

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24年5月11日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22790251

研究課題名（和文）心房細動のトリガーの抑制を機序とした新しい抗不整脈薬の探索

研究課題名（英文）Search for new antiarrhythmic drugs based on inhibition of trigger in atrial fibrillation

研究代表者

村上 慎吾（MURAKAMI SHINGO）

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：40437314

研究成果の概要（和文）：本研究では、心房細動を対象とした新規抗不整脈薬の可能性を探るために、細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇により活性化し心房細動のトリガーとなりえる TRPM4 チャンネルに焦点を置き、TRPM4 チャンネル阻害薬の新規抗不整脈薬としての可能性を探った。TRPM4 チャンネル電流はヒト心室では実験的に観測されておらず、TRPM4 チャンネルの選択的阻害薬は心室での副作用が少ないと期待される。ヒトに特化した心房筋細胞モデルによる理論的検証により、新たな薬物作用機序像に基づいた、心房細動に特化した新規抗不整脈薬の可能性を探り、TRPM4 チャンネルの選択的阻害薬が高い可能性を持つことを示した。

研究成果の概要（英文）：In this study, in order to facilitate the development of new antiarrhythmic drugs specific for atrial fibrillation, we studied the potential of TRPM4 channel inhibitors as new antiarrhythmic drugs. TRPM4 channel can be activated by elevated intracellular Ca^{2+} concentration and therefore can be triggers for atrial fibrillation, Since TRPM4 channels are not functional in the human ventricular, selective inhibitors of TRPM4 channels are expected to cause limited side effect in the ventricular. By using the human atrial model and TRPM4 channel model, we showed that inhibitors of TRPM4 channel may suppress atrial fibrillation and may be a good candidate for new antiarrhythmic drugs.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬理学一般

キーワード：心臓、不整脈、抗不整脈、心房細動

1. 研究開始当初の背景

・心房細動の再発予防の重要性

心房細動とは、心房が不規則・高頻度に興奮する持続性の頻拍性不整脈である。心房細動が発生すると、心房内に血栓が生じ、重度の脳梗塞を引き起こす。心房細動は加齢と

もに発生頻度が上昇し、高齢者の脳梗塞の原因の約 1/3 を占める。そのため、我が国のような高齢化社会において重点的な対策を要する疾患である。

・心房細動の薬物療法の副作用

既存の抗心房細動薬はその副作用のため、使用に制限を受けている。ClassIII薬に分類されるアミオダロンは心房細動治療薬として有効であるが、この薬物は肺線維症などの重篤な副作用を高頻度で起こすことが知られている。近年心房細動の治療のためにFDA(Food and Drug Administration)から認可を受けた ClassIII薬であるドフェチリドは、致死性の心室不整脈である torsades de pointas を起こす。長い間使われてきた Naチャンネル阻害薬である ClassI薬は、CAST(Cardiac Arrhythmia Suppression Trial)により、意図に反し長期投与が患者の生存率を下げるという結果が示されている。心房細動の治療手法の一つとして、重大な副作用を持たない抗心房細動薬が必要とされている。

・心房細動とその薬物治療のメカニズム

心房細動は複数の機能的リエントリーが、無秩序に存在することによって維持される。抗不整脈薬による作用は、イオンチャンネルに対する薬物効果により、心筋興奮の不応期を延長し、リエントリを除去する戦略に沿って行われる。

心房細動が一度発症すると、電気的リモデリングと呼ばれる心房筋細胞の電気生理的特性の変化が生じ不応期が短縮し、さらに心房細動が起き易くなる。そのため、何も処置をされなければ、一年以内の再発の確率は3割に達し、脳梗塞の主要な原因となるので、心房細動再発予防は重要である。心房細動再発を防ぐため、抗不整脈薬の継続投与が行われる。しかし、心房細動により心房筋細胞の電気的リモデリング（電気的特性の変化）が生じ、心房細動が再発し易くなるに伴い、心房筋細胞への薬物効果も変化する。イオンチャンネルの特性の変化によって、同じ薬物が心房細動前とは違った効果を心房細動再発防止に対して持つ可能性を考慮する必要がある。

さらに、ヒト心房筋細胞の活動電位の特性は他の動物と大きく異なる。イオンチャンネルの特性の違いにより、ヒトの活動電位長は他の動物より短く、実験的、臨床的にも薬物に対する反応が異なることが知られている。しかし、その必要性に反して薬物効果の検証に必要なヒト心房筋細胞のサンプルは入手が困難である。

2. 研究の目的

心房細動は複数の機能的リエントリーが発生し、無秩序に存在することによって発生・維持される。他の不整脈と同様に、心房細動の発生・維持の機序は、不整脈が発生維持しやすいが不整脈を直接起こさない状況(Substrate)と、不整脈を発生させるトリ

ガー、という二つの概念で説明されている。従来の心房細動を対象とした抗不整脈薬による作用は、イオンチャンネルに対する薬物効果により、例えば心筋興奮の不応期を延長しリエントリを除去するような、substrateを除去する戦略に沿って行われる。これに対して、トリガーを取り除くという戦略に着目した既存の抗不整脈薬は存在しない。

トリガーの機序として、筋小胞体からのCa²⁺放出による脱分極がある。従来の研究では、ナトリウムカルシウム交換輸送体が細胞内Ca²⁺濃度の上昇を感知して、膜電位を脱分極させると説明されていた。しかし、ナトリウムカルシウム交換輸送体は心室のみならず多種多様な細胞に存在し、ナトリウムカルシウム交換輸送体の阻害を心房細動を抑える機序としては使用できない。一方、近年TRPM4チャンネルがヒト心房筋細胞で大きな役割を果たしている可能性が示唆されている。

そこで、本研究では心室での副作用が少ない選択的TRPM4チャンネル阻害剤の、心房細動を対象とした抗不整脈薬としての可能性を探索する。ヒトに特化した心房筋細胞モデルを使用することで、新たな薬物作用機序像に基づき、心房細動に特化した新規抗不整脈薬の可能性を探った。

3. 研究の方法

本研究は、文献調査、モデル構築、プログラミング、計算機上での検証、などで構成され、TRPM4イオンチャンネルのモデル、ヒト心房筋細胞モデルなどを用いて行われた。

本研究では、本研究グループが予備研究で改良したCourtemancheらのモデルを使用した。Courtemancheらのモデルは現在デファクトスタンダードモデルである。このモデルに含まれているイオンチャンネルCourtemancheの論文が出された当時の情報に基づいているが、この論文が発表されて以来ヒト心房筋より各種イオンチャンネルの特性計測が行われたが、モデルの改良は行われていなかった。そのため、Courtemancheらのモデルは多数の問題点があった。構築をしたイオンチャンネルのモデルを用い、単一のヒト心房筋細胞モデルの構築を行い、実験結果の再現の正確さを維持するため、実験では未知のパラメーターを中心にチューニングを行った後、心房細動に有効な薬物の予測を行った。

4. 研究成果

TRPM4チャンネルは細胞内Ca²⁺濃度の上昇により活性化し、ナトリウムイオンとカリウムイオンを選択的に通過させ、膜電位を脱分極させる。さらに、TRPM4チャンネル電流は心房筋細胞膜に張力がかかることにより増大し、高血圧下で心房細動が発生されやすいと

いう臨床的・実験的知見の原因と推測されている。特にヒト心臓に関しては、ヒト心室で TRPM4 チャンネル電流は見つかっていないが、ヒト心房には存在する。しかし、ヒト心房筋細胞の活動電位の特性は他の動物と大きく異なり、他動物での検証に限界がある。イオンチャンネルの特性の違いにより、ヒトの活動電位長は他の動物より短い上に、実験的、臨床的にも薬物に対する反応が異なることが知られている。しかし、その必要性に反して薬物効果の検証に必要なヒト心房筋細胞のサンプルは入手が困難である。

上記のような状況に対応して、本研究ではヒト心房筋細胞による実験に変わるアプローチとして抗不整脈薬評価用ヒト心房モデルを使用した。動物ごとに異なる心房筋細胞の電気的特性に関しても、ヒト心房細胞モデルの使用により、ヒトに特化した検証が可能になった。非常に入手困難なヒト心房筋細胞も、モデルなら計算機上で無制限に使用することが可能である。さらに、まだ存在していない仮想的な薬物プロファイルの効果を確認できた。具体的には、TRPM4 イオンチャンネルのモデルとその活動電位への影響と、TRPM4 チャンネル阻害の薬物効果の検討を行った。心房細動をはじめとする不整脈のトリガーの機序として、筋小胞体からの Ca^{2+} 放出による脱分極がある。従来の研究では、ナトリウムカルシウム交換輸送体が細胞 Ca^{2+} 濃度の上昇を感知して、膜電位を脱分極させると説明されていた。しかし、ナトリウムカルシウム交換輸送体は心室のみならず多種多様な細胞に存在し、ナトリウムカルシウム交換輸送体の阻害を心房細動を抑える機序としては使用できない。一方、近年 TRPM4 チャンネルがヒト心房筋細胞で大きな役割を果たしている可能性が示唆されている。本研究グループが予備研究で改良した Courtemanche らのモデルを使用して、TRPM4 イオンチャンネルとその活動電位への影響の検討を行った。TRPM4 チャンネルの細胞内カルシウム依存的活性化がモデルの中に取り込まれているために、生理条件下の静止膜電位でもある程度脱分極しているが、脱分極を引き起こす程度ではなかった。しかし、頻脈時に細胞内の筋小胞体からカルシウムが漏れてくる時に遅延後脱分極を引き起こすことが解析により分かった。しかし、TRPM4 は複数のイオンを通すために、その等価電位は 0mv に近く、あくまで興奮の閾値を越す役割しか果たさないことも分かった。さらに、TRPM4 イオンチャンネル阻害の薬物効果のモデル化として、TRPM4 イオンチャンネルのモデルを用い、TRPM4 イオンチャンネル阻害の薬物効果のモデルを心房筋細胞に入れ解析を行った。その結果、遅延後脱分極は頻脈時に起きることから、理想的な特性は頻脈時に効果が大きくなる薬

物プロファイルが理想的であろうと推測された。さらに、より正確な薬物プロファイルを把握するために、心房細動の発生源である肺静脈を想定し、心房細動に特化した抗不整脈のプロファイルを検討した。基本的に肺静脈においては活動電位が短いために、心室や心房と異なる挙動を示したが、やはり頻脈時に細胞内の小胞体からカルシウムが漏れてくる時に遅延後脱分極を引き起こすことが解析により分かった。このような考察から心房細動に対する TRPM4 阻害剤の有効性が示唆された。

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 6 件)

- ① Fumiaki Nin, Hiroshi Hibino, Shingo Murakami, Toshihiro Suzuki, Yasuo Hisa, Yoshihisa Kurachi. A computational model of a circulation current that controls electrochemical properties in the mammalian cochlea, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, in press. 2012. 査読有
- ② Ryo Haraguchi, Takashi Ashihara, Tsunetoyo Namba, Kunichika Tsumoto, Shingo Murakami, Yoshihisa Kurachi, Takanori Ikeda, Kazuo Nakazawa. Transmural dispersion of repolarization determines scroll wave behavior during ventricular tachyarrhythmias: A simulation study. *Circulation Journal* 75, pp. 80, 2011. 査読有
- ③ 村上慎吾, 倉智嘉久 フィジオームとシステムバイオロジー *生体の科学* 61, 4, 364-371, 2010. 査読無
- ④ Shingo Murakami, Shingo Suzuki, Masaru Ishii, Atsushi Inanobe, Yoshihisa Kurachi. Cellular modelling: experiments and simulation to develop the physiological model for G-protein control of cardiac muscarinic K^+ channels, *Philosophical Transactions of the Royal Society A*, 368, 2983-3000, 2010. 査読有
- ⑤ 村上 慎吾, 鈴木 慎悟, 上島 豊, 野村 泰伸, 倉智 嘉久 薬物誘発性不整脈の発生危険度予測システムの開発 *生体医工学* 48(1), 106-114, 2010. 査読有
- ⑥ Hiroshi Hibino, Atsushi Inanobe, Kazuharu Furutani, Shingo Murakami, Ian Findlay, Yoshihisa Kurachi. Inwardly rectifying potassium

channels: their structure, function and physiological roles *Physiological review* 90, 291-366, 2010. 査読有

〔学会発表〕(計 16 件)

- ① 村上慎吾, 倉智嘉久 心筋 Ca^{2+} シグナル制御の統合的システムバイオロジー 第 89 回日本生理学会大会 松本 2012/3/29,
- ② 村上慎吾, 倉智 嘉久 アセチルコリン誘発性カリウム電流の短期脱感作の機序と生理的役割のモデル検討 第 85 回日本薬理学会年会 京都 2012/3/15
- ③ 村上慎吾, 倉智 嘉久 アストロサイトモデルによるカリウムバッファリングの検討第 85 回日本薬理学会年会 京都 2012/3/14
- ④ Shingo Murakami, Yoshihisa Kurachi Modeling mechanism and physiological role of short term desensitization of cardiac K_{ACh} current. The 1st HD Physiology International Symposium: Integrative multi-level systems biology for in silico cardiology and pharmacokinetics. Tokyo, Japan, 2012/1/21
- ⑤ Shingo Murakami, Yoshihisa Kurachi Simulation analysis on potassium buffering and water transport in astrocyte. The 1st HD Physiology International Symposium: Integrative multi-level systems biology for in silico cardiology and pharmacokinetics. Tokyo, Japan, 2012/1/21
- ⑥ 村上慎吾, 倉智嘉久 アセチルコリン感受性カリウム電流における short term desensitization の機序の検討 生理研研究会心血管イオンチャネル・トランスポーター研究の新展開: 基礎研究と臨床研究の融合 岡崎 2011/11/29
- ⑦ Shingo Murakami, Yoshihisa Kurachi. simulated potassium buffering and transport in an a s t r o c y t e m o d e l. 7th Congress of the Federations of Asian and Oceanian Physiological Societies (FAOPS), Taiwan 2011/9/11-14.
- ⑧ Shingo Murakami, Atsushi Inanobe, Yoshihisa Kurachi. Modeling short term desensitization in cardiac K_{ACh} current. 7th Congress of the Federations of Asian and Oceanian Physiological Societies (FAOPS), Taiwan 2011/9/11-14.
- ⑨ 村上慎吾, 倉智嘉久 アストロサイトモデルによるカリウムバッファリング・輸送の解析 第 119 回薬理学会近畿部会 名古屋 2011/7/8
- ⑩ 村上慎吾, 倉智嘉久 G 蛋白質サイクルモデルによる short term desensitization の解析 新学術領域研究「統合的多階層生体機能学領域の確立とその応用」平成 23 年度領域全体会議 大阪 2011/6/19-20
- ⑪ 村上慎吾, 倉智嘉久 アストロサイトにおけるカリウムバッファリングと輸送のモデル 第 88 回日本生理学会大会第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会合同大会 横浜 2011/3/28-30 (地震により誌上開催)
- ⑫ 村上慎吾, 倉智嘉久 アストロサイトにおけるカリウムバッファリングと輸送のモデル 第 84 回日本薬理学会年会 横浜 2011/3/22-24 (地震により誌上開催)
- ⑬ 村上慎吾, 倉智嘉久 Astrocyte model for analysis of water and ion transport イオン・水輸送の解析のためのアストロサイトモデル BioSuperComputingSymposium 神戸 2011/2/21-22, 発表日 2011/2/22
- ⑭ 日比野 浩, 任 書晃, 村上 慎吾, 鈴木敏弘, 久 育男, 倉智 嘉久 Modeling of ion-transport in stria vascularis and hair cells couples the cochlear K⁺-circulation to the endocochlear potential 内耳血管条と有毛細胞のイオン輸送のモデル化による蝸牛内高電位と K⁺ 循環の共役関係 BioSuperComputingSymposium 神戸 2011/2/21-22, 発表日 2011/2/22
- ⑮ 村上慎吾, 河津俊宏, イアンフィンドレイ, 鈴木慎悟, 赤羽悟美, 野村泰伸, 倉智嘉久 心筋細胞の L 型 Ca²⁺チャネルの不活性化モデル 生理研研究会「シグナル伝達の動的理解を目指す新戦略」プログラム 岡崎 2010/9/30-10/1, 発表日 2010/10/1
- ⑯ 村上慎吾, Tongsheng Zhang, 廣瀬明, Yoshio Okada 海馬及び新皮質における細胞レベルでの脳波発生機序の解明 Neuro2010 神戸 2010/9/2-9/4, 発表日 2010/9/2

〔図書〕(計 1 件)

- ① Shingo Murakami, Yoshihisa Kurachi. Mechanisms of action of antiarrhythmic drugs in ventricular Arrhythmias. In "Electrical diseases of the heart: Genetics, mechanisms, treatment, prevention. 2nd edition" (Gussak I, Antzelevitch C, eds.) Springer-Verlag, London, 印刷中, 2012

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村上 慎吾 (MURAKAMI SHINGO)
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号：40437314

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：