

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：32641

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07106

研究課題名(和文)薬物誘発性不整脈発生の基質とトリガーの評価による危険性予測

研究課題名(英文)Predicting risk by assessing substrate and trigger for drug-induced arrhythmia

研究代表者

村上 慎吾 (Murakami, Shingo)

中央大学・理工学部・教授

研究者番号：40437314

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：IKr阻害下での異なる薬物誘発性不整脈発生のリスク予測のためにO'Hara-Rudyのヒト心室筋細胞モデル、3種類の薬物モデル、仮想的な薬物モデルなどを用いることで、再分極予備能やEAD(early afterdepolarization)の発生危険性の差に関する薬理効果の機序を検討した。再分極予備能を厳密に再定義して新規の定量的なリスク評価方法を構築・評価した。さらにL型カルシウム電流(ICaL)に対する薬物効果の違いがEADの発生頻度に影響していることを示した。上記で明らかにされた機序を基に、危険性予測のプロトコルを提案しその有効性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

薬物誘発性不整脈は新規薬物開発コストの上昇の一因であり、新規薬物開発や臨床における安全性や社会的コストの面からも、薬物誘発性不整脈の正確な予測が必要とされている。従来の薬物誘発性不整脈の機序の説明では、薬物の副作用でIKr阻害により活動電位や心電図上のQTが延長することでTorsades de pointes(多型性心室頻拍)が発生するとしてきた。しかし、近年の多数の擬陽性の事例より、IKr阻害と薬物誘発性不整脈発生の危険性の関連性がそれほど高くないことが判明している。本研究では単純なIKr阻害だけでない新たな薬物誘発性不整脈の危険性の予測方法を提案することができた。

研究成果の概要(英文)：In the present study, to predict the different risks of drug-induced arrhythmia under various IKr blockers, we investigated the mechanism of pharmacological effects on the repolarization reserve and early afterdepolarization (EAD) by using the O'Hara-Rudy human ventricular myocyte model, three drug models (amiodarone, bepridil, terfenadine), and hypothetical drug models. We rigorously redefined repolarization reserve and constructed a new quantitative risk assessment method based on this redefinition. In addition, it was shown that the difference of the drug effect on L-type calcium current (ICaL) affected the generation frequency of EAD. Based on the mechanisms identified above, we proposed a protocol for risk prediction and confirmed its validity.

研究分野：医工学

キーワード：薬物誘発性不整脈 L型カルシウムチャネル シミュレーション EAD

1. 研究開始当初の背景

薬物誘発性不整脈は新規薬物開発コストの上昇の一因であり、新規薬物開発や臨床における安全性や社会的コストの面からも、薬物誘発性不整脈の正確な予測が必要とされている。従来の薬物誘発性不整脈の機序の説明では、薬物の副作用で IKr (遅延整流性カリウム電流) が阻害されて活動電位や心電図上の QT が延長することで Torsades de pointes (多型性心室頻拍) という致死性の不整脈が発生するとしてきた。そして、この説に基づき開発中の候補薬物による IKr 阻害の確認が薬物開発の初期スクリーニングで行われてきた。しかし、近年の多数の擬陽性の実例より、IKr 阻害と薬物誘発性不整脈発生の危険性の関連性がそれほど高くないことが判明している。そのため、新規薬物開発における安全性評価に関する S7B ガイドラインの見直しが行われ、単純な IKr 阻害だけでなく新たな薬物誘発性不整脈の危険性の予測方法が求められていた。

薬物誘発性不整脈発生の予測方法をより正確にする方法として、IKr 阻害のみによる機序だけではなく、薬物誘発性不整脈の機序を 1) 活動電位が延長し不整脈が発生しやすい状況である「基質」と 2) 不整脈発生の直接の原因である「トリガー」に分けるべきと考え、この 2 つの機序に基づいた新たな予測方法が必要と考えた。薬物が本来の標的ではない心筋細胞の活動電位の再分極過程にかかわる IKr を阻害し、再分極が遅れて活動電位と QT が延長した状況を、不整脈が発生しやすい状況である「基質」と呼び、薬物誘発性不整脈発生の第 1 段階と考えることができる。不整脈が発生しやすい「基質」が備わった時に、L 型カルシウムチャネルを流れる電流 (ICaL) の再活性化による早期後脱分極のような不整脈を実際に発生させる「トリガー」が発生したら第 2 段階であると考えた。そして、この 2 段階で別々に催不整脈リスクを評価すべきと考えられる。

第 1 段階である「基質」では活動電位延長が問題となる。IKr 阻害下でも薬物により活動電位延長の度合いが異なり危険性予測が不正確である理由として「再分極予備能 (repolarization reserve)」の量の違いで説明されてきた。生理的長さの活動電位では機能していないが、活動電位延長によって活性化し、活動電位延長を抑える再分極の方向に働く電流成分「再分極予備能」が心筋細胞には存在する。従来から、この再分極予備能の量の違いにより活動電位延長の差が存在すると説明されてきた。すなわち、再分極予備能の量の違いにより IKr 阻害時の活動電位延長に対する異なる薬物効果と催不整脈の危険性を評価できると考えられる。しかし、この再分極予備能は抽象的な概念としてのみ使われてきた。再分極予備能を定量的で計測可能な指標にすることで、薬物誘発性不整脈の危険性予測の精度が改善されると期待される。

第 2 段階であり薬物誘発性不整脈の「トリガー」でもある早期後脱分極に関しては、従来の考え方は徐脈時に薬物により活動電位が延長すると必然的に早期後脱分極が発生すると仮定していた。しかし、実際には IKr を阻害して活動電位が延長する薬物でも早期後脱分極の有無に違いがあった。しかも、早期後脱分極を担う L 型カルシウムチャネルを流れる電流 (ICaL) を減少させる ICaL 阻害薬でも必ずしも早期後脱分極を抑制するわけではなかった。例えば、ペブリジルは IKr と ICaL の双方を阻害し活動電位を延長するが、早期後脱分極が発生し、薬物誘発性不整脈も発生する。このような早期後脱分極の発生の違いを予測・説明するために、非選択的 IKr 阻害剤が ICaL に与える影響を検討する必要性があった。

2. 研究の目的

IKr 阻害薬で薬物誘発性不整脈の危険性が異なる現象を説明・評価するために、(1)「再分極予備能」という抽象的な概念を進展させ、薬物誘発性不整脈の危険性評価に応用できる再分極予備能評価の定量的な指標の開発と、(2)非選択的 IKr 阻害薬が ICaL に与える薬物効果が早期後脱分極の発生に与える影響の検討を本研究の目的とした。

従来曖昧に使われてきた再分極予備能を定量的に定義することで、薬物や心不全などでのリモデリングによる再分極予備能の量の増減を知ることが可能になる。本研究で提案された指標は 1) 定量的であり、2) 実際の実験でも計測・評価でき、3) 不整脈発生の危険性を評価できる。再分極予備能を、従来のような実験結果の後付けの解説のための象徴的な概念ではなく、実際に定量的な評価や予測に使える概念へと昇華することができる。

活動電位を延長する薬物でも早期後脱分極を起こす薬物と起こさない薬物がある。また、早期後脱分極の主な原因である ICaL を阻害する薬物でも早期後脱分極を起こす薬物と起こさない薬物がある。しかし、ICaL への薬物効果が早期後脱分極にどのような影響を与えるかは今まで無視されてきた。これらの違いの機序を明らかにすることで、初期スクリーニングで確認すべき ICaL への阻害特性を明らかにし、早期後脱分極の危険性予測を可能にする。

3. 研究の方法

本研究計画は、心筋細胞モデルでの解析を主な手法として用いる理論的な作業で構成され、手法的にはプログラミングと計算機上でのシミュレーションモデルによる検証に分類される。最初の工程において、様々な種類の心筋細胞モデルや薬物モデルがプログラム化された。構築したプ

プログラムを用いて、どのようなプロトコルが再分極予備能を定量的に評価するのに適切かを検討された。候補の再分極予備能評価方法と心筋細胞・薬モデルを用いて様々な薬影響下での再分極予備能の量を計算し、再分極予備能により IKr 阻害時の活動電位延長を予測できるかを検討し、候補の指標が適切であるかを判断された。さらに、様々な ICaL 阻害薬の阻害様式をモデル化することにより、どのような阻害様式によりトリガーが発生しやすくなるかを検討された。この検討で初期スクリーニングで候補薬物が ICaL を阻害する時に、何を確認すべきを明らかにした。

4. 研究成果

本研究の最初の工程において、様々な種類の心筋細胞モデルや薬物モデルをプログラム化した。構築したプログラムを用いて、どのようなプロトコルが再分極予備能を定量的に評価するのに適切かを検討した。候補の再分極予備能評価方法と心筋細胞・薬モデルを用いて様々な薬影響下での再分極予備能の量を計算し、再分極予備能により IKr 阻害時の活動電位延長を予測できるかを検討し、候補の指標が適切であるかを判断した。

IKr 阻害が状況により異なる活動電位幅延長効果をもたらす理由を説明し、薬物誘発性不整脈発生リスクの予測に役立てることを目的として、抽象的に使われてきた概念である再分極予備能を厳密に再定義し、この再定義に基づく新規の定量的なリスク評価方法を構築・評価した。従来の再分極予備能の定義は、IKr が阻害された条件下で他のイオンチャネル電流が代償的に再分極に貢献するというものであった。我々は再分極予備能を活動電位幅が延長した時に活性化して流れる電流の源、と再定義した。この定義に基づき、O'Hara Rudy らによるヒト心室筋細胞モデルに活動電位固定法を適用し、活動電位幅を延長した条件下で活性化する再分極予備能による膜電流を計算した。活性化した再分極予備能による膜電流の電流・電圧関係を定量的に評価することにより、再分極予備能の特性を定量的に特徴付けることができた。薬物誘発性不整脈発生リスク予測における、定量化された再分極予備能の有効性を確認するために、上記の定量化手法を用いて様々な条件下での再分極予備能の特性を確認した。例えば、逆頻度依存性を今回の手法で定量的に評価・予測することができた。また、心臓の心室壁において外膜側、中層、内膜側の各場所で、活動電位幅のばらつきが大きいと不整脈が発生しやすいと考えられているが、このばらつきも今回の手法で予測・説明できることを示した。さらに、今回の手法を、不整脈発生の危険性の違い知られている 4 種類の薬物に対して応用した。4 種類の薬物のモデルを構築し、心筋細胞モデルや今回の手法と組み合わせることにより、再分極予備能の活性化特性の違いにより、薬物の危険性の違いを説明できることを示した。

次に、様々な ICaL 阻害薬の阻害様式をモデル化することにより、どのような阻害様式によりトリガーが発生しやすくなるかを検討した。特に ICaL が再活性化する膜電位において阻害が弱くなるような特性を持つ薬物プロファイルが EAD を起こしやすいことが判明した。この検討により、初期スクリーニングで候補薬物が ICaL を阻害する時に、何を確認すべきかが明らかになった。そこで次のプロセスとして、具体的な薬物の特性を取り入れたモデルを作製し、実際の薬物の危険性、安全性も説明できるかの検討を行い、動電位の延長により活動電位の第三相において現れる脱分極 (EAD) が IKr 阻害作用のある薬物間においてなぜ発生傾向が異なるかを説明した。O'Hara-Rudy のヒト心室筋細胞モデルを用いて 3 種類の薬物 (amiodarone, bepridil, terfenadine) の影響下における活動電位のシミュレーションを行うことで EAD の発生要因を検討した。その結果、L 型カルシウム電流 (ICaL) に対する薬物効果の違いが EAD の発生頻度に影響していることが示唆された。これらの結果により、薬物誘発性不整脈の危険予測では、IKr 阻害による活動電位延長の有無だけでなく、電位依存的 ICaL 阻害特性の検討の必要性が示唆された。本研究の最終段階では、薬物開発や臨床の場において重大な問題である薬物誘発性不整脈の危険性予測手法を提案するため、仮想的な薬物の影響下における活動電位のシミュレーションや予測の際に用いるべきプロトコルの有効性の確認を行った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Akira Kimura, Shingo Murakami	4. 巻 147
2. 論文標題 Different voltage dependence of ICaL blockade in nonselective IKr blockers causes their opposite effects on early afterdepolarization in drug-induced arrhythmia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	6. 最初と最後の頁 95-103
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jphs.2021.05.014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 木村 暁、村上 慎吾
2. 発表標題 L型カルシウム電流の電位依存阻害特性を用いた薬物誘発性不整脈の危険性予測手法
3. 学会等名 第143回日本薬理学会関東部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木村 暁、村上 慎吾
2. 発表標題 薬物誘発性不整脈における早期後脱分極に対する電位依存性カルシウム電流による予測
3. 学会等名 第94回日本薬理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木村 暁、村上 慎吾
2. 発表標題 ヒト心筋細胞モデルを用いた早期後脱分極における薬物誘発性不整脈の危険予測
3. 学会等名 第98回日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Akira Kimura, Shingo Murakami
2. 発表標題 Early afterdepolarization in drug-induced arrhythmias can be predicted by voltage-dependence in ICaL block
3. 学会等名 64th Annual Meeting of the Biophysical Society (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木村 暁、村上 慎吾
2. 発表標題 ヒト心筋細胞モデルを用いた早期後脱分極の発生機序の基づく薬物誘発性不整脈の危険性予測手法
3. 学会等名 第97回日本生理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木村 暁、村上 慎吾
2. 発表標題 L型カルシウム電流の電位依存阻害特性を用いた薬物誘発性不整脈の危険性予測手法
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------