、虚血心筋の電的不安定性を改善させ、致死性不整脈を抑制することが明らかになった。Kir6.2 の発現抑制を介して心筋膜 K_{ATP} 活性を修飾している可能性が示唆された。

審査結果の要旨

博士論文題名： Long-Term Treatment with Eicosapentaenoic Acid Suppresses Ischemia-Induced Ventricular Fibrillation in Pigs in Vivo - Possible Involvement of ATP-Sensitive Potassium Channel Inhibition - (エイコサペンタエン酸によるブタ虚血性心室細動抑制効果の分子機序解明：ATP感受性カリウムチャネルの役割)

所属専攻・分野名 循環器内科 専攻 循環器病態学 分野

氏名 円谷 隆治

近年急性心筋梗塞に対する治療、管理法は発展してきたが、合併する心室性不整脈による院外心停止（突然死）は依然として多い。我が国における院外心停止の発生件数は年間2～3万件におよび、その治療、予防は重要な課題である。これまで複数の疫学・臨床試験において、魚（魚油）に多く含まれるN-3系多価不飽和脂肪酸（N-3 PUFA）が、心血管イベント、特に心臓性突然死を有意に抑制させることが報告されている。しかしながら、その分子機序についてはこれまでに十分な検討はなされていなかった。

そのため本研究では、N-3 PUFAの主成分であるエイコサペンタエン酸（EPA）の虚血性突然死予防効果について、ブタ急性心筋梗塞モデルを用いて *in vivo* での検討から分子機構の解明まで多面的に検討を行った。ブタを対照群（通常食）と EPA 投与群（600 mg/kg/日経口投与）の2群に分け、21日間飼育し、22日目にバルーンカテーテルを用いて左冠動脈回旋枝領域の急性心筋梗塞モデルを作成した。予備的検討により、本研究における組織中の EPA 濃度は、ヒトで長期に臨床用量の EPA を摂取した時の濃度と同等であることを確認している。EPA 投与群では、対照群に比して虚血性心室細動および突然死を有意に抑制した。心室局所の電気的活動の指標である単相性活動電位（monophasic action potential: MAP）を左室内で測定して電気生理学的検討を行なったところ、EPA 投与群は対照群に比して虚血時の MAP の短縮が有意に抑制されていた。虚血中の MAP 短縮には ATP 感受性カリウムチャネル（ K_{ATP} ）が関与することが知られている。 K_{ATP} 開口薬である Cromakalim により EPA の効果が消失したことから、EPA の MAP 短縮抑制および抗不整脈効果が同チャネルを介する事が示唆された。さらに、RT-PCR、Western blot 法などの分子生物学的手法を用いて、EPA が心筋膜 K_{ATP} の主要成分である Kir6.2 の発現を抑制することを明らかにした。

これらの結果より、長期 EPA 投与が Kir6.2 の発現抑制を介して心筋膜 K_{ATP} 活性を抑制し、虚血心筋の電気的不安定性および致死性不整脈の発生を抑制することが示された。本研究は、魚油および N-3 PUFA の突然死予防効果の機序を明らかにした臨床的意義の高い研究であると考えられる。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。