

2011. 7. 5

No.3

## 注目される「プルキンエ不整脈」のイオン機序に迫る

古川 哲史＝東京医科歯科大学

第3回は、再び基礎に戻って、プルキンエ不整脈に関する論文を紹介しましょう。

### 【論文】

プルキンエ細胞の電気生理とCa<sup>2+</sup>サイクリングのモデル: 頻度依存性、トリガード・アクティビティおよび心室筋との比較

A model of canine Purkinje cell electrophysiology and Ca<sup>2+</sup> cycling: Rate dependence, triggered activity, and comparison to ventricular myocytes. (Li P, et al. *Circ Res.* 2011;109:71-9.)

### はじめに

プルキンエ細胞は、特発性心室頻拍(VT)/心室細動(VF)や心筋梗塞急性期のVTストームなどに関与することが明らかとなり、「プルキンエ不整脈」(野上昭彦・小林義典著)なる本が出版されるなど、最近の注目株です。

本論文は、プルキンエ細胞の不整脈源性のメカニズムを、コンピューターモデルを用いて検討したものです。論文の内容ははっきり言って難しいです。でも、プルキンエ細胞の不整脈源性を理解するためには是非とも理解しておきたい論文なので、「そこに山があるから登る(そこに論文があるから読む)」の精神で取り上げることにしました。

### プルキンエ細胞のコンピューターモデル: プルキンエ細胞と心室筋の違い

コンピューターモデルの論文は、多くの場合2部構成になっています。第1部はモデル構築とその検証、第2部はそれを使った実験(ウェット実験でなくドライ実験)です。第1部はコンピューターモデル屋さんにとっては生命線ですが、それ以外の人にはとつきにくいものとなっています。できたら避けて通りたいところですが、そうもいかないのです、思い切り簡略化して(ご批判は覚悟しています)説明します。

## 【1】イオン電流

心室筋(論文では心外膜の心室筋を用いていることに注意が必要です)と比較して、プルキンエ細胞モデルに組み入れた特徴について、本論文の理解に必要なものをピックアップしました。

- (1) Na<sup>+</sup>電流の遅延電流(late current、論文では $I_{NaL}$ と表記)が存在すること
- (2) 内向き整流K<sup>+</sup>電流( $I_{K1}$ )が小さいこと
- (3) T型Ca<sup>2+</sup>電流( $I_{CaT}$ )と過分極活性化陽イオン電流( $I_f$ )を持つこと

これらの特徴の生理的意義を考えてみます(筆者の憶測も含みます)。

(1)は、プルキンエ細胞には生理的状态でLQT3に見られるlate currentが存在することになり、活動電位持続時間(APD)が長くなっています(追加解説1)。これは、プルキンエ細胞で不応期が長いことを意味しており、一旦心室筋に伝導した興奮が逆戻りしない安全弁となっているのではないのでしょうか。これがないと、プルキンエ細胞・心室筋間で日常的にリエントリーが成立(everyday VT storm?)してしまうのかもしれません。

(2)と(3)は、プルキンエ細胞が刺激伝導系で、自動能を持つことを反映しているからではないでしょうか。上位刺激伝導系の自動能が低下したとき、心室補充収縮・調律で補うためのセーフティネットとなっています。アンダーセン症候群(LQT7)で見られる2方向性心室頻拍(bi-directional VT)は、(3)の $I_{K1}$ が小さいことと関係するのかもしれません(追加解説2)。

## 【2】細胞内Ca<sup>2+</sup>動態(図1、2参照)

イオン電流以上にプルキンエ細胞と心室筋の違いが顕著なのが、細胞内のCa<sup>2+</sup>動態です。

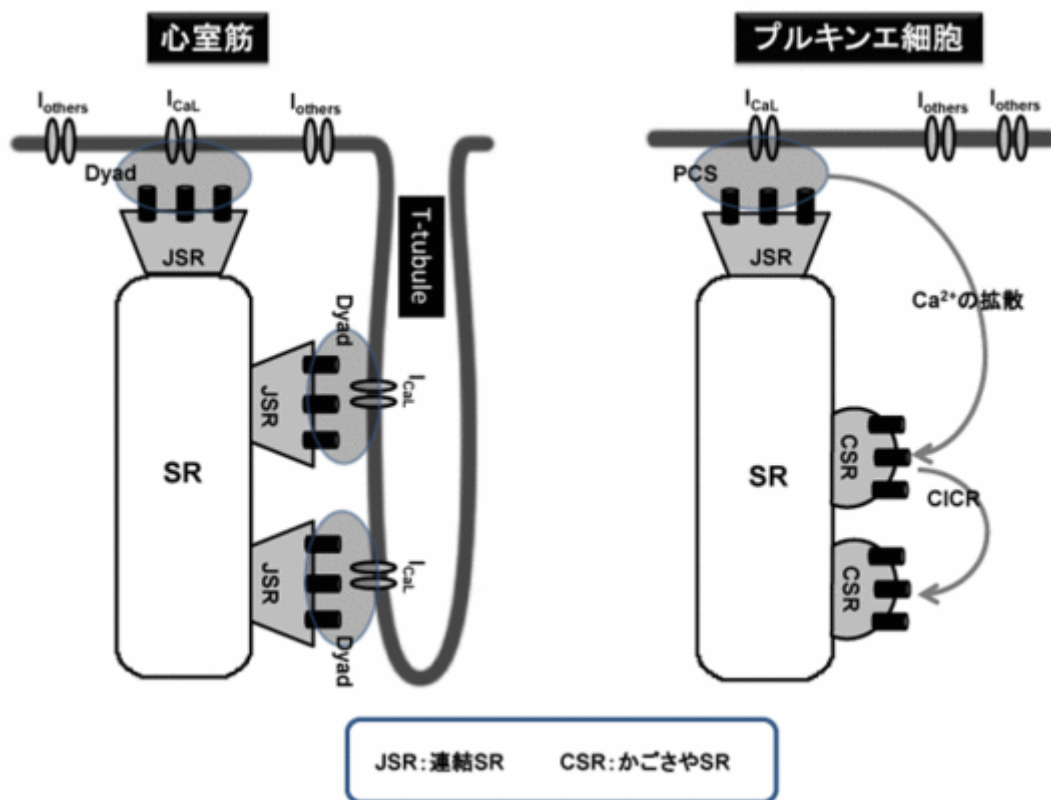


図1 心室筋とプルキンエ細胞の細胞微細構築の違い 心室筋には横行小管(T管)があり、Dyadが形成される。プルキンエ細胞ではT管はなく、細胞膜とSRのカップリングは細胞表面のみ。(図はクリックで拡大、図1～5は本論文から改変引用)

心室筋(図1左)では横行小管(T管)が発達しており、筋小胞体(SR)と細胞膜・T管膜が近接し、Dyadと呼ばれる構造をとります。Dyadでは、細胞膜・T管膜のL型Ca<sup>2+</sup>チャンネル(I<sub>CaL</sub>)とSR膜のリアノジン受容体(RyR)が近接しています。

これにより、I<sub>CaL</sub>を介したCa<sup>2+</sup>流入がRyRを介したSRのCa<sup>2+</sup>放出を引き起こす、興奮・収縮連関(EC coupling、[追加解説3](#))が効率的に行われるのです。ちなみに、同部位のSRのことを「連結筋小胞体(junctional SR[JSR])」と呼びます。

これに対して、プルキンエ細胞(図1右)にはT管がなく、連結SRは細胞膜表面直下にはしかありません。細胞深部ではSRから細胞質に籠状に飛び出し、RyRが局在する「かごさや筋小胞体(corbular SR[CSR])」が存在します。プルキンエ細胞では、SRからのCa<sup>2+</sup>放出は細胞表面直下の連結SRから始まります。これにより放出されたCa<sup>2+</sup>が拡散し、かごさやSRからCa<sup>2+</sup>放出を遅れて発生させます。

放出されたCa<sup>2+</sup>による一過性のCa<sup>2+</sup>濃度上昇のことを、Ca<sup>2+</sup>トランジエント(CaT)と呼びます。上記の条件をコンピューターモデルに取り入れて心室筋とプルキンエ細胞のCa<sup>2+</sup>トランジエントを

構築したのが、図2下です。

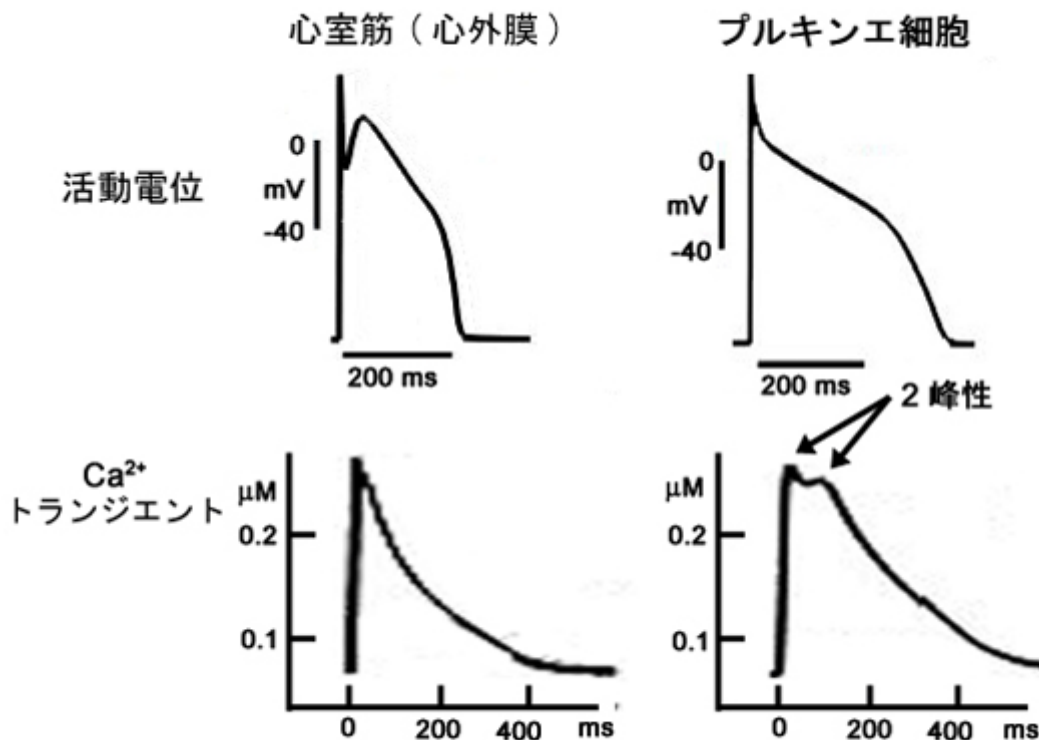


図2 コンピューターモデルによる心室筋とプルキンエ細胞の活動電位(上)およびCa<sup>2+</sup>トランジエント(下)

心室筋のCa<sup>2+</sup>トランジエントは1峰性ですが(図2左)、プルキンエ細胞のCa<sup>2+</sup>トランジエント(CaT)は特徴的な2峰性となります(図2右)。これは、従来のウェット実験結果と一致しています。

ここまでがモデル構築に関して(第1部)でした。「もう十分頭がパニック」という方もいらっしゃると思います。でも、次からはいよいよ臨床との関連事項(第2部)に入るので、グッと理解しやすくなると思います。

**日経BP社**

© 2006-2011 Nikkei Business Publications, Inc. All Rights Reserved.

2011. 7. 5

No.3

注目される「プルキンエ不整脈」のイオン機序に迫る

古川 哲史＝東京医科歯科大学

## プルキンエ細胞モデルを用いたドライ実験

### 【1】APD restitution・期外収縮による不整脈誘発メカニズム？

興奮間隔が突然変化すると、APD(心電図ではQT間隔に相当)も突然変化します。これをAPD restitutionと呼びます。興奮間隔が短縮すると活動電位持続時間(QT間隔)も短縮し、刺激間隔が延長するとAPD(QT間隔)も延長するのです。

そこで、コンピューターモデルで刺激間隔を種々に変化させAPD restitutionを観察し、このとき1つひとつの電流系をモデルから削除することにより、どの電流系がAPD restitutionに関与しているのか検討しています。

心室筋では、このAPD restitutionを担う主な電流は、一過性外向き電流( $I_{to}$ )でした。期外収縮が起こると、 $I_{to}$ の発現密度の異なる心外膜と心内膜心筋では、APD(QT間隔)変化の程度が異なることとなります。これにより、心外膜・心内膜間でAPD(QT間隔)のばらつきが生じ、リエントリー性の不整脈が生じやすくなることを意味しています。

プルキンエ細胞では、APD restitutionを担う電流は、 $Na^+$ 電流のlate current( $I_{NaL}$ )でした。APD restitutionを起こす機序が心室筋とプルキンエ細胞で異なるため、期外収縮が起きると心室筋・プルキンエ細胞間でもAPD(QT間隔)のばらつきが生じ、リエントリー性の不整脈が生じるリスクが上昇することが示唆されます。

### 【2】 $Ca^{2+}$ alternansとT波交互脈(T wave alternans[TWA])

T波交互脈(TWA)は、不整脈のリスク評価に臨床でも利用されています。TWAは頻拍の時に起こりやすく、その基盤に $Ca^{2+}$  alternansがあると考えられています。

そこで、コンピューターモデルで興奮頻度を変化させ、 $Ca^{2+}$  alternansとTWAの発生を観察したところ、 $Ca^{2+}$  alternansとTWAはプルキンエ細胞で起こりやすいことが分かりました。

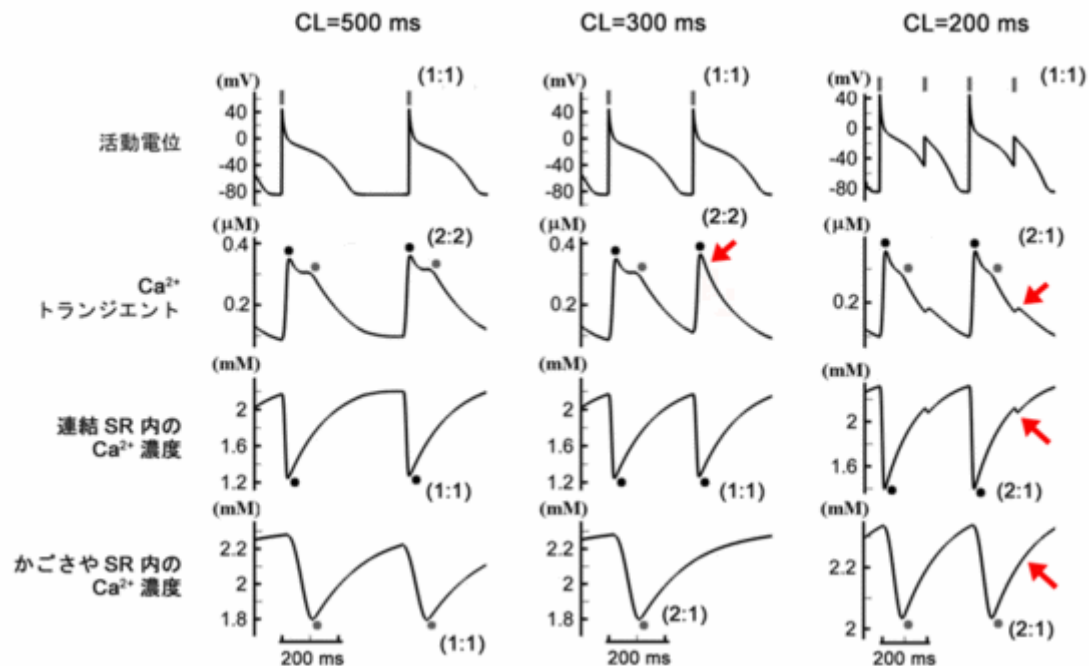


図3 プルキンエ細胞のCa<sup>2+</sup> alternans 図の上から、活動電位、Ca<sup>2+</sup>トランジエント、連結SR・かごさやSRのCa<sup>2+</sup>濃度変化(Ca<sup>2+</sup>放出により濃度が低下することに注意)。CL=300msになると(中央パネル)、かごさやSRからのCa<sup>2+</sup>放出は1つおきになり、Ca<sup>2+</sup>トランジエントも2峰性と1峰性が1つおきに現れる。CL=200msになると(右パネル)、連結SRからのCa<sup>2+</sup>放出も1つおきになり、Ca<sup>2+</sup> alternansが顕著となる。

興奮頻度を速くすると(図3中央ではCL=300ms)、プルキンエ細胞の2峰性のCa<sup>2+</sup>トランジエント(CaT)のうち、遅れて起こるかごさやSRからのCa<sup>2+</sup>放出が1回おきにしか起こらなくなります。すなわち、プルキンエ細胞のCaTは、2峰性と1峰性が交互に現れるようになり、Ca<sup>2+</sup> alternansが発生します。

さらにもう少し興奮頻度を速くすると(図3右側ではCL=200ms)、プルキンエ細胞では細胞膜と筋小胞体の連結が細胞表面直下だけと少ないため、Ca<sup>2+</sup>放出が容易にブロックされてしまいます。図ではCa<sup>2+</sup>放出が1回おきにしか現れなくなり、Ca<sup>2+</sup> alternansがさらに顕著となっています。

### 【3】トリガード・アクティビティ

トリガード・アクティビティは、遅延後脱分極(DAD)から起こるものと早期後脱分極(EAD)から起こるものがあります([追加解説4](#))。

DADの誘発は、カテコラミン誘発性多形性心室頻拍(CPVT)で見られるように、コンピューターモデルでRyRの感受性を高くして誘発しています。すると、プルキンエ細胞だけでDADとトリガード・アクティビティが観察されています(図4B)。

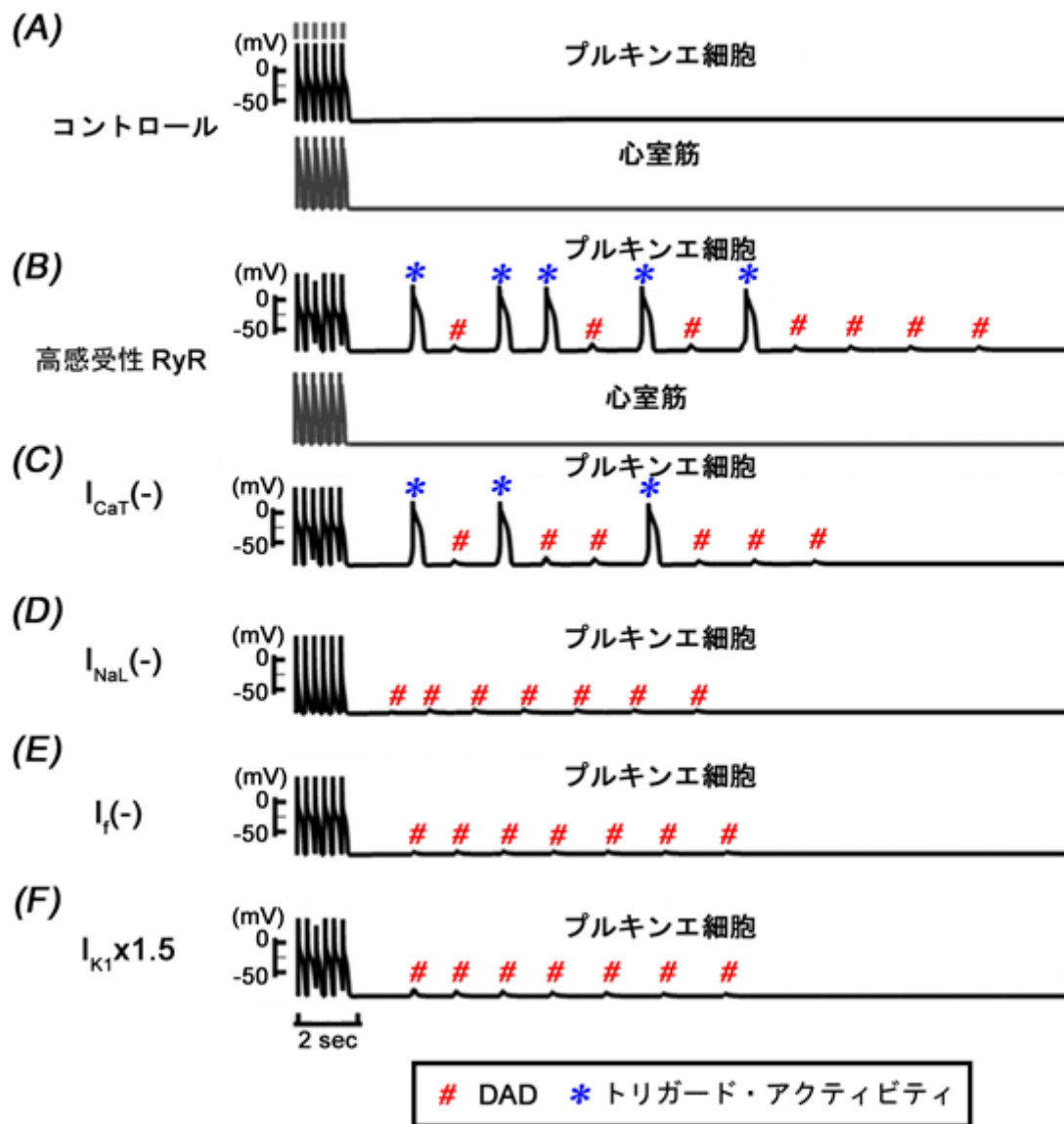


図4 DADとトリガード・アクティビティ RyR2を高感度にする、プルキンエ細胞のみでDAD、トリガード・アクティビティが出現(B)。T型Ca<sup>2+</sup>電流をゼロにすると、DAD、トリガード・アクティビティの頻度が減少(C)。I<sub>NaL</sub>・I<sub>f</sub>をゼロにする、あるいはI<sub>K1</sub>を1.5倍に大きくすると、DAD、トリガード・アクティビティは消失(D~F)。

コンピューターモデルで、T型Ca<sup>2+</sup>電流 (I<sub>CaT</sub>) をゼロにすると、DAD、トリガード・アクティビティの頻度が減少します(図4C)。また、Na<sup>+</sup>電流late current (I<sub>NaL</sub>)・I<sub>f</sub>をゼロにする、あるいはI<sub>K1</sub>電流を1.5倍に大きくすると、DADとトリガード・アクティビティが消失します(図4D~4F)。そこで、これらのプルキンエ細胞が持つ電流特性が、DADに対して高感受性としているもの●?と考えられます。

↑ 「DADへの感受性を高めている」ということですか?

EADは、コンピューターモデルでI<sub>Kr</sub>を完全にブロックすることにより誘発しています。心室筋では、EADの発生にL型Ca<sup>2+</sup>電流 (I<sub>CaL</sub>) の再活性化が関係することが知られています。プルキンエ細胞では、I<sub>CaL</sub>の再活性化ではなく、Na<sup>+</sup>電流late current (I<sub>NaL</sub>) の再活性化がEAD発生と関連していました。

このようにプルキンエ細胞は、期外収縮をトリガーとするリエントリー性不整脈、T波交互脈 (TWA)による不整脈、DAD・EADによる不整脈、いずれに対しても心室筋に比べて感受性が高く、「プルキンエ不整脈」が注目されるのは至極当然のことのようです。

## お知恵拝借！

---

いかがでしたか？プルキンエ細胞が不整脈源性となりやすい理由が、少しはご理解いただけただけでしょうか。それともやはりチンプンカンプンで、「基礎ってやっぱりなー．．．」とアレルギー反応を起こしてしまいましたか。今回の論文は、臨床家でもなく、コンピューターモデルの専門家でもない筆者にとっては守備範囲を超えたものであり、至らない部分が多々あると思います。

プルキンエ不整脈をたくさん経験されている臨床の先生、コンピューターモデルを専門とする研究者の方から建設的なコメントをいただき、理解が深まることを期待しています。

筆者からのspecificな質問は下記です。

- Q1●プルキンエを起源とした不整脈は、どのような臨床不整脈と関係があるのでしょうか？
- Q2●U波は、プルキンエ細胞か乳頭筋の再分極を反映すると言われていたと思いますが、その後新たな展開はあるのでしょうか？
- Q3●U波は、プルキンエ不整脈患者で多いということはないのでしょうか？
- Q4●今回は触れませんでしたでしたが、プルキンエ細胞で3型RyRやIP3受容体があることはどのような意味があるのでしょうか？
- Q5●Ca<sup>2+</sup> alternansのところ、CL=300msのときにCa<sup>2+</sup> alternansは起こりますが、TWAは起こっていません。TWAを伴わないCa<sup>2+</sup> alternansも催不整脈作用があるのでしょうか？

**日経BP社**

© 2006-2011 Nikkei Business Publications, Inc. All Rights Reserved.



2011. 7. 5

No.3

注目される「プルキンエ不整脈」のイオン機序に迫る

古川 哲史=東京医科歯科大学

## 追加解説

### 1. Na<sup>+</sup>電流 late current ( $I_{NaL}$ )

Na<sup>+</sup>電流は、閉鎖状態 (closed state: C)、開口状態 (open state: O)、不活性化状態 (inactivated state: I) の3つの状態をとります。静止状態では閉鎖状態 (C) にあり、脱分極すると活性化され開口状態 (O) へと移行します (図5A)。脱分極が持続すると速やかに不活性化状態 (I) に移行し、電流は流れなくなります (図5B)。3型QT延長症候群は、Na<sup>+</sup>チャンネルをコードする遺伝子 *scn5a* の変異が原因です。Na<sup>+</sup>チャンネルの不活性化が障害され、脱分極が持続しても開口状態 (O) と不活性化状態 (I) が混在し、遅延電流 (late current) が見られます (図5C)。これが、APD (QT間隔) の延長を起こします。

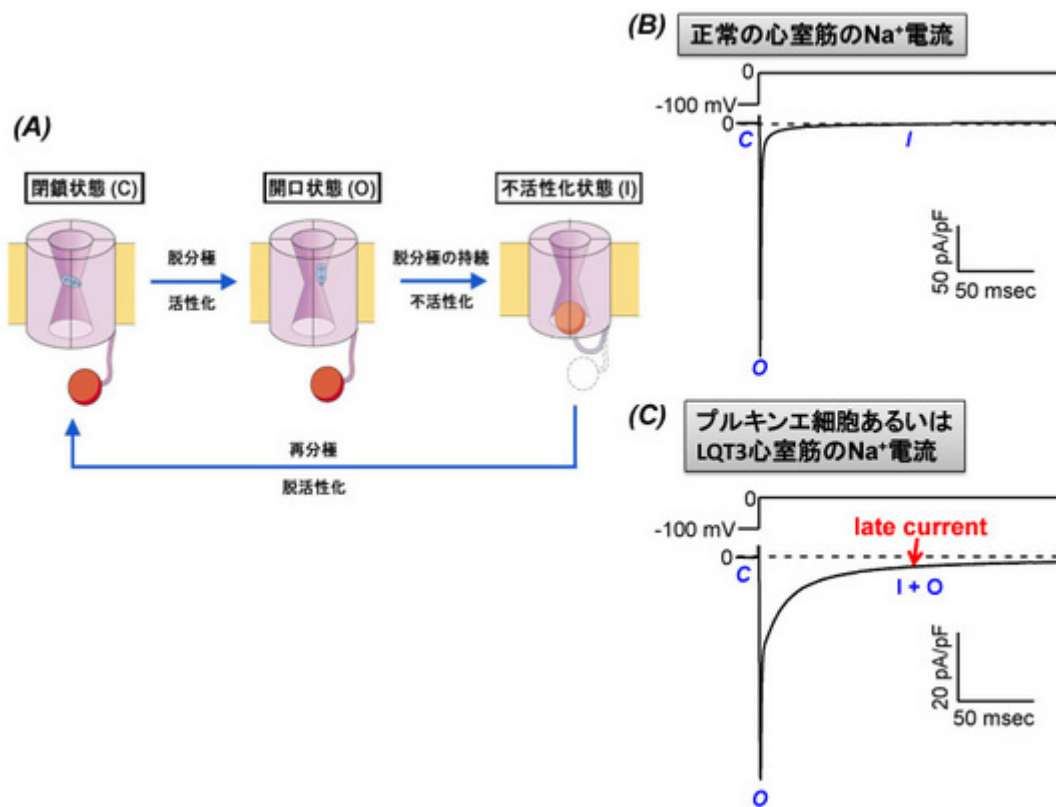


図5 Na<sup>+</sup>電流のlate current

(A) Na<sup>+</sup>チャネルは3つの状態、閉鎖状態 (C)・開口状態 (O)・不活性化状態 (I) をとる。  
 (B) 電位固定法で膜電位を100mVの保持電位から0mVの電位に脱分極させNa<sup>+</sup>電流を記録。正常の心室筋細胞では、Na<sup>+</sup>電流は迅速に不活性化してしまい、late currentは記録されない。  
 (C) プルキンエ細胞あるいはLQT3の心室筋では、Na<sup>+</sup>電流の不活性化が迅速に起こらず、late currentが記録される。(図はクリックで拡大)

## 2. アンダーセン症候群と2方向性心室頻拍

アンダーセン症候群(LQT7)は、低身長、種々の奇形、QT延長、2方向性心室頻拍 (bi-directional VT) などの特徴とする先天性疾患であり、I<sub>K1</sub> (●?) をコードするKCNJ2遺伝子の変異を原因とします。2方向性心室頻拍とは、2つの異なったベクトルのQRS波が交互に出現するVT (図6) で、異なった部位の脚・プルキンエ系から起こる頻拍の融合と考えられています。

ここのIK1は遺伝子名ですか？K1を下付にしないでいいでしょうか。



図6 アンダーセン症候群の2方向性心室頻拍(論文:Tani Y, et al. J Mol Cell Cardiol. 2007;43:187-96.より  
改変引用)

### 3. 興奮・収縮連関(EC coupling)とCa<sup>2+</sup>誘発性Ca<sup>2+</sup>放出

心筋細胞の重要な機能は収縮なので、細胞膜の興奮を心筋細胞の収縮に結び付ける精巧な仕組みが存在します。これを、興奮・収縮連関(excitation-contraction coupling[EC coupling])と呼びます。細胞膜が興奮、すなわち脱分極するとL型Ca<sup>2+</sup>チャンネルが開き、細胞外からのCa<sup>2+</sup>流入が起こります。流入したCa<sup>2+</sup>だけでは心筋細胞の収縮を起こすには十分ではなく、Ca<sup>2+</sup>上昇を増幅することが必要です。そこで、流入したCa<sup>2+</sup>が連結SRのリアノジン受容体に結合することによりリアノジン受容体チャンネルが開き、筋小胞体から大量のCa<sup>2+</sup>が放出されます。Ca<sup>2+</sup>流入がCa<sup>2+</sup>放出を起こすことから、この仕組みを、Ca<sup>2+</sup>誘発Ca<sup>2+</sup>放出(Ca<sup>2+</sup>-induced Ca<sup>2+</sup> release [CICR])と呼びます。

### 4. DADとEAD

活動電位の立ち上がりの急激な脱分極が起きた後、次の活動電位が発生するまでの間に見られる小さな脱分極のことを、後脱分極(after-depolarization)と呼びます。後脱分極のうち、活動電位が完全に再分極した後に起こるものを遅延後脱分極(delayed after-depolarization[DAD])、完全に再分極する前に起こるものを早期後脱分極(early after-depolarization[EAD])と呼びます。DADは、ジギタリス中毒などの細胞内Ca<sup>2+</sup>過負荷に伴って起こることが多く、EADはQT延長症候群などのAPDが延長したときに起こることが多いとされています。

日経BP社

© 2006-2011 Nikkei Business Publications, Inc. All Rights Reserved.