

主論文の要旨

Alogliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, regulates the
atrial arrhythmogenic substrate in rabbits

〔 DPP-4 阻害薬のアログリプチンはウサギにおける
心房の不整脈基質を制御する 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 分子総合医学専攻
病態内科学講座 循環器内科学分野

(指導：室原 豊明 教授)

山本 寿彦

【背景】

心房細動（AF）は最も一般的な不整脈であり、加齢と共に頻度は増え、先進国で増加してきている。うっ血性心不全は AF の誘因の一つであり、うっ血性心不全患者の 13-27%に AF が合併すると言われている。これらはお互いに増悪し合い、高い死亡率につながっている。心室頻拍ペーシング（VTP）による心不全モデルは、AF の維持に関与する心房の線維化や局所伝導遅延を生じさせることは以前から報告されており、そのことから心房の線維化は、AF を引き起こす構造的リモデリングとして認識されている。以上から、心不全モデルは AF 治療の新しい臨床的なアプローチを見出すのに有用であり、AF は全身性塞栓といった生命を脅かす合併症を起こしうるので、AF をコントロールすることは臨床的にも重要である。

AF は糖尿病とも合併しやすく、AF は糖尿病患者の心血管イベントのリスクを増加させる。ジペプチジルペプチダーゼ（DPP）-4 阻害薬は近年 2 型糖尿病患者に広く用いられている。DPP-4 は全身に分布する糖タンパクペプチダーゼでその酵素活性から様々な生物学的機能を示し、DPP-4 阻害薬は血糖降下作用以外にも心血管系に対する保護作用を有していることが近年わかってきたが、その作用は心室や血管の機能を改善させることに依っており、心房のリモデリング、特に不整脈基質に対する効果についてはいまだに不明確である。今回我々は VTP による心不全モデルに伴う AF について、高選択性の DPP-4 阻害薬であるアログリプチンの有効性を、ウサギを用いて検討した。

【方法】

オスの New Zealand White Rabbit（体重 2.7-3.2kg）に VTP 用のペースメーカーを移植し、その手術侵襲から回復後 VVI モード 380bpm に設定し VTP を行った。ウサギは以下の 6 群に分けた。アログリプチンを投与しない群の内、VTP もしない群（NP/non）、VTP を 1 週間行う群（1w/non）、3 週間行う群（3w/non）、アログリプチンを投与する群で、VTP しない群（NP/alo）、VTP を 1 週間行う群（1w/alo）、3 週間行う群（3w/alo）。アログリプチンは混餌して、VTP 開始 2 週間前から VTP 終了時まで投与した（20mg/kg/day）。さらにサブグループとして、3w/non 群と 3w/alo 群に NOS 阻害薬である *N*^ω-nitro-L-arginine methyl ester（L-NAME）を腹腔内投与した（それぞれ 3w/non+LN 群、3w/alo+LN 群）。

1 週間または 3 週間の VTP 終了後、心エコーを行い、心機能や内径などを評価した。3 週間 VTP を行った群についてはさらに心臓電気生理検査（EPS）を行い、安楽死後に左房組織を採取した。

EPS は胸骨正中切開による開胸下で行った。右心耳と左心耳に双極電極を刺し、有効不応期や心房内伝導速度を計測した。左心耳からのバーストペーシングにて AF 誘発試験も行い、その持続時間を測定した。

採取した左房組織からパラフィン包埋切片や凍結切片を作成し、Masson-trichrome 染色と CD31/ジストロフィンの二重免疫染色を行った。

同組織から抽出したサンプルバッファーを用いて Western blotting を行い、eNOS

と Akt の活性を評価した。さらに ELISA を用いて左房内のコラーゲン I レベルを測定した。

【結果】

VTP によって内腔拡大と収縮不全が誘発された (Table1)

心エコーの結果を評価したところ、VTP1 週間で左室駆出率が有意に低下し、左房径と左室収縮末期径が拡大した。さらに 3 週間目には左室拡張末期径も有意に拡大した。ただしアログリプチンの投与の有無での各項目の差は認めなかった。拡張能については全ての群で差を認めなかった。

アログリプチンは VTP による AF 持続時間の延長を抑制した (Figure1)

開胸 EPS にて不整脈基質を評価した。心不全モデルでは開胸時に胸水貯留が確認できた。VTP によって左房の有効不応期が延長し心房内伝導速度は遅延したが、アログリプチン投与の有無では差を認めなかった。一方 AF 誘発試験では、3w/non 群で AF の持続時間が著明に延長したが、3w/a1o 群ではその持続時間が有意に短かった。

アログリプチンは VTP による心房の線維化を抑制し、左房筋における血管新生を亢進させた (Figure2)

左房筋の Masson-trichrome 染色にて、心筋内の線維化を評価した。VTP によって左房心筋内の線維化が亢進したが、アログリプチンの投与でそれは抑制された。左房におけるコラーゲン I レベルは線維化と同様、3w/a1o 群よりも 3w/non 群において有意に上昇していた。

免疫染色後に、CD31 陽性細胞の定量分析を行ったところ、VTP を 3 週間行った群ではアログリプチンの投与によって左房の一心筋細胞あたりの血管新生が非投与群の 1.6 倍亢進していた。

アログリプチンは左房における eNOS のリン酸化を亢進させた (Figure3)

1w/a1o 群では 1w/non 群よりも eNOS のリン酸化が有意に亢進していたが、Akt のリン酸化については有意な差を認めなかった。さらに VTP を 3 週間行った群では、アログリプチンの有無にかかわらず、eNOS と Akt のリン酸化はいずれも低下していた。

L-NAME の追加でアログリプチンの効果は打ち消された (Figure4)

VTP3 週間行った群に対する L-NAME 投与の効果を検討した。左房径と左室駆出率については、L-NAME による変化は認めなかった。一方、アログリプチンによって短縮した心房細動の持続時間は延長し、抑制された左房の線維化や、亢進した左房心筋あたりの CD31 陽性細胞数はどちらもキャンセルされた。コラーゲン I レベルは 3w/non+LN 群と 3w/a1o+LN 群の間で差を認めなくなり、どちらも他の 6 群より発現が亢進していた。

【考察】

今回、DPP-4 阻害薬が VTP 誘発性心不全モデルのウサギにおいて心房細動を抑制する作用を有することを初めて報告した。高選択性の DPP-4 阻害薬であるアログリプチンの投与によって心房バーストペーシングで誘発される AF の持続時間は短縮し、心房筋の線維化は抑制された。さらに血管新生や eNOS のリン酸化が心房の線維化を修飾することがわかった。

過去の報告では、心臓の線維化は微小血管網の拡大、すなわち血管新生の亢進にて抑制されることは知られており、今回の研究ではアログリプチンの投与が、心不全モデルウサギの左房における血管新生を亢進させ、そのことが心房線維化抑制に寄与しているものと考えられた。

心臓の線維化には、MAPK や VEGF、AMPK、TNF α 、eNOS などといった様々なタンパク質や酵素が重要な役割を果たしている。DPP-4 阻害薬による血管新生の亢進は血管内皮機能や eNOS の活性化と関連があることは以前から報告されている。今回、左房筋における eNOS シグナルの活性化がアログリプチン治療群で亢進し、その効果は L-NAME によってキャンセルされることを示した。これにより eNOS のリン酸化が、アログリプチンによる心房細動や心房線維化の抑制や血管新生において重要な役割を果たしていることがわかった。

【結語】

アログリプチンの投与によって AF の持続時間は短縮し、心房筋の線維化は抑制された。さらに血管新生や eNOS シグナルの活性化が心房の線維化を制御することがわかった。これらの結果から、DPP-4 阻害薬が心不全に伴う心房細動の予防に効果的である可能性が示唆された。