

博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

上総勝之より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号甲第 510 号

学位申請者 : 上 総 勝 之

主 論 文 : Effects of pH on Nifekalant-Induced Electrophysiological Change Assessed in the Langendorff Heart Model of Guinea Pigs

(モルモットランゲンドルフ灌流心標本を用いての抗不整脈薬 nifekalant の心臓電気生理学的作用に及ぼす pH の影響)

著 者 : Katsuyuki Kazusa, Yuji Nakamura, Yudai Watanabe, Kentaro Ando, Atsushi Sugiyama

公 表 誌 : Journal of Pharmacological Sciences 124 (2) : 153-159, 2014

論文内容の要旨 :

Nifekalant は難治性の心室性頻拍の治療に用いられるⅢ群抗不整脈薬であるが、副作用として QT 間隔の過度の延長による torsade de pointes の発現が報告されている。この副作用は主に代謝性アシドーシスや急性腎不全、電解質異常などの重篤な状態からの回復期に見られる。Nifekalant の投与により心室頻拍が停止した後、全身循環が完全に回復するまでの間に体内の各臓器は低い pH の血流に曝される。細胞外 pH の変化は細胞膜の各種ポンプや輸送担体、イオンチャネルを介して心筋細胞の電氣的活動に影響することが知られることから、nifekalant の副作用が発生する一因として血液 pH の変化が関与している可能性が考えられる。今回我々は、pH が nifekalant による電気薬理学的作用や催不整脈性に及ぼす影響に関して、細胞外環境を任意に調節できるランゲンドルフ灌流心を用いて検討した。動物種については、モルモットの心筋細胞に発現するイオンチャネルは I_{to} チャネルを除きヒトと類似することから、モルモットを利用した。

実験 1 として、薬剤の存在しない状態で灌流液の pH を 7.4 から 6.4 (酸性) に低下させ、30 分後に再び 7.4 に戻し、第 II 誘導心電図 (ECG)、洞調律下および電気刺激ペーシング下 (200、240 および 300 bpm) での単相性

活動電位 (MAP)、有効不応期 (ERP) および再分極終末相 (TRP) の推移をそれぞれ観察した。その結果、pH6.4 の灌流液への暴露により MAP の第 II 相の amplitude が低下した他、pH 低下直後に MAP₉₀ および ERP が一過性に短縮した。実験を通じて TRP に変化は認められなかった。ECG の T 波形は pH 変化により形状が大きく変化したため、再分極時間の正確な評価には MAP が適切であると考えられた。pH 低下後の MAP の amplitude 低下は過去の報告と一致し、MAP プラトー相における Ca²⁺流入の低下に起因する可能性が考えられた。一方、MAP₉₀ は酸性条件で延長・短縮の両方向に変化しうることが報告されている。酸性条件ではプロトンが I_{Kr} や I_{Ca} チャネルと結合し各イオン電流を抑制する他、ATP 産生の低下により ATP 依存性 K⁺チャネルが活性化することが報告されており、様々な要因が複合的に関与することから、実験手法による差異が生じるものと考えられた。

実験 2 として、pH7.4 で安定させた標本を pH6.4 の灌流液に 20 分間暴露し、次に pH6.4 の状態で 10 μM の nifekalant を 20 分間投与し、最後に同薬剤濃度のまま pH を 7.4 に正常化し、このときの ECG、MAP、ERP および TRP への影響を観察した。更に、心室の再分極時間の時間的ばらつきの指標である short term variability (STV)、long term variability (LTV) および coefficient of variation (CV) を評価すべく、各時点の連続する 30 拍の MAP 波形の beat-to-beat 解析を行った。その結果、pH6.4 における nifekalant の適用によって MAP₉₀ および ERP が延長し、pH の正常化によりそれぞれが更に延長した。ECG は各操作後に T 波の形状が大きく変化した。このように酸性条件において nifekalant の薬理的効果が減弱する原因について、以下のように考察した。Nifekalant の PKa は 7.9 であることから、pH6.4 においてはイオン化した分子が増加し、脂質膜の I_{K1} チャネルへの薬剤の到達率が低下すると考えられた。また、酸性下で増加したプロトンが I_{Kr} チャネルに直接結合し、薬剤のチャネルへの結合を競合的に阻害することが報告されている。今回の結果は、これらの要因が関与しているものと考えられた。Beat-to-beat 解析の結果、MAP₉₀ の STV は pH6.4 での薬剤投与後に最高値を示し、LTV および CV についても、統計学的に有意ではなかったものの、同様の傾向が認められた。このことから、心室再分極過程の時間的ばらつきが酸性条件下における nifekalant の投与によって増大し、torsade de pointes の trigger の発生リスクが特に高まることが示唆された。一方、薬剤存在下での pH の正常化によって MAP₉₀ と ERP が更に延長したのに対し、TRP は維持されていた。この状態においては、周囲の細胞からの不定期な刺激への反応性、つまり電氣的受攻性が高い状態であることが示唆された。

以上の結果から、nifekalant 投薬後の虚血再灌流時においては、アシドーシスの改善に伴い電氣的受攻性が増大し、時間的ばらつきも残存していることにより、不整脈発症リスクが特に高まると考えられた。

1. 論文審査の要旨および担当者

学位番号甲第 510 号	氏 名	上 総 勝 之
論文審査担当者	主 査	池 田 隆 徳
	副 査	杉 薫
	副 査	東 丸 貴 信
	副 査	並 木 温
	副 査	渡 邊 善 則
<p>論文審査の結果の要旨 :</p> <p>難治性の心室頻拍の治療薬として nifekalant がある。本薬剤は Vaughan Williams 分類のⅢ群に分類される抗不整脈薬であり、I_{Kr} チャンネルを選択的に遮断することで強力な抗不整脈作用を発揮する。心電図では QT 間隔の延長が認められるため、副作用として torsade de pointes (TdP) の発現が危惧される。以前から代謝性アシドーシスや電解質異常などが TdP の発現に関与することが知られていたが、詳しいメカニズムは解明されていなかった。本研究では、細胞外 pH の変化が細胞膜のイオンチャンネルなどを介して nifekalant による心筋細胞の電気生理学的活動に影響すると考え、それを細胞外環境を任意に調節できるモルモットランゲンドルフ灌流心を用いて評価した。実験 1 として薬剤が存在しない状態で、灌流液の pH を 7.4 から 6.4 (酸性) に低下させ再び 7.4 に戻したところ、pH6.4 の灌流液において単相性活動電位 (MAP) の第Ⅱ相の amplitude が低下したほか、pH 低下直後に MAP_{90} および有効不応期 (ERP) が一過性に短縮した。このように、灌流液の pH の変化は心筋細胞の電気生理学的活動に影響することが示された。次に実験 2 として、灌流液の pH を 7.4 から 6.4 に低下させ、10 μM の nifekalant を投与し、再び pH を 7.4 に正常化させたときの影響を観察した。その結果、pH6.4 での nifekalant の投与によって心電図上の QT 間隔の延長が求められ、MAP_{90} と ERP も延長した。pH の正常化によりそれぞれがさらに延長した。再分極終末相 (TRP) には変化は認められなかった。以上のことから、酸性条件下 (アシドーシスの状態) での nifekalant の使用は、維持期における TdP の発現リスクを高めることが示された。</p> <p>平成 26 年 8 月 26 日に開催された公開審査において、研究要旨をプレゼンテーションした後、内容について活発な質疑応答がなされた。質問として、本研究における実験モデルの妥当性、pH を再び正常化させたときに MAP_{90} がさらに延長するメカニズム、pH6.4 をなぜ酸性条件としたのかの理由、nifekalant の投与量の適切性、他のⅢ群薬への本結果の適応性、電解質の変化を評価しなかったことの理由、pH7.4 で nifekalant を投与し pH6.4 とした場合の結果の推察などが、主査および副査から申請者に投げかけられた。それらすべての質問事項に対して、申請者は適切かつ論理的に返答した。以上のことから、pH の変化に対する nifekalant の心臓電気生理学的作用への影響を評価した本研究の意義は大きく、本論文は学位に値するとの結論に達し、公開審査を終了した。</p>		