電气的リモデリングを受けた心房筋の細動誘発性に対する迷走神経緊張の関与

栗田康生*¹ 三田村秀雄*² 竹下晃子*¹ 家田真樹*¹
 杵渕 修*¹ 山根明子*¹ 佐藤俊明*¹ 品川 香*¹
 神吉秀明*¹ 高月誠司*¹ 原 幹*¹ 小川 聡*¹

【背景】迷走神経興奮は発作性心房細動（PAF）の誘発や維持に影響を与えるが、より慢性期の心房細動（AF）において果たす役割については不明である。【目的】心房の電气的リモデリング過程において、迷走神経緊張が心房不応期（ERP）やAF誘発性に与える影響をムスカリン受容体遮断薬を用いて検討した。【方法】雑種成犬8頭に400ppmの高頻度心房刺激を14日間加えた。刺激開始前（PO）、刺激開始2（P2）、7（P7）、14（P14）日目において、ERPおよびAF誘発性を、硫酸アトロピン0.04mg/kg静注前後で検討した。【結果】ERPはP2以後有意に短縮し（ $p < 0.05$ ）、AF誘発性も経時的に増加した。迷走神経遮断により、ERPは有意に延長し、その効果はP14まで保たれ（ $p < 0.05$ ）、またAF誘発性も低下した（ $p < 0.05$ ）。【総括】電气的リモデリングを受けた心房筋においても、迷走神経緊張がAF誘発性に関与していた。抗コリン薬が、持続性AF例においても抗不整脈作用を発揮する可能性が示唆された。（心電図20：No.6, 628～634, 2000）

I. 背景と目的

発作性心房細動（PAF）には夜間や食後に多く出

Key Words

- 心房細動
- 電气的リモデリング
- 迷走神経
- ムスカリン受容体
- アトロピン

*1 慶應義塾大学医学部呼吸循環器内科

*2 同 心臓病先進治療学講座

〒160-8582 東京都新宿区信濃町35番地

現するタイプが存在し、それらでは迷走神経がその発生に関与しているといわれる¹⁾。臨床的にも抗コリン作用を併せもつNaチャンネル遮断薬がその予防に有効であるとされる²⁾。また動物実験においても迷走神経刺激は心房細動（AF）の誘発を助長する³⁾。しかし、一旦AFが出現し、それが長時間持続した例において迷走神経がどう関与し、また抗コリン薬がその停止に有効であるかは不明である。

心房の高頻度興奮の持続は、電気生理学的性質を

Blockade of muscarinic receptors can reduce inducibility of fibrillation in electrical remodeled canine atrium.

Yasuo Kurita, Hideo Mitamura, Akiko Takeshita, Masaki Ieda, Osamu Kinebuchi, Akiko Yamane, Toshiaki Sato, Kaori Shinagawa, Hideaki Kanki, Seiji Takatsuki, Motoki Hara, Satoshi Ogawa

2000年3月29日 原稿受領／2000年8月16日 掲載承認

変化させ（電氣的リモデリング^{4)~7)}，AF自体がAFをひき起こす（AF begets AF）といわれる．そこで本研究では高頻度刺激による心房の電氣的リモデリング過程における迷走神経緊張が，心房有効不応期やAF誘発性に与える影響を，ムスカリン受容体遮断薬である硫酸アトロピンを用いて検討した．

II. 方 法

雑種成犬8頭（10.5～15kg，平均13.2kg）を対象に，ペントバルビタール（20mg/kg）静注麻酔後，挿管，人工呼吸器（Harvard apparatus Model 607）管理とした．体表面肢誘導心電図（日本光電製ポリグラフシステムRM6000）のモニタリング下に抗生剤点滴，輸液管理を施行のうえ，右側胸開胸を行い，心外膜を頭尾方向に切開し心臓表面を露出した．電位記録用電極を含む刺激用フック型双極電極（日本光電製）を右心耳心外膜側に縫着した．なお刺激電極と記録電極間が頭尾方向に配列するよう配慮した．双極電極からのリード線は皮下トンネルを通し背面に露出させた．閉胸後ジャケットを着用させ，抗生剤内服5日間の観察期間後に，電極リードを体外式ペースメーカー電池（日本光電製）に接続し，電池部分はジャケット内部におさめた．パルス幅0.7mV，刺激電圧5Vで400ppmの心房高頻度刺激を開始し，14日間継続した．

刺激開始直前をP0，刺激開始2日目をP2，7日目をP7，14日目をP14とし，各時点において基本刺激周期（BCL）200msecおよび300msec時の心房有効不応期（ERP），および50Hz burst刺激による5秒以上のAF誘発性を，硫酸アトロピン0.04mg/kg静注⁸⁾による薬理学的迷走神経遮断前（baseline）後（after atropine）で計測した．ERP計測およびAF誘発は，各時点において高頻度刺激を一時中止し洞調律とした状態で行い，計測終了後直ちに高頻度刺激を再開した．計測中は鎮静のため塩酸ケタミン10mg/kg筋注を使用した．計測では2msecのパルス幅，閾値の4倍の刺激強度で，10拍の基本刺激後に単発期外刺激を加え，その連結期を2msecずつ短縮

させた．捕捉を認めない最長の連結期をERPとした．基本刺激およびBurst刺激にはフクダ電子製Cardiac Stimulator BC-02A，日本光電製刺激Generator 88-1346および日本光電製Isolator ss-102Jを使用した．さらに体表面肢誘導，心房双極電位，刺激電位等の実記録トレースには日本光電製ポリグラフシステムRM6000を使用した．

III. 解 析

ERPは平均値±標準誤差で示した．Repeated measured ANOVA法で検定の上，群間の検定にはBonferroni（Dunn）法による多重比較を行った．各時点におけるアトロピン静注前後のERPの比較にはpaired t検定を行った．AF誘発頻度の比較にはFisherの直接確率計算法による χ^2 検定を行い，いずれも $p < 0.05$ を統計学的に有意と判定した．

IV. 結 果

持続的心房高頻度刺激により，ERPは200msec，300msecいずれのBCLにおいてもP2以後有意に短縮を認め（図1，2；b： $p < 0.05$ vs P0），それに伴い，burst刺激によるAF誘発性もP0 12.5%，P2 25%，P7 62.5%，P14 62.5%と経時的に増加した（図3）．迷走神経遮断により，ERPはいずれのBCLにおいても有意に延長し，その効果はP14まで同様に保たれた（図1，2；#： $p < 0.05$ vs baseline）．またAF誘発性はP0 0%，P2 0%，P7 25%，P14 25%といずれの時点でも迷走神経遮断により低下した（図3；#： $p < 0.05$ vs baseline）．P0からP14をすべて含めたAFのburst刺激による誘発を，高頻度刺激一時中止後の洞調律時アトロピン静注前に測定したERPが110msec以下の群とERP>110msecの群で比較したところ，ERPが110msec以下の群では迷走神経遮断前は68.2%にAFが誘発されたのに対し，迷走神経遮断後には35.3%と低下した（図4）．一方，洞調律時にERP>110msecの群では迷走神経遮断の有無にかかわらずまったくAFは誘発されなかった．

図1 ERPの経時的変化とアトロピンの効果 (BCL200msec)

BaselineのERPはP2以降有意に短縮したが、アトロピンによるERP延長効果はP14まで同様に保持された。

(# : $p < 0.05$ vs baseline, b : $p < 0.05$ vs P0)

図2 ERPの経時的変化とアトロピンの効果 (BCL300msec)

BaselineのERPはP2以降有意に短縮したが、アトロピンによるERP延長効果はP14まで同様に保持された。

(# : $p < 0.05$ vs baseline, b : $p < 0.05$ vs P0)

V. 考 察

1. 本研究の主要所見

持続的な心房高頻度刺激によりERPが刺激開始以

後有意に短縮し、AFの誘発性が経時的に増加する一方、硫酸アトロピンによる迷走神経遮断はリモデリングの進行したP14まで同様にERPを有意に延長し、AFの誘発性を低下させた。

図3 AF誘発性の経時的変化とアトロピンの効果

BaselineのAF誘発率は経時的に増加したが、アトロピンにより誘発率は低下した。
 (# : $p < 0.05$ vs baseline)

図4 AF誘発性と洞調律時ERPの関係 (P0～P14含む)

洞調律時ERP ≤ 110msec群ではbaselineで68.2%，アトロピン後で35.3%にAFが誘発されたが、洞調律時ERP > 110msec群ではbaseline，アトロピン後ともにまったく誘発されなかった。

2. 迷走神経緊張のAFに与える影響

臨床的にPAFは運動時等に多いタイプと、夜間や食後などに多いタイプに2分されるといわれ、特に後者は迷走神経緊張がその発症に関与すると考えられる¹⁾。またPAFは夜間に持続しやすい一方その

停止は逆に日中の方が多いという報告もある⁹⁾。実験動物においても迷走神経刺激はAFの誘発性を高める³⁾。我々は迷走神経刺激下での高頻度刺激によるAF誘発と持続には、洞周期の延長度よりも単相性活動電位持続時間の短縮が重要であり、単相性活

動電位持続時間と興奮波長の間には高い相関関係があることを示した¹⁰⁾。一方、交感神経も迷走神経と同様にERPと興奮波長を低下させるが、Liuらは迷走神経刺激時にのみ有意にAF持続時間を延長させたと述べている¹¹⁾。迷走神経がAFを誘発する機序には迷走神経の分布と迷走神経末端から放出されるアセチルコリン、アセチルコリン刺激を受けるムスカリン受容体のうちのM2受容体、GTP結合蛋白、さらにアセチルコリン感受性カリウムチャネルなどが関与している。

迷走神経は心室よりも心房に、さらに左房よりも右房に多く分布する¹²⁾。このことはアセチルコリンを直ちに加水分解するアセチルコリンエステラーゼの含有量の測定からも明らかで、心房は心室の約3倍、右房は左房の約2倍の含量を有する¹³⁾。このため迷走神経刺激は不均一に心房に伝わることになる。迷走神経末端から放出されたアセチルコリンはM2受容体に結合し、百日咳毒素に感受性のある抑制性GTP結合蛋白の $\beta\gamma$ サブユニットを介して¹⁴⁾アセチルコリン感受性カリウムチャネルに直ちに効果が及ぶため、アセチルコリンによる電気生理学的変化は速やかに発現する¹⁵⁾。一方M2受容体はL-typeカルシウムチャネルにも作用しカルシウムの流入を阻害するが、fast responseを示す心房筋においてはその影響は少なく、アセチルコリン感受性カリウムチャネルへの作用がアセチルコリンの主たる作用となる¹⁶⁾。M2受容体は心臓全体に分布しているが、これと関連するアセチルコリン感受性カリウムチャネルは心室にはほとんど認めず心房と刺激伝導系に多いといわれている¹⁷⁾。結果的にアセチルコリンはM2受容体を介して心房のアセチルコリン感受性カリウムチャネルを活性化し、外向きのカリウム電流を増加させ、再分極を促進させ、心房筋の活動電位持続時間および不応期の短縮をもたらす^{3), 18)}。この不応期短縮作用と不応期の不均一性の出現によりAFが誘発されやすくなると考えられている。

アトロピンは迷走神経の2種類の受容体のうちムスカリン受容体をアセチルコリンに拮抗する形で特

異的に遮断する。これによりアトロピンはERPを延長し、AFの発生、持続を抑制する可能性がある。しかし、その作用が持続性AF例でも維持されるかについてはこれまで検討されていなかった。

3. 電気的リモデリングを受けた心房筋における迷走神経遮断の効果

高頻度心房刺激の持続によりERPの短縮とAFの誘発性が増加することはMorilloらが初めて報告している⁵⁾。電気的リモデリングの本体は細胞内カルシウムの過負荷であることが病理組織学的変化、すなわちミトコンドリアの腫脹などから推測されている^{5), 19), 20)}。このカルシウム過負荷への代償機転としてL型カルシウムチャネル電流が低下し、ERPが短縮すると考えられている²¹⁾。電気的リモデリングではL型カルシウムチャネルがmRNAレベルで減少するといわれ²²⁾、また一過性外向きカリウム電流²¹⁾、ナトリウム電流²³⁾およびナトリウムチャネルの α サブユニットの減少²²⁾も報告されている。また、K1電流やアセチルコリン感受性カリウム電流は増大するが²⁴⁾、M2受容体やアセチルコリン感受性カリウムチャネルあるいはGTP結合蛋白自体が電気的リモデリングの進行過程において修飾されるか否かについては明らかでない。Wijffelsらは1~3日間のAF後のERPをアトロピンが延長するとヤギのモデルで報告しているが²⁵⁾、今回の我々のイヌのモデルの結果はさらに長い14日間の高頻度刺激の持続によるリモデリングでもアトロピンはERPを延長しうること示した。このことは心房の電気的リモデリングの進行後もアトロピンに対するM2受容体やアセチルコリン感受性カリウムチャネルおよびGTP結合蛋白の反応性が残存する可能性を示唆している。

4. 臨床応用としての抗コリン薬の効果

M2受容体遮断を介するERP延長効果が14日間の高頻度心房刺激後のリモデリングを受けた心房筋においても残存したことは、臨床的にリモデリングの進行した持続性AF例でも、M2受容体遮断やアセチルコリン感受性カリウムチャネル遮断あるいはGTP結合蛋白抑制などによってERPの延長が得られる可

能性を示唆している。このことから持続性AFの薬物学的除細動では、ジソピラミド²⁶⁾、高濃度のプロカインアミド²⁶⁾、アプリンジン²⁷⁾、ピルメノール²⁸⁾、高濃度のピルジカイニド²⁹⁾、dl-ソタロール³⁰⁾、ニフェカラン³⁰⁾、E-4031³⁰⁾、ベプリジル³¹⁾などM2受容体遮断作用のある薬剤や、キニジン³²⁾、高濃度のアプリンジン²⁷⁾、プロパフェノン²⁹⁾、シベンゾリン³³⁾、高濃度のピルメノール³⁴⁾、フレカイニド²⁹⁾、高濃度のニフェカラン³⁰⁾、高濃度のE-4031³⁰⁾、ベプリジル³¹⁾、アミオダロン³⁵⁾などアセチルコリン感受性カリウムチャネル遮断あるいはGTP結合蛋白抑制作用のある薬剤が何らかの効果を及ぼす可能性が推測できる。一方M2受容体アゴニストであるジギタリスはしばしばAFのレートコントロールに使用されるが、心房筋の不応期を短縮させるので、除細動には不利益に働く可能性が示唆される³⁶⁾。

5. 研究の限界

迷走神経の緊張はときに薬剤によって修飾を受ける。チオペンタールは心房ERPを延長するが、ケタミンとプロポフォールは心房ERPに影響しないとされており³⁷⁾、本研究で観察されたERP延長に麻酔の影響はないものと考えられる。迷走神経は前述の通り不均一に心房内に分布しているが、今回の我々のERPの計測は1点のみである。したがって、ERP変化の不均一性については言及できない。またリモデリングはERP短縮以外に伝導速度遅延をもたらす⁷⁾ともいわれているが、本研究では伝導速度は測定していない。したがってリモデリングを受けた心房筋においてアトロピンが遅延した伝導速度をどのように修飾して興奮波長に影響を与えるかについては不明である。またアトロピンは明らかにAF誘発性を低下させるなど、リモデリングを受けた心房筋に作用することは間違いないが、M2受容体遮断やアセチルコリン感受性カリウムチャネル遮断あるいはGTP結合蛋白抑制のいずれかを示す薬剤が、心房細動除細動の際に付加的な作用を発揮するか否かは不明であり、個々の薬剤での検討を要する。

なお本論文の主旨は第16回日本心電学会学術集会

(於甲府)にて発表した。

〔文 献〕

- 1) Olsson SB : Atrial fibrillation-new aspects on mechanism and treatment. J Inter Med 239 : 3, 1996
- 2) Coumel P: Paroxysmal atrial fibrillation; A disorder of autonomic tone? Eur Heart J 15 (SuppleA) : 9, 1994
- 3) Allesì R, Nusynowitz M, Abildskov JA, Moe GK: Nonuniform distribution of vagal effects on the atrial refractory period. Am J Physiol 194 : 406, 1958
- 4) Wijffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R, Allessie MA: Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. Circulation 92: 1954, 1995
- 5) Morillo CA, Klein GJ, Jones DL, Guiraudon CM: Chronic rapid atrial pacing. Structural, functional, and electrophysiological characteristics of new model of sustained atrial fibrillation. Circulation 91: 1588, 1995
- 6) Elvan A, Wylie K, Zipes DP: Pacing-induced chronic atrial fibrillation impairs sinus node function in dogs. Electrophysiological remodeling. Circulation 94 : 2953, 1996
- 7) Gaspo R, Bosch RF, Talajic M, Nattel S : Functional mechanisms underlying tachycardia-induced sustained atrial fibrillation. Time course and mechanisms. Circulation 94 : 2968, 1996
- 8) Jose AD, Taylor RR: Autonomic blockade by propranolol and atropine to study intrinsic myocardial function in man. J Clin Investigation 48 : 2019, 1969
- 9) Yamashita T, Murakawa Y, Sezaki K, Masashi I, Hayama N, Shuzui Y, Omata M: Circadian variation of paroxysmal atrial fibrillation. Circulation 96 : 1537, 1997
- 10) 佐藤俊明, 三田村秀雄, 品川 香, 神吉秀明, 高月誠司, 小川 聡 : 迷走神経刺激心房細動誘発モデルにおける刺激強度と電気生理学的変化の関連. 不整脈14 : 494, 1998
- 11) Liu L, Nattel S : Differing sympathetic and vagal effects on atrial fibrillation in dogs: Role of refractoriness heterogeneity. Am J Physiol 273 : H805, 1997
- 12) Zipes DP, Mihalick MJ, Robbins GT: Effect of selective vagal and stellate ganglion stimulation on atrial refractoriness. Cardiovasc Res 8 : 647, 1974
- 13) Roskoski R, Mayer HE, Schmid PG: Choline acetyltransferase activity in guinea pig heart in vitro. J Neurochem 23 : 1197, 1974
- 14) Kurachi Y: G Protein regulation of cardiac muscarinic potassium channel. Am J Physiol 267: C 821, 1995

- 15) Rosen MR, Jeck CD, Steinberg SF: Autonomic modulation of cellular repolarization and of the electrocardiographic QT interval. *J Cardiovasc Electrophysiol* 3 : 487, 1992
- 16) Pappano AJ, Mubagwa K: Muscarinic agonist-induced actions on potassium and calcium channels in atrial myocytes : Differential desensitization. *Eur Heart J* 12 Supple F: F70, 1991
- 17) Noma A, Nakayama T, Kurachi Y, Irisawa H : Resting K conductance in pacemaker and non-pacemaker heart cells of the rabbit. *Jpn J Physiol* 34 : 245, 1984
- 18) Ninomiya I: Direct evidence of nonuniform distribution of vagal effects on the dog atria. *Circ Res* 19 : 576, 1966
- 19) Goette A, Honeycutt C, Langenberg JJ: Electrical remodeling in atrial fibrillation : Time course and mechanisms. *Circulation* 94 : 2968, 1996
- 20) Ausma J, Wijffels MC, Thones F, Wouters L, Allesie MA, Borgers M : Structural changes of atrial myocardium due to sustained atrial fibrillation in goats. *Circulation* 96 : 3157, 1997
- 21) Yue L, Feng J, Gaspo R, Li GR, Wang Z, Nattel S: Ionic remodeling underlying action potential changes in a canine model of atrial fibrillation. *Circ Res* 81: 512, 1997
- 22) Yue L, Melnyk P, Gaspo R, Wang Z, Nattel S: Molecular mechanisms underlying ionic remodeling in a dog model of atrial fibrillation. *Circ Res* 84 : 776, 1999
- 23) Gaspo R, Bosch RF, Abbound EB, Nattel S: Tachycardia-induced change in Na⁺ current in a chronic dog model of atrial fibrillation. *Circ Res* 81: 1045, 1997
- 24) Bosch RF, Zeng X, Grammer JB, Popovic K, Mewis C, Kuhlkamp V : Ionic mechanisms of electrical remodeling in human atrial fibrillation. *Cardiovasc Res* 44 : 121, 1999
- 25) Wijffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R, Power J, Allesie MA : Electrical remodeling due to atrial fibrillation in chronically instrumented conscious goats: Roles of neurohumoral changes, ischemia, atrial stretch, and high rate of electrical activation. *Circulation* 96 : 3710, 1997
- 26) Nakajima T, Kurachi Y, Ito H, Takikawa R, Sugimoto T: Anti-cholinergic effect of quinidine, disopyramide, and procainamide in isolated atrial myocytes: Mediation by different molecular mechanisms. *Circ Res* 64 : 297, 1989
- 27) Ohmoto-Sekine Y, Uemura H, Tamagawa M, Nakaya H: Inhibitory effects of aprindine on the delayed rectifier K⁺ current and muscarinic acetylcholine receptor-operated K⁺ current in guinea-pig atrial cells. *Br J Pharmacol* 126 : 751, 1999
- 28) Watanabe Y, Hara Y, Tamagawa M, Nakaya H: Pirmenol inhibits muscarinic acetylcholine receptor-operated K⁺ current in the guinea pig heart. *Eur J Pharmacol* 338 : 71, 1997
- 29) Inomata N, Ohno T, Ishihara T, Akaike N: Antiarrhythmic agents act differently in the activation phase of the Ach-response in guinea-pig atrial myocytes. *Br J Pharmacol* 108 : 111, 1993
- 30) Mori K, Hara Y, Saito T, Masuda Y, Nakaya H: Anticholinergic effects of class III antiarrhythmic drugs in guinea pig atrial cells : Different molecular mechanisms. *Circulation* 91: 2834, 1995
- 31) Hara Y, Nakaya H: SD-3212, a new class I and IV antiarrhythmic drug: a potent inhibitor of the muscarinic acetylcholine-receptor-operated potassium current in guinea-pig atrial cells. *Br J Pharmacol* 116 : 2750, 1995
- 32) Kurachi Y, Nakajima T, Sugimoto T: Quinidine inhibition of the muscarine receptor-activated K⁺ channel current in atrial cells of guinea pig. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 335 : 216, 1987
- 33) Wu SN, Nakajima T, Yamashita T, Hamada E, Hazawa H, Iwasawa K, Omata M, Kurachi Y: Molecular mechanism of cibenzoline-induced anticholinergic action in single atrial myocytes: Comparison with effect of disopyramide. *J Cardiovasc Pharmacol* 23 : 618, 1994
- 34) Nakajima T, Iwasawa K, Hazama H, Omata M : Effects of pirmenol on action potentials and membrane currents in single atrial myocytes. *Eur J Pharmacol* 344 : 287, 1998
- 35) Watanabe Y, Hara Y, Tamagawa M, Nakaya H: Inhibitory effect of amiodarone on the muscarinic acetylcholine receptor-operated potassium current in guinea pig atrial cells. *J Pharmacol Exp Ther* 279 : 617, 1996
- 36) The Digitalis in Acute Atrial Fibrillation (DAAF) Trial Group: Intravenous digoxin in acute atrial fibrillation : Results of randomized, placebo-controlled multicentre trial in 239 patients. *Eur Heart J* 18 : 649, 1997
- 37) Napolitano CA, Raatikainen MJ, Martens JR, Dennis DM : Effect of intravenous anesthetics on atrial wavelength and atrioventricular nodal conduction in guinea pig heart: Potential antidysrhythmic properties and clinical implications. *Anesthesiology* 85 : 393, 1996