

東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	電気的リモデリング存在下で強力な心房有効不応期の延長作用を示す薬物の薬理学的特性に関する研究
作成者（著者）	千葉, 俊樹
公開者	東邦大学
発行日	2016.10
掲載情報	東邦大学大学院薬学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨. 62.
資料種別	学位論文
内容記述	主査: 高原 章
著者版フラグ	none
報告番号	32661甲第815号
学位授与年月日	2016.10.27
学位授与機関	東邦大学
メタデータのURL	https://mylibrary.toho-u.ac.jp/webopac/TD58392688

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

【背景・目的】

心房細動は臨床で頻繁に遭遇する不整脈の1つとして知られている。心房細動発生時に生じる左房内血栓により心原性脳梗塞をはじめとする血栓症のリスクが高まるため、治療的意義が極めて大きい疾患と位置付けられている。心房細動は、発作と自然停止を繰り返す発作性から年間約5.0~8.6%の率で慢性化し、5年で約25%が除細動不能な永続性心房細動に移行すると報告されている。心房細動が持続性を獲得するメカニズムとして、電氣的リモデリングと呼ばれるイオンチャネルの発現量および機能的な変化による心房有効不応期 (atrial effective refractory period; AERP) の短縮が重要視されている。心房細動では、心房内に空間的・時間的に変動する複数のリエントリーが成立しており、心房は統率のない高頻度 (250~350拍/分またはそれ以上) の興奮に陥っているが、電氣的リモデリングによるAERPの顕著な短縮は、リエントリーを維持しやすい電氣的環境をもたらす。したがって、心房細動に対する抗不整脈薬による治療では、AERPの薬理学的修飾が重要な意義を持つことが知られている。

本邦の心房細動治療ガイドラインにおいて、ピルジカイニドに代表される強力なNa⁺チャネル遮断薬は、発作性心房細動に対する除細動薬として推奨されている。一方、これら抗不整脈薬の除細動効果は、心房細動持続時間が長くなるほど低下することが知られている。持続性心房細動に対する除細動薬として推奨されているものはマルチチャネル遮断薬のベプリジルのみであるが、その除細動効果も限定的と報告されている。持続性心房細動が抗不整脈薬に対して抵抗性を示す機序として、電氣的リモデリングの進行が薬物のAERP延長作用に影響を与えていることが考えられるが、その詳細は明らかではない。これまで心房筋の電氣的リモデリング予防に関する研究が多く報告されてきたが、治療的観点に立ち、電氣的リモデリング形成後に抗不整脈薬の応答性を検討した研究報告は少なく、その評価条件も統一されていないため電氣的リモデリングと薬物応答性に関する全体像が不明確である。したがって、慢性化した心房細動を停止することができる新しい薬物の機序を見出すためには、持続性心房細動に伴う電氣的リモデリングを反映している心房筋を用いて系統立てた薬物評価の実施が必要である。

本研究ではこれらの点を明らかにするため、以下の研究を行った。まず第1章では、心房高頻度刺激法により心房筋が電氣的にリモデリングされAERPが短縮した動物モデルを作製した。第2章では作製したモデル動物を用いて既存抗不整脈薬のAERP延長作用を、第3章では新たな機序によって抗心房細動作用を発揮すると考えられている薬物のAERP延長作用を健常ウサギと比較検討した。

【実験方法】

雄性NZWウサギを用いた。麻酔開胸下で左心房と左心室に電気刺激及び記録用の電極を装着して閉胸した。このウサギにカテーテル焼灼法を適用して完全房室ブロックを作成し、洞調律に近い180 beats/minで心室を駆動した。ウサギの心房に高頻度刺激 (600 beats/min) を与える群 (Rapid Atrial Pacing : RAP群) と心房刺激を施行しない群 (control群) の2群に分け、RAP群のウサギには2~4週間にわたり継続して高頻度刺激を与えた。高頻度刺激終了直後の時点で心臓電気生理学的評価及び血行動態評価を麻酔下で実施し、左心房にバーストペーシング (900 beats/min) を与えることで心房細動の誘発性を検討した。評価薬物は耳介静脈より10分間かけて投与し、心房の電気生理学的指標に与える作用を2群間で比較検討した。

【本論】

第1章：心房筋が電氣的にリモデリングされたモデル動物の作製及び特性解析

〈目的〉電氣的リモデリングが抗不整脈薬のAERP延長作用に及ぼす影響を評価するにあたり、心房高頻度刺激法を用いて電氣的リモデリングによってAERPが短縮した動物モデルを作製する。また、持続性心房細動患者の心房筋では、ムスカリン受容体依存的に活性化される受容体依存型 $I_{K,ACH}$ の電流密度の減少と、受容体非依存的で恒常的に活性化されている恒常的活性型 $I_{K,ACH}$ の電流密度の増加が報告されていることから、本モデルにおいても同様な機能的変化が生じているか否かを $I_{K,ACH}$ 作用薬を用いて明らかにする。

〈結果・考察〉RAP群のAERPはcontrol群に比べて短いことが示され（表1）、RAPにより本モデルで心房に電氣的リモデリングが生じていることが確認された。また、RAP群では心房細動発現率が高く、心房細動持続時間が長く、AERP短縮によるリエントリーの安定化が心房細動の持続に關与する可能性が考えられた。Control群とRAP群との間でP波幅に有意差が認められておらず、RAPにより心房内の伝導障害や心房拡大は生じていないと考えられる。本モデルにおける $I_{K,ACH}$ の關与を明らかにするため、受容体依存型 $I_{K,ACH}$ を活性化するACh (0.15 mg/kg) を投与したところ、control群ではAERPが有意に短縮したが、RAP群ではAERPの短縮作用を認めなかったことから（図1A）、本モデルの心房筋では受容体依存型 $I_{K,ACH}$ の機能が低下していると考えられた。一方、恒常的活性型 $I_{K,ACH}$ 遮断作用を有するテルティアピン-Qはcontrol群及びRAP群のAERPを延長させ（図1B）、その延長作用の程度はcontrol群に比べRAP群で有意に大きいという結果が得られた。

以上の結果より、心房高頻度刺激法を用いて作製した本モデル動物は電氣的リモデリングが生じてAERPが短縮し、持続性心房細動患者の心房筋と類似した $I_{K,ACH}$ の特性を有していることが明らかとなった。

表 1 血行動態及び電氣生理学的パラメーター

Parameters	Control	RAP
Mean blood pressure (mmHg)	76 ± 1	77 ± 1
Atrial rate (bpm)	207 ± 7	190 ± 7
P-wave duration (ms)	38 ± 1	39 ± 1
QT interval (ms)	172 ± 2	175 ± 3
AERP CL=250 (ms)	76 ± 1	56 ± 1***
AERP CL=200 (ms)	77 ± 1	58 ± 1***
AERP CL=150 (ms)	77 ± 1	60 ± 1***
AF inducibility (%)	3 ± 2	57 ± 5***
AF duration (s)	0.1 ± 0.0	3.4 ± 0.9**

** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ (vs control)
Control 群 n=32、RAP 群 n=24

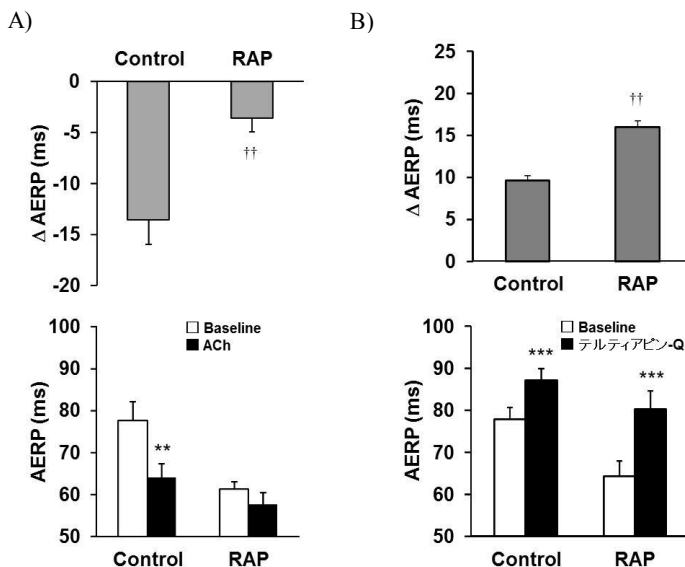


図 1 RAP が心房における $I_{K,ACH}$ 作用薬の効果に及ぼす影響

A) ACh の AERP 短縮作用

上段：ACh による AERP の変化量、下段：実測値、各群 n=5

B) テルティアピン-Q の AERP 延長作用

上段：変化量、下段：実測値、各群 n=5

基本刺激周期=200 ms、** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ (vs Baseline)、†† $P < 0.01$ (vs control)

第2章：電氣的リモデリングが既存抗不整脈薬のAERP延長作用に及ぼす影響の検討

〈目的〉臨床で心房細動に対する有効性が明らかにされている既存抗不整脈薬が第1章で作製したモデル動物におけるAERPに与える作用を検討し、既存抗不整脈薬の臨床効果と本モデルでの有効性との関係性を明らかにする。評価薬物として、持続性心房細動治療薬として唯一推奨されており I_{Ca} 、 I_{Na} 及び複数のKチャンネルに作用するマルチチャンネル遮断薬であるベプリジル、ベプリジルよりも持続性心房細動に対する効果が劣るものの臨床成績が知られているマルチチャンネル遮断薬であるアミオダロン、 I_{Kr} 遮断薬である dl -ソタロール及び $I_{Kr}+I_{Ks}$ 遮断薬であるアジミライドを用いた。

〈結果・考察〉ベプリジル (1 mg/kg)、アミオダロン (10 mg/kg) 及び dl -ソタロール (6 mg/kg) はcontrol群及びRAP群においてAERPを有意に延長させた (図2)。その作用の程度はcontrol群とRAP群間で同程度であり、本モデルにおける電氣的リモデリングはこれら薬物のAERP延長作用に影響を与えないと考えられた。一方、アジミライド (3 mg/kg) は他の薬物と同様にcontrol群及びRAP群においてAERPを有意に延長させたが、その作用の程度はcontrol群に比べ、RAP群で有意に低値であった。

以上の結果より、心房筋の電氣的リモデリングは既存抗不整脈薬のAERP延長作用の程度を変化させない、もしくは減弱させることが明らかとなった。RAP群でAERP延長作用が観察されたが、control群と同程度もしくはそれ以下の延長作用では臨床で持続性心房細動に対し心房細動停止効果を示すには不十分である可能性が考えられた。

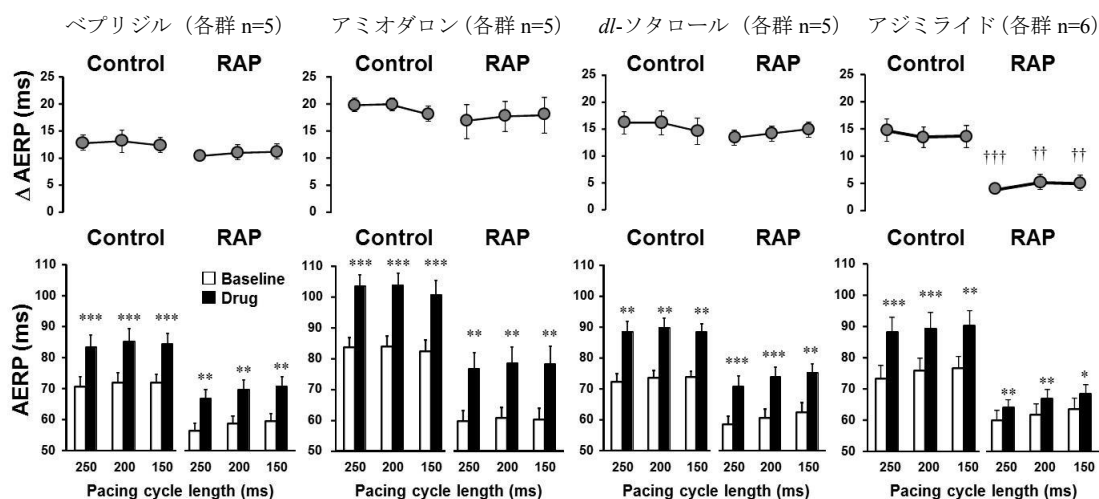


図2 ベプリジル、アミオダロン、 dl -ソタロール及びアジミライドのcontrol群とRAP群におけるAERP延長作用
* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ (vs Baseline)、†† $P < 0.01$; ††† $P < 0.001$ (vs control)

第3章：電氣的リモデリングが新規薬物のAERP延長作用に及ぼす影響の検討

〈目的〉心房細動停止効果が報告されている新規薬物の中に、既存抗不整脈薬の主とする作用標的以外のチャンネルサブタイプに強く作用するものが知られている。本章では電氣的リモデリングがこれら薬物のAERP延長作用を増強させるか否か明らかにする。評価薬物として、 I_{Na} 及び複数の K^+ チャンネルに作用するが I_{Kur} を主な標的とするベルナカラント (心房細動治療薬)、late $I_{Na}+I_{Kr}$ 遮断薬であるラノラジン (慢性狭心症治療薬)、詳細な作用点はまだ不明な点が多くあるものの $I_{K,ACh}$ 及び I_{Kr} 遮断作用が知られているオセルタミビル (インフルエンザ治療薬) を用いた。

〈結果・考察〉ベルナカラント (3 mg/kg) は、control群及びRAP群においてAERPを有意に延長させたが、control群とRAP群の間でAERP延長作用の程度に差は認められなかった (図3)。持続性心房細動患者や心房高頻度刺激イヌの心房筋では、 I_{Kur} は電氣的リモデリングによる修飾を受けないことが報告さ

れており、本研究においても同様の結果が得られたと考えられる。ラノラジン（10 mg/kg）は control 群において刺激周期が 150 ms 時のみ有意に AERP を延長させたが、RAP 群ではいずれの刺激周期においても有意に AERP を延長させ、ラノラジンの AERP 延長作用の程度は control 群に比べ RAP 群で有意に高値であった。ラノラジンは late I_{Na} 遮断作用に加え I_{Kr} 遮断作用も併せ持ち、late I_{Na} 遮断は活動電位持続時間を短縮させ、 I_{Kr} 遮断は活動電位持続時間を延長させることから、双方の作用のバランスにより活動電位持続時間が変化すると考えられる。また、late I_{Na} 遮断による活動電位持続時間の短縮作用は活動電位持続時間が長いほど大きくなる特性を有している。RAP 群でラノラジンによる AERP 延長作用が増強した機序として、RAP により活動電位持続時間が短縮することで活動電位再分極相における late I_{Na} の寄与が小さくなった結果、ラノラジンの I_{Kr} 遮断作用が顕在化した可能性が考えられた。オセルタミビル（10 mg/kg）は、control 群及び RAP 群において AERP を有意に延長させたが、その程度は RAP 群で有意に高値であった。オセルタミビルは、 $I_{K,ACH}$ と I_{Kr} に対する遮断作用を有することが知られている。本モデルの心房筋では、第 1 章で明らかにしたように恒常的活性型 $I_{K,ACH}$ の機能が亢進している可能性が示唆されており、オセルタミビルは恒常的活性型 $I_{K,ACH}$ 遮断作用によって AERP 延長作用を増強させた可能性が考えられた。本章における研究結果より、電氣的リモデリングの存在下で AERP 延長作用を増強させる薬物の存在を明らかにすることができた。

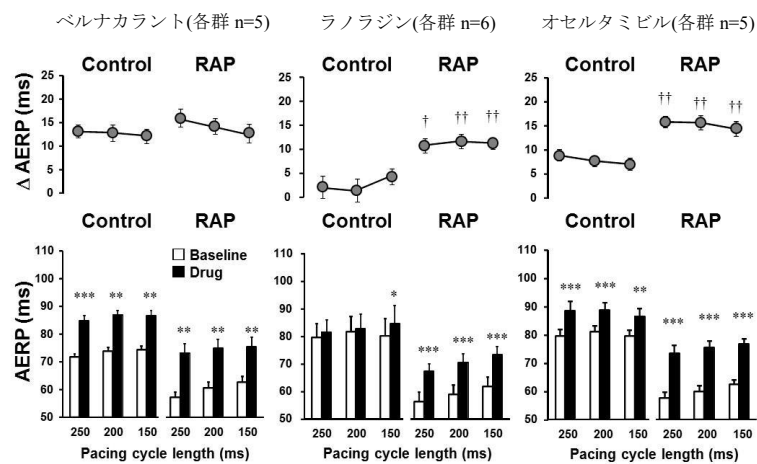


図3 ベルナカラント、ラノラジン及びオセルタミビルの control 群と RAP 群における AERP 延長作用
 * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ (vs Baseline)、† $P < 0.05$; †† $P < 0.01$ (vs control)

【結語】

心房に対する高頻度刺激で生じた電氣的リモデリングにより AERP が短縮した動物モデルを作製し、薬物の AERP 延長作用を系統立てて評価した。その結果、AERP 延長作用を強力に示す薬物としてラノラジンとオセルタミビルを見出した。Late $I_{Na} + I_{Kr}$ 遮断作用または恒常的活性型 $I_{K,ACH}$ 遮断作用は、電氣的リモデリングが生じた心房筋において AERP 延長作用を顕在化する機序として有望であることを示している。本研究による成果が、心房筋が電氣的にリモデリングされた心房細動患者に対する薬物選択の方向性に関する情報を提供するとともに新規心房細動治療薬の研究開発に貢献することが期待される。

○対象論文

Toshiki Chiba, Naoto Kondo, Akira Takahara. Influences of rapid pacing-induced electrical remodeling on pharmacological manipulation of the atrial refractoriness in rabbits. J Pharmacol Sci. 130 (3) p.170-176, 2016.

論 文 審 査 結 果

千葉俊樹氏 学位論文

「電氣的リモデリング存在下で強力な心房有効不応期の延長作用を示す薬物の薬理学的特性に関する研究」

心房細動は心原性脳梗塞のリスクを回避する上で治療的意義の高い疾患の1つである。抗不整脈薬による心房細動の停止効果は、不整脈の持続時間が比較的短いとされる発作性心房細動の場合には期待できるものの、心房細動が慢性化すると薬物治療抵抗性を示すことが知られている。心房細動が持続した状態を実験的に模倣した状態にある心房筋の電気生理学的特性を調べると、心房有効不応期が短縮しており、不整脈の持続に関与するリエントリーを維持しやすい電氣的環境をもたらすことが明らかにされている。この機序として、電氣的リモデリングと呼ばれるイオンチャネルの発現量の増減やチャネル機能の変化が関与することが示されている。近年までに取り組みされてきた新規抗心房細動薬の開発では、超急速活性化遅延整流 K^+ 電流 (I_{Kur}) を制御するイオンチャネルに代表されるような心房筋特異的に発現しているイオンチャネルの抑制薬が創薬標的にされ、心房有効不応期の延長作用を有する薬物に関する研究が進められてきた。しかしながら十分な臨床効果が得られなかったため、このような薬物の臨床開発は進んでいない。そこで千葉氏は創薬標的にすべきイオンチャネルを見出すことを目的に、持続性心房細動の病態を反映した新たなスクリーニングモデルの構築を行うことを計画し、以下の検討を行った。第1章における研究では、ウサギを用いたスクリーニングモデルの構築を行い、本モデルの特性を検証した。第2章では作製したモデル動物を用いて既存抗不整脈薬の心房有効不応期延長作用を検討し、第3章では新たな機序によって抗心房細動作用を発揮するとことが期待されている薬物の心房有効不応期延長作用を健常ウサギと比較検討した。

第1章では心房高頻度刺激法をウサギに適用し、電氣的リモデリングによって心房有効不応期が短縮した動物モデルを作製し、このモデルが有する病態生理学的特性を検討している。心房細動を模倣するために心房に与えた電気刺激の頻度を 600 beats/min とし、これを数日間にわたりウサギに与えたところ、房室結節伝導能の良い個体では心室拍動数が高くなるために急性心不全で死亡する個体が多数出現することが検討を進める中で明らかになった。そこで、完全房室ブロック術をウサギに施し、予め心室に留置していた電極を介して電気刺激をすることで心臓の駆動を行いながら心房を2週間にわたり高頻度刺激する手法を開発したところ、死亡する個体が激減して安定した実験データを取得することが可能となった。本モデルの心房有効不応期は健常動物に比べて有意に短縮していることに加え、恒常的活性型アセチルコリン感受性カリウム電流の機能亢進と受容体依存型アセチルコリン感受性カリウム電流の機能低下が認められ、持続性心房細動患者の心房筋で観察されている現象を反映したモデル動物であることが本章の研究により示された。

第2章では、第1章で作製したモデル動物を用いて、臨床で心房細動に対する有効性が明らかにされている既存抗不整脈薬が心房有効不応期に与える作用を検討し、既存抗不整脈薬の本モデルでの効

果と臨床作用との関係性を明らかにすることを目的に実験を進めている。評価薬物として用いたベプリジルは Ca^{2+} 、 Na^{+} および複数のサブタイプの K^{+} チャンネルに作用するマルチチャンネル遮断薬であり、本邦の心房細動治療ガイドラインにおいて持続性心房細動治療薬として唯一推奨されている薬物である。検討の結果、ベプリジルは本モデルと健常モデルで心房有効不応期を延長させる作用を示したものの、延長作用の程度は両者で同程度であることが判明した。臨床におけるベプリジルの心房細動に対する除細動効果は 34-58% と報告されているため、慢性化した心房細動に対してベプリジルより有効な薬物の要件として、健常モデルに比べて強力な心房有効不応期延長作用が必須と考えられる。マルチチャンネル遮断薬のアミオダロンや K^{+} チャンネル遮断薬の dl-ソタロールの作用もベプリジルと同程度の効果であったことから、臨床におけるアミオダロンや dl-ソタロールの有効性の限界が本モデル動物でも反映されたものと考えられる。

第 3 章では、既存抗不整脈薬と異なる機序により抗心房細動効果を発揮することが期待されている薬物の効果を検討している。本章における検討で、慢性狭心症の治療薬として米国で承認されているラノラジンとインフルエンザ治療薬として知られているオセルタミビルが心房有効不応期延長作用を有することが明らかにされ、本モデル動物で観察されたこの作用は健常ウサギにおける作用と比べて強力であることが見出された。第 2 章で検討した臨床使用されている抗不整脈薬の主作用機序は急速活性化遅延整流 K^{+} 電流 (I_{Kr}) を制御するイオンチャンネルの抑制であるが、ラノラジンとオセルタミビルの効果は、第 2 章で検討した薬物に比べて強力であり、慢性化した心房細動に対する高い有効性が期待されるものである。ラノラジンは I_{Kr} 遮断作用に加えて遅い Na^{+} 電流に対する抑制効果を有している薬物であり、オセルタミビルは I_{Kr} 遮断作用に加えて恒常的活性型アセチルコリン感受性カリウム電流に対する抑制効果を有することが明らかにされている。持続性心房細動患者の心房筋で、恒常的活性型アセチルコリン感受性カリウム電流の機能亢進が観察されていることから、オセルタミビルを用いて得られた研究成果は今後の臨床応用への基軸となることが大いに期待できる。

千葉氏による一連の研究成果は、これまで臨床上の問題点とされてきた持続性心房細動に対する薬物治療の限界に対する打開策になることが大いに期待できるものであり、新しい創薬ターゲットを見出す方法論について新たな情報を提供していることから、価値ある知見を与え得るものと考えられる。以上より、千葉氏の申請論文を博士（薬学）の授与に値するものと判断する。

平成 28 年 9 月 21 日

高原 章