

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月7日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590237

研究課題名（和文）心房細動の治療標的分子の同定：持続性心房細動モデル犬を用いて

研究課題名（英文）Identification of therapeutic target molecules against atrial fibrillation: Use of the canine persistent atrial fibrillation model

研究代表者

杉山 篤 (SUGIYAMA ATSUSHI)

東邦大学・医学部・教授

研究者番号：60242632

研究成果の概要（和文）：慢性持続性心房細動モデルの開発をまず実施した。ビーグル犬に完全房室ブロックを作製し、ペーシング電極を左心房に装着し、電気刺激発生装置を右臀部皮下に埋め込んだ。心房の電気刺激（600 bpm）を4週間行うことで慢性持続性心房細動が誘発された。次にこのモデルに既存薬（ピルジカイニド、ジソピラミド、アプリンジン、シベンゾリン）、 I_{Kur} 遮断薬（AVE0118）およびオセルタミビルを評価した。オセルタミビルは既存の抗心房細動薬を上回る薬効を有していることが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：The chronic persistent atrial fibrillation model was developed first. The complete atrioventricular block was produced to the beagle, the left atrium was equipped with the pacing electrode, and electric stimulus generating equipment was embedded at the right buttock subcutaneous part. Chronic persistent atrial fibrillation was induced by performing an electric stimulus (600 bpm) of an atrium for four weeks. Next, the existing drugs (pilsicainide, disopyramide, aprindine, cibenzoline), an I_{Kur} blocking agent (AVE0118), and oseltamivir were evaluated in this model. It became clear that oseltamivir has more potent antiarrhythmic effect than the existing anti-atrial fibrillation drugs.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
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：基礎医学・薬理学一般

キーワード：心血管・血液、心房細動

1. 研究開始当初の背景

心房細動は日常診療上最も遭遇しやすい不整脈である。加齢に伴って増加し、60歳代で2～4%、70歳代で5～6%、80歳代で8～10%と10歳刻みで倍増していた。一部の例外を除くと、心房細動自体は緊急治療を要す

る悪性不整脈ではないが、全身臓器の血栓・塞栓症の原因となりうるため、高齢化社会を背景に、国内外においてその臨床的な重要性はますます高まっていた。臨床的に心房細動は自然停止が得られる発作性心房細動と自然停止が得られない慢性心房細動に分類さ

れる。慢性心房細動はさらに、自然停止はしないが薬物または電氣的除細動が可能な持続性心房細動と除細動不可能な永続性心房細動に分類されている。心房細動の維持に関しては心房筋の電氣的リモデリング（心房細動の持続自体が、可逆的な心房不応期短縮や伝導速度の低下をもたらし、心房細動をさらに持続させ、新たな心房細動を起しやすくする）という概念が提唱されていた。臨床の現場では、持続性心房細動を停止させ、再発を予防し、永続性心房細動への移行を回避するため、種々の薬物が臨床応用されていた。クラス Ia あるいは Ic 抗不整脈薬の予防効果は 40～60% であるが、陰性変力作用を有するため、心不全を合併する患者ではむしろ生命予後を悪化させるとの報告もあった。クラス III 抗不整脈薬はその K チャネル遮断作用による心室再分極過程の遅延および torsades de pointes (TdP) 誘発作用のため、また、多チャンネル遮断薬のアミオダロンは心臓器毒性のため心房細動に対する応用は限られている。当時開発段階にあった各種の候補化合物 (I_{Kur} 遮断薬、 I_{to} 遮断薬、 I_{KCh} 遮断薬、心房選択型 Na 遮断薬など) を早期に臨床応用するためには、ヒト心房細動の病態を忠実に反映する動物モデルを用い、有望な治療標的分子が何であるかを同定することが急務であった。

2. 研究の目的

2008 年、研究代表者は自らが開発し現在、薬物性 QT 延長症候群の予知などの薬物の安全性の総合的評価に国内外で広く用いられている慢性房室ブロック犬モデルを応用し、世界に先駆けて慢性持続性心房細動ビーグル犬モデルを開発することに成功した。本研究では、この心房細動モデルを用いて、臨床応用されている心房細動治療薬および現在開発中の心房選択的イオンチャンネル修飾薬の抗心房細動作用を評価した。これらの化合物の作用を総合的に分析することにより、有望な治療標的分子を明確にし、心房細動に対する有効かつ安全な薬物療法を確立することを目的とした。

不整脈モデルはどの程度忠実に臨床不整脈の病態を反映しているかが重要である。心房細動は単なる心房に限局した電氣的疾患ではなく、慢性心不全に起因する神経体液性因子による代償機転が心房筋を修飾することで発現する症候群であることが多い。この点で、心房細動を誘発する手段として従来の動物実験で用いられてきた、アコニチン投与、迷走神経刺激やアセチルコリン投与下での心房頻回刺激、無菌性心膜炎などは適切な方法とは言い難い。「QT 延長薬物の催不整脈作用に関する安全基準の作成 平成 15～16 年度」および「心房細動アップストリーム治療

薬の探索：新規発作性心房細動モデル犬を用いて 平成 17～18 年度」に関する研究を科学研究費補助金事業に採択していただいたことが、今回の研究の着想につながっている。すなわち、薬物性 QT 延長症候群の研究のために開発した慢性房室ブロック犬は、徐脈性心房容量負荷に起因する発作性心房細動を自然発症し、心不全の進展とともに発作の持続時間が延長することが確認されている。神経体液性因子ではアドレナリン、ノルアドレナリン、アンジオテンシン II および心房性ナトリウム利尿ペプチドの上昇を、組織学的には心房筋の肥大、間質の線維化を、解剖学的には心房壁の肥厚や内腔拡大が認められている。平成 17～18 年度の科学研究費補助金事業においては、この慢性房室ブロック犬をペントバルビタール麻酔して心房中隔を 60 ms の周期で 10 秒間電気刺激すると心房細動が必ず誘発され、代表的な心房細動治療薬であるビルジカイニドを静注すると、この心房細動の持続時間は 1/10 以下に短縮することも確認し、発作性心房細動モデルとしての有用性を証明した。

3. 研究の方法

慢性房室ブロック犬モデルは、薬物性 QT 延長症候群など薬物により誘発される致死性不整脈の発生リスクの評価に有用であることが確認されている。今回の研究では、このモデルを応用して開発した新しい慢性持続性心房細動ビーグル犬モデルを用いて、臨床応用されている心房細動治療薬および選択的イオンチャンネル修飾薬の抗心房細動作用の評価を行った。これらの化合物の心臓電気生理学的作用を総合的に分析することにより、心房細動治療における有望な治療標的分子を明らかにした。

4. 研究成果

慢性持続性心房細動モデルの作製法の開発および薬物評価において以下のような成果を挙げることができた。

【慢性持続性心房細動モデルの作製法の開発】体重 9-12kg のビーグル犬をペントバルビタールで麻酔後、電極カテーテルを大腿静脈から房室結節領域に挿入した (n=6)。高周波通電により完全房室ブロックを作製し、術後 3 日間は抗生物質の投与を行った。術後 4 週以上経過した動物をペントバルビタールで麻酔後、左第 5 肋間で開胸し、ペーシング電極を左心房 (Buchmann 束付近) に装着した。植え込み型電気刺激発生装置 (大正医科器械株式会社 TNT-002AL) を右臀部皮下に埋め込んだ。術後 4 週間以上経過し、全身状態が良好に保たれていることを確認後、心房の持続的電気刺激 (600 bpm) を 4 週間行った。この方法を用いてモデルの作成を繰り返し行

ったところ、再現性をもって慢性持続性心房細動モデルを作成することが確認された。

【薬物評価】刺激頻度 600 bpm での電気刺激終了 30 分前より 24 時間ホルター心電図 (HS1000 システム フクダ ME) の記録を開始し、心房細動の発生を確認した。持続性心房細動が誘発された際には既に臨床応用されている心房細動治療薬 (ピルジカイニド 3 mg/kg/10 min, i. v.) を静脈内投与し、停止効果の評価した。2/6 例で心房細動の停止効果が認められた。得られた結果を他剤 (ジソピラミド 3 mg/kg/10 min, i. v.) と比較検討した。同様に 2/6 例で心房細動の停止効果が認められたが、停止しなかった 1 例において QT 延長に起因する torsades de pointes を認めた。

同様に臨床応用されているアプリンジン (3 mg/kg/10 min, i. v.) およびシベンズリン (3 mg/kg/10 min, i. v.) の抗心房細動作用を評価した。心房細動停止効果はそれぞれ 0/6 および 2/6 あった。結合解離が遅いタイプの Na チャネル抑制が心房細動停止に必要な薬物側の条件であることが判明した。副作用 (特に、QT 間隔延長に伴う TdP や心室性不整脈発生) は認められなかった。

新しい作用点 (I_{Kur} 遮断) を有する候補化合物 AVE0118 の評価を行った。6 mg/kg/10 min, i. v. の用量で心房細動停止効果は 2/6 であった。副作用 (特に、QT 間隔延長に伴う TdP や心室性不整脈発生) は認められなかった。 I_{Kur} 遮断作用も心房細動停止に必要な薬物側の条件であることが判明した。

開発候補化合物および承認薬の適応外薬効としての心房細動停止効果を、慢性心房細動モデル動物を用いてスクリーニングした。その中で Oseltamivir phosphate (タミフル®) は特に強力な抗心房細動作用を示した。Oseltamivir は、A 型/B 型インフルエンザウイルス感染症の治療および予防に用いられている薬物である。3 mg/kg/10 min の投与により 6 例中 2 例で、30 mg/kg/10 min の投与で 6 例全例で心房細動が停止した。副作用 (特に、QT 間隔延長に伴う TdP や心室性不整脈発生) は認められなかった。以上より、oseltamivir は既存の抗心房細動薬を上回る薬効を有していることが明らかになった。

さらに、oseltamivir による心房細動停止効果の作用機序を検討した。体重約 10 kg のビーグル犬をハロセン麻酔し、非開胸下で洞調律時の心拍数、血圧、心拍出量、総末梢血管抵抗、左室内圧、体表面心電図、His 束心電図、単相性活動電位持続時間 ($MAP_{90(sinus)}$) および心室ペーシング時 (周期長 400 ms および 300 ms) の単相性活動電位持続時間 ($MAP_{90(CL400)}$) および $MAP_{90(CL300)}$ 、心室有効不応期 (ERP) を測定した。心室の電氣的受攻性を $MAP_{90(CL400)}-ERP (=TRP)$ から推定した。

oseltamivir 0.3、3 および 30 mg/kg をそれぞれ 10 分間かけて 20 分間隔で累積的に静脈内投与した (n=4)。抗ウイルス薬としての有効血中濃度の 10 倍以上で、陰性変時・変力・変伝導作用が観察された。また、この濃度域で心室内より 2 倍以上強力な心房内伝導抑制作用が、さらに「頻度依存性」の心室再分極遅延作用も認められた。同じ条件でクラス I 抗不整脈薬の pilsicainide を評価したが、伝導抑制の心房選択性は 1.6 倍にすぎず、oseltamivir とは異なり「逆頻度依存性」の心室再分極遅延作用が観察された。

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 3 件)

① Kitahara K, Nakamura Y, Tsuneoka Y, Adachi-Akahane S, Tanaka H, Yamazaki H, Takahara A, Yamazaki J, Ikeda T, Sugiyama A. Cardiohemodynamic and electrophysiological effects of anti-influenza drug oseltamivir in vivo and in vitro. Cardiovas Toxicol 2013 10.1007/s12012-013-9202-6:1 査読有

② Sugiyama A, Nakamura Y, Akie Y, Saito H, Izumi Y, Yamazaki H, Kaneko N, Itoh K. Microminipig, a non-rodent experimental animal optimized for life science research. In vivo proarrhythmia models of drug-Induced long QT syndrome: Development of chronic atrioventricular block model of microminipig. J Pharmacol Sci 2011; 115: 122-126 査読有
https://www.jstage.jst.go.jp/article/jp hs/115/2/115_10R21FM/_pdf

③ Takahara A, Wagatsuma H, Aritomi S, Konda T, Akie Y, Nakamura Y, Sugiyama A. Measurements of cardiac ion channel subunits in the chronic atrioventricular block dog. J Pharmacol Sci 2011; 116: 132-135 査読有
https://www.jstage.jst.go.jp/article/jp hs/116/1/116_11019SC/_pdf

〔学会発表〕 (計 1 件)

① 北原 健, 中村裕二, 恒岡弥生, 赤羽悟美, 田中 光, 山崎浩史, 高原章, 山崎純一, 池田隆徳, 杉山 篤: オセルタミビル の心行動態および電気生理学的作用. 第 86 回日本薬理学会年会 福岡 2013/03/22

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉山 篤 (SUGIYAMA ATSUSHI)

東邦大学・医学部・教授

研究者番号：60242632

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし