

平成21年6月10日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19590532
 研究課題名（和文） 心筋再分極異常に起因する心臓突然死の危険を回避する薬物治療戦略の構築
 研究課題名（英文） PHARMACOTHERAPEUTIC STRATEGY FOR PREVENTION OF CARDIAC SUDDEN DEATH CAUSED BY VENTRICULAR REPOLARIZATION ABNORMALITY
 研究代表者
 高原 章（TAKAHARA AKIRA）
 東邦大学・薬学部・准教授
 研究者番号：80377481

研究成果の概要：

心筋再分極異常は致死的な不整脈を誘発する可能性が高いにも関わらず、このような危険を回避するアップストリーム治療法はこれまで十分に検討されていなかった。このような病態を反映するモデル動物を用いた本研究を遂行させた結果、抗高血圧薬シルニジピンはN型Ca²⁺チャンネル抑制作用により心筋再分極異常を改善することが示された。N型Ca²⁺チャンネルを選択的に抑制する新規薬物の創出は、心筋再分極異常を有する患者に対して血圧低下などの副作用がない薬物治療法として期待できる。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・応用薬理学

キーワード：QT延長症候群、心臓突然死、薬物治療、N型Ca²⁺チャンネル

1. 研究開始当初の背景

容量負荷型の心肥大では、心筋のカリウムチャンネルが大幅にダウンレギュレーションし、脱分極による心筋興奮から再分極までの過程（心電図 QT 間隔）が延長することが知られている。このため、心筋に早期後脱分極といわれる致死性不整脈のトリガーが発生しやすい状態となる。このような心筋の電気的リモデリングは徐脈や慢性心不全などの心臓疾患の進行に伴って生じるが、病態の進行

が軽度であっても低カリウム血症や薬物による心電図 QT 間隔延長の副作用により発症するケースも多く知られている。心筋再分極異常は致死的な結果を引き起こす可能性が高いにも関わらず、このような病態を示すモデル動物が存在していなかったため、心筋再分極異常に伴う致死性不整脈の発生を回避する薬物療法はこれまで十分に検討されなかった。

研究代表者らはこれまでの研究で、ビーグル

犬に房室ブロック術を施すことで容量性心肥大を伴う突然死モデルの開発に成功し、心筋再分極異常に伴う致死性不整脈の発生機序の解析に利用してきた。この心肥大突然死モデル動物に存在する心筋再分極異常は、ペースメーカー埋込により徐脈を治療しても改善できないことがオランダの研究グループから報告され、有効な治療法の開発は困難と考えられてきた。しかし、研究代表者らの最近の研究により、L/N型カルシウム拮抗薬シルニジピンの長期投与が本モデルの心筋再分極異常を改善することを明らかにし、薬理学的アプローチにより心筋再分極異常を治療できることが見いだされた。シルニジピンには血圧低下作用があり、治療薬としての使用が限定される可能性が考えられたので、本研究を発展的に継続することでシルニジピンに比べて有用性の高い治療薬を創出できる可能性が考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、心筋再分極異常を治療可能な薬物のターゲット分子を見出すため、心肥大突然死モデル動物に存在する心筋再分極異常に関与する生体内分子を特定し、その活性化薬または抑制薬をモデル動物に投与した。これらの結果を総合的に判断し、再分極異常に対する新しい治療戦略を構築することを目的とした。

3. 研究の方法

心肥大突然死モデル犬の特徴をイオンチャネルの発現レベルから心行動態や神経体液性因子の挙動を心臓電気生理学的特性とともに解析した。また、L/N型カルシウム拮抗薬シルニジピンの心筋再分極異常を改善する作用機序を薬理学的に分析した。

(1) イオンチャネルの発現：心肥大突然死モデル動物および正常動物の心室筋を摘出し、イオンチャネルの発現を定量的PCR法にて計測した。本研究では心筋再分極過程に重要な役割を担っている K^+ チャネルに加え、シルニジピンの作用点であるL型およびN型 Ca^{2+} チャネルについても検討した。

(2) 心行動態および電気生理学的特徴の評価：本モデル動物の血圧や心拍出量など心行動態指標を計測し、心不全の重症度を検討した。また、神経体液性因子の生体内レベルを測定した。体表面心電図ならびに心臓内局所の心筋活動電位を観察できる単相性活動電位 (MAP) 記録電極カテーテルを用いて心筋再分極時間を測定した。

(3) N型 Ca^{2+} チャネルおよびレニン・アンジオテンシン系の寄与：本モデル動物に選択的L型カルシウム拮抗薬をシルニジピンと同じ

処方で投与し、心筋再分極異常改善効果の有無を評価して、N型 Ca^{2+} チャネルの寄与を調べた。また、本モデル動物にアンジオテンシン受容体拮抗薬をシルニジピンと同じ処方で投与し、心筋再分極異常改善効果の有無を評価し、レニン・アンジオテンシンの寄与を調べた。

(4) 新規催不整脈予測指標 Beat-to-beat variability of ventricular repolarization (BVR)を用いた評価：心電図QT間隔またはMAP持続時間の1拍ごとの変動の大きさが致死性不整脈の発生予測に有用であることが示されている。本モデル動物にシルニジピンを投与したときのBVRの変化を評価した。

4. 研究成果

(1) イオンチャネルの発現：心肥大突然死モデル犬における左心室筋のMiRP1 およびKvLQT1 のmRNA発現量は正常犬に比べて有意に低値であり、本モデルにおいても遅延整流 K^+ チャネル (I_{Kr} および I_{Ks}) の機能が低下していることが推定された。L型、T型およびN型 Ca^{2+} チャネルのmRNA発現量は、モデル動物と正常動物の間で違いは認められなかった。

(2) 心行動態および電気生理学的特徴の評価：図1に正常犬と心肥大突然死モデル犬から記録した体表面心電図、全身血圧と肺動脈血圧および右心室から記録した単相性活動電位 (MAP) の典型例を示す。単相性活動電位持続時間 (MAP_{90}) は慢性房室ブロック犬で明らかに長く、電気的リモデリングが生じており、また、徐脈に伴った収縮期高血圧の状態であった。

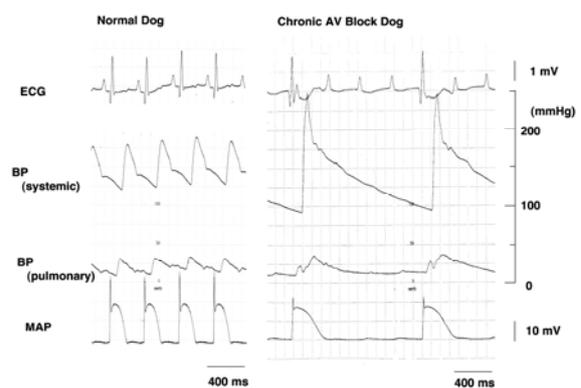


図1 正常イヌと慢性房室ブロック犬から記録した体表面心電図、全身血圧と肺動脈血圧および右心室から記録した単相性活動電位 (MAP) の典型例

(3) N型 Ca^{2+} チャネルおよびレニン・アンジオテンシン系の寄与：アムロジピンとシルニジピンは血圧を同程度低下させ、心拍出量を増加させた。一方、アンジオテンシン受容体拮抗薬カンデサルタンはアンジオテンシンIIの昇圧反応を完全に抑制したが、心行動態

態に対して有意な作用を示さなかった。アムロジピンとカンデサルタンは心電図QT間隔とMAP₉₀に影響を与えなかったが、シルニジピンは両指標を有意に短縮させた(図2)。心室ペーシングを行い心拍数による影響を除外した条件においても、シルニジピンのみがMAP₉₀と有効不応期を短縮させた。

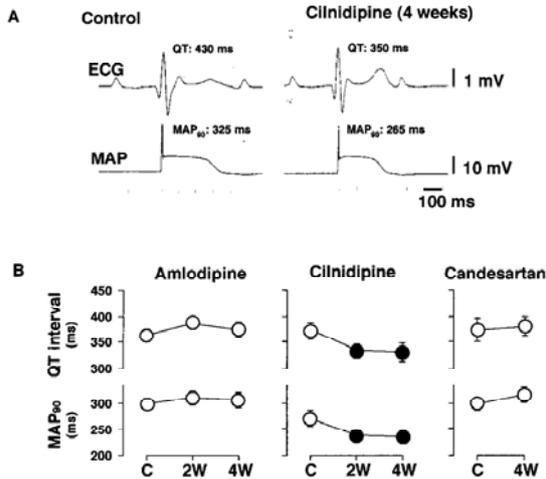


図2 心電図QT間隔および右心室の単相性活動電位持続時間(MAP₉₀)に対するシルニジピンの短縮作用。

シルニジピンは神経性因子であるエピネフリン、アンジオテンシンIIおよびアルドステロンの血漿中濃度を低下させた。一方、アムロジピンはアンジオテンシンIIとアルドステロンの血漿中濃度を投与4週後に上昇させた。また、カンデサルタンはエピネフリンとノルエピネフリンの血漿中濃度を低下させ、アンジオテンシンIIの血漿中濃度を上昇させた(図3)。

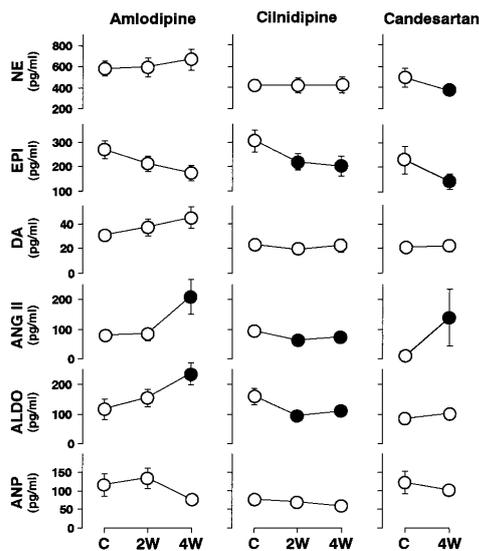


図3 神経体液性因子の血中濃度の変化

(4) 新規不整脈予測指標 Beat-to-beat

variability of ventricular repolarization (BVR)を用いた評価:本モデルの心筋再分極時間は1拍ごとに約3 msecの変動を示していたが、シルニジピンによりその変動が縮小することが明らかとなった(図4)。この結果は再分極時間短縮に加えて不整脈リスクを減少させることを示しており、心臓突然死の危険を回避する治療手段として臨床応用が期待できることを示している。一方で、アムロジピンやカンデサルタンではこのような作用を認めなかった。

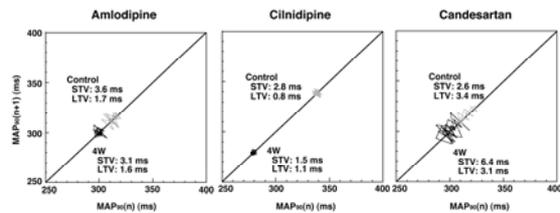


図4 ボワンカレプロットによる再分極時間の時間的ばらつきの評価

以上の成績より、シルニジピンの心筋の再分極異常を改善する作用にはN型Ca²⁺チャネルに対する抑制が関与することが明らかとなった。N型Ca²⁺チャネルを選択的に抑制する新規薬物の創出は、心筋再分極異常を有する患者に対して血圧低下などの副作用がない薬物治療法として期待できる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計8件)

- ① Takahara A, Nakamura Y, Wagatsuma H, Aritomi S, Nakayama A, Satoh Y, Akie Y, Sugiyama A. Long-term blockade of L/N-type Ca²⁺ channels by cilnidipine ameliorates repolarization abnormality of the canine hypertrophied heart. Br. J. Pharmacol. 2009; in press. 査読あり
- ② Sakaguchi Y, Takahara A, Nakamura Y, Akie Y, Sugiyama A. Utilities of a halothane-anesthetized, closed-chest, guinea pig as a model to assess the drug-induced QT-interval prolongation. Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. 2009; 104(1): 43-48. 査読あり
- ③ Nouchi H, Takahara A, Nakamura H, Namekata I, Sugimoto T, Tsuneoka Y, Takeda K, Tanaka T, Shigenobu K, Sugiyama A, Tanaka H. Chronic left atrial volume overload abbreviates the action potential duration of the canine pulmonary vein myocardium via activation of IK channel. Eur. J. Pharmacol. 2008; 597(1-3): 80-84. 査読

あり

- ④ Takahara A, Nakamura Y, Sugiyama A. Beat-to-beat variability of repolarization differentiates the extent of torsadogenic potential of multi ion-channel blockers bepridil and amiodarone. *Eur. J. Pharmacol.* 2008; 596(1-3): 127-131. 査読あり
- ⑤ Ishizaka T, Takahara A, Iwasaki H, Mitsumori Y, Kise H, Nakamura Y, Sugiyama A. Comparison of electropharmacological effects of bepridil and sotalol in the halothane-anesthetized dogs. *Circ. J.* 2008; 72(6): 1003-1011. 査読あり
- ⑥ Namekata I, Fujiki S, Kawakami Y, Moriwaki R, Takeda K, Kawanishi T, Takahara A, Shigenobu K, Tanaka H. Intracellular mechanisms and receptor types for endothelin-1-induced positive and negative inotropy in mouse ventricular myocardium. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2008; 376(6): 385-395. 査読あり
- ⑦ Takahara A, Iwasaki H, Nakamura Y, Sugiyama A. Cardiac effects of L/N-type Ca^{2+} channel blocker cilnidipine in anesthetized dogs. *Eur. J. Pharmacol.* 2007; 565(1-3): 166-170. 査読あり
- ⑧ Takahara A, Sugiyama A, Satoh Y, Iwasaki H, Nakamura Y, Hashimoto K. Cardiovascular profile of the canine torsades de pointes arrhythmia model assessed by echocardiographic and haemodynamic methods. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2007; 101(1): 35-40. 査読あり

[学会発表] (計18件)

- ① 高原 章, 中村 真理子, 仙道 晶子, 行方 衣由紀, 田中 光: ハロセン麻酔モルモットモデルにおける鎮咳薬クロブチノールの心筋再分極相に与える作用: 小動物用MAP記録カテーテルによる評価. 第82回日本薬理学会年会 (2009. 3. 18, 横浜)
- ② 竹田 潔, 杉本 貴彦, 行方 衣由紀, 高原 章, 田中 光: モルモット肺静脈の心筋活動電位に対するベプリジルの影響: 左心房に対する作用との比較第82回日本薬理学会年会 (2009. 3. 18, 横浜)
- ③ Namekata I, Ohhara M, Hirota Y, Fukumoto M, Kawanishi T, Takahara A, Tanaka H. SERCA activators, ellagic acid and gingerol, ameliorate diabetes mellitus-induced diastolic dysfunction in isolated murine ventricular

myocardia. The 25th Annual Meeting of ISHR Japanese Section (2008. 12. 5, Yokohama)

- ④ 行方 衣由紀, 恒岡 弥生, 杉本 貴彦, 竹田 潔, 島田 英朗, 高原 章, 田中 光: モルモット肺静脈心筋における自発的電気活動の発生機序: 選択的 Na^{+}/Ca^{2+} 交換機構阻害薬SEA0400を用いた検討. 第18回日本循環薬理学会 (2008. 11. 21, 千葉)
- ⑤ 行方 衣由紀, 恒岡 弥生, 杉本 貴彦, 竹田 潔, 長治 緑, 川西 徹, 中村 竜, 高原 章, 田中 光: 肺静脈自動能の発生機序の検討. 第17回日本バイオイメーキング学会学術集会 (2008. 11. 1, 千葉)
- ⑥ Takahara A, Sugimoto T, Takeda K, Tsuneoka Y, Kudo N, Namekata I, Tanaka H. Arrhythmogenic property of the pulmonary vein myocardium in guinea pigs as a source of atrial fibrillation. The 9th World Conference on Clinical Pharmacology and Therapeutics (2008. 8. 1, Québec)
- ⑦ 高原 章, 野内 秀明, 田中 光, 杉山 篤: Chronic atrioventricular block abbreviated the action potential duration of canine pulmonary vein myocardium. 第72回日本循環器学会学術集会 (2008. 3. 29, 福岡)
- ⑧ 宇野 洋司, 高原 章, 田中 光: L/T型カルシウム拮抗薬エホニジピンの反射性頻脈に対する抑制効果. 第81回日本薬理学会年会 (2008. 3. 18, 横浜)
- ⑨ 高原 章, 我妻 広貴, 有富 静, 今田 智之, 秋江 靖樹, 杉山 篤: 慢性房室ブロック犬心筋における K^{+} チャンネルmRNAの発現抑制. 第81回日本薬理学会年会 (2008. 3. 18, 横浜)
- ⑩ 杉本 貴彦, 野内 秀明, 高原 章, 田中 光: モルモット摘出肺静脈の活動電位に対するカリウムチャンネル抑制薬の影響. 第81回日本薬理学会年会 (2008. 3. 18, 横浜)
- ⑪ 田中 光, 行方 衣由紀, 野内秀明, 高原 章: 心筋の興奮・収縮機構の多様性. 第81回日本薬理学会年会 (2008. 3. 18, 横浜)
- ⑫ 杉山 篤, 佐藤吉沖, 高原 章: 慢性完全房室ブロックモデル動物を用いた薬物性QT延長症候群のリスク評価. 第24回日本心電学会学術集会 (2007. 10. 6, 名古屋)
- ⑬ 島田英朗, 杉本貴彦, 高原 章, 竹田 潔, 恒岡弥生, 行方衣由紀, 重信弘毅, 田中 光: モルモット肺静脈の電気生理学的特性. 第24回日本心電学会学術集会 (2007. 10. 6, 名古屋)
- ⑭ 野内秀明, 木股幹雄, 桐生直明, 高原 章, 田中 光: 鶏胚心筋を用いた薬物の催不整脈性評価法. 第117回日本薬理学会関東部会 (2007. 10. 6, 東京)

- ⑮ Namekata I, Takahara A, Nouchi H, Kimata M, Tsuruoka N, Shigenobu K, Tanaka H. Utility of the embryonic chick ventricle as a new model to detect QT-interval prolonging drugs. The 2007 Autumn Meeting of The British Society for Cardiovascular Research (2007. 9. 24, London)
- ⑯ Sugiyama A, Nakamura Y, Saitoh M, Takahara A, Sakamoto K, Sasaki H, Hombro T, Wakasa Y, Nomura M. Chronic atrioventricular (AV) block sensitizes monkey heart for drug-induced Torsades de Pointes (TdP) via biochemical, anatomical and electrophysiological remodelings. The 2007 Autumn Meeting of The British Society for Cardiovascular Research (2007. 9. 24, London)
- ⑰ Namekata I, Takahara A, Nouchi H, Kimata M, Shigenobu K, Tanaka H. Embryonic chick myocardium as a sensitive model for prediction of drug-induced QT-interval prolongation. The 7th Annual Meeting of the Safety Pharmacology Society (2007. 9. 20, Edinburgh)
- ⑱ 坂本憲吾、大谷光嗣、若狭芳男、高原 章、杉山 篤：新規サル催不整脈モデルを用いたtorsades de pointes (TdP)リスク評価系の確立。第34回日本トキシコロジー学会学術年会 (2007. 6. 28、東京)

[産業財産権]

○取得状況 (計1件)

名称：催不整脈モデル動物
発明者：杉山 篤、高原 章、佐藤吉冲
権利者：株式会社イナリサーチ
種類：特許権
番号：4088334
取得年月日：2008年2月29日
国内外の別：国内

[その他]

ホームページ等

<http://www.mnc.toho-u.ac.jp/v-lab/shinkin/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高原 章 (TAKAHARA AKIRA)
東邦大学・薬学部・准教授
研究者番号：80377481

(2) 連携研究者

杉山 篤 (SUGIYAMA ATSUSHI)
山梨大学・医学工学総合研究部・准教授
研究者番号：60242632