新規心房細動治療薬としての選択的 アセチルコリン感受性 K^+ チャネル遮断薬の有用性

橋本 哲郎

要約：心房細動は臨床で最も頻繁にみられる不整脈の1つであり、心原性脳梗塞、血栓塞栓症および心不全の重要な危険因子である。加齢とともに罹患率が増加することから、高齢化社会において対処が必要な疾患として認識されている。心房細動の薬物治療には刺激伝導抑制や有効不応期延長を引き起こす Na^+ チャネル遮断薬 (I 群抗不整脈薬) や K^+ チャネル遮断薬 (III 群抗不整脈薬) が用いられている。しかしながら、これら既存の薬剤は心房に作用して抗不整脈作用を示す一方、心室筋にも同時に作用するため、心収縮力低下作用や心室再分極遅延に基づく催不整脈作用などの副作用が課題となっている。特に、心室再分極相の延長に伴う催不整脈作用は心臓突然死を惹起する重篤な副作用として認識されている。また、これら既存の抗不整脈薬は発作性心房細動患者には比較的高い有効性を示すものの、持続性心房細動患者に対する有効性が低いことが知られており、治療満足度は高くない。そのため、より高い有効性と安全性を有する抗心房細動薬の開発が求められている。理想的な抗心房細動薬に求められる特性は、「心房選択的な作用」と「持続性心房細動に対する高い有効性」と考えられる。アセチルコリン感受性 K^+ チャネル (IK_{ACh} チャネル) は心房に豊富に存在する一方、心室には存在しないことから、心房選択的な作用を有する抗心房細動薬のターゲット分子として期待されている。

はじめに

心房細動は心房筋が1分間に400から600回の頻度で不規則に細かく震える状態をいう。本邦においては約130万人、米国では220万人の患者が存在するといわれており、日常診療では最も頻繁にみられる不整脈の1つである。心房細動の罹患率は加齢とともに増加

することが知られており、米国の統計によると65歳以上で約5%、80歳以上では8%以上の罹患率と報告されている(1)。日本では、2000年の厚生労働省の調査で70歳以上の男性における罹患率は約4%と報告されており、今後、高齢化の進行に伴い、その患者数はさらに増加することが懸念されている。心房細動は心室性の不整脈とは異なり不整脈自体は致死的でないものの、心原性脳梗塞、血栓塞栓症ならびに心不全発症の重要な危険因子であり、Quality of Lifeにも重篤な影響を及ぼす(2)。これらの背景から、心房細動は治療の意義が大きい疾患と考えられている。心房細動を停止させる手段としては、埋め込み型除細動器やカテーテルアブレーションなどの外科的治療法も適用されているが、依然として薬物療法が主流である。薬物による除細動療法には、心房筋に対して刺激伝導抑制を引き起こす Na^+ チャネル遮断薬 (I 群抗不整脈薬) や有効不応期延長を引き起こす K^+ チャネル遮断薬 (III 群抗不整脈薬) などが用いられている。しかしながら、これらの抗不整脈薬は心房筋において抗不整脈作用を示す一方で、心室筋にも同時に作用するため、心収縮力低下作用や心室再分極遅延に基づく催不整脈作用などの副作用が課題となっている。特に、III 群抗不整脈薬による致死性不整脈 *Torsades de Pointes* (TdP) の誘発は心臓突然死に直結するため重大な課題とされている。また、既存の抗不整脈薬は比較的軽微な発作性心房細動にはある程度高い有効性を示すものの、電気的リモデリング (心房筋の電気生理学的特性が変化した状態) が進行した心臓に発生する持続性心房細動には有効性が低いことが知られており、治療満足度は必ずしも高くない。そのため、心房選択的な作用と持続性心房細動に対する高い有効性を示す新規の機序を有する抗心房細動薬の開発が求められている(3)。

キーワード: 心房細動, 抗不整脈薬, アセチルコリン, カリウムチャネル, 有効不応期延長
Nissan Chemical America Corporation (10777 Westheimer, Suite 830, Houston, TX 77042, USA)
E-mail: norio.hashimoto@nissanchem-usa.com 原稿受領日: 2010年5月12日, 依頼原稿
Title: Application of selective acetylcholine-sensitive K^+ -channel blockade as a therapeutic strategy for atrial fibrillation
Author: Norio Hashimoto

心房細動は、自律神経活性や基礎疾患など様々な要因により心房細動受動性の増大した心房筋に、肺静脈などを起源とする期外刺激が加わることで発症する。心房細動受動性を増大する主要な要因の1つに「副交感神経系の活性化」がある。動物モデルを用いた検討により、副交感神経の活性化は心房筋に局在するアセチルコリン感受性 K^+ チャンネル (IK_{ACh} チャンネル) を開口し、心房の有効不応期を短縮させることで心房細動の誘発性を増大させることが報告されている(4)。 IK_{ACh} チャンネルは内向き整流性の K^+ チャンネルの1つであり、GIRK1 と GIRK4 遺伝子にコードされる2種のタンパク質により形成されるヘテロテトラマーである。正常の状態では IK_{ACh} チャンネルは不活性化状態にあり、その電流量は小さいものの、心房細動などの病態ではアセチルコリンやアデノシンにより、それぞれムスカリン M_2 受容体およびアデノシン A_1 受容体を介して活性化される。また、 IK_{ACh} チャンネルは心室に比し、心房において豊富に存在することから、心房選択的な作用を有する抗不整脈薬のターゲット分子として期待されている(5)。さらに近年、持続性心房細動患者の心房筋において受容体非依存的な機序により IK_{ACh} チャンネルが活性化していることを示唆する報告がなされており(6)、その遮断薬が持続性心房細動患者に対して高い有効性を示すことが期待されている。

本稿では IK_{ACh} 遮断薬の薬理学的特性ならびに電気生理学的特性を紹介し、 IK_{ACh} 遮断薬の心房細動治療薬としての有用性について考察する。さらに、選択的な IK_{ACh} 遮断作用を有する低分子化合物の探索経緯について紹介する。

1. 選択的 IK_{ACh} 遮断ペプチドであるテルティアピンの心房選択的な不応期延長作用および心房細動停止効果

心房細動の発症と IK_{ACh} チャンネルの関わりは以前より知られているが、*in vivo* 心臓レベルにおける IK_{ACh} の病態生理学的役割は明らかにされておらず、選択的な遮断薬を用いた検証が必須である。選択的な IK_{ACh} 遮断作用を有する物質としては、テルティアピンが唯一知られている。テルティアピンはヨーロッパミツバチから単離・構造決定されたペプチドで、2つのジスルフィド結合を有する21アミノ酸から構成される。このペプチドは、ウサギの心房筋において IK_{ACh} を $IC_{50} = 30 \text{ nmol/L}$ で遮断する一方、心筋の再分極相に関わる電流成分 (IK_r , IK_s , I_{to} , I_{sus} , IK_1 および IK_{ATP}) および刺激伝導に関わる電流成分 (I_{Na} および I_{Ca}) に対して 300 nmol/L でも有意な変化を示さないことが報告されている(7)。また、イヌ心房筋細胞において

も IK_{ACh} 遮断作用を有することが報告されており(8)、イヌ心房細動モデルに投与した場合にも IK_{ACh} を遮断することが期待できる。そこで、 IK_{ACh} 遮断による抗心房細動効果を明らかにする目的で、テルティアピンの抗心房細動効果および心臓電気生理作用を麻酔イヌモデルで評価した。

心房細動の発症機序は、心房内に多数の電氣的旋回路が形成される「リエントリー型」と洞結節以外の心房筋において異常な興奮が持続的に起こる「異所性自動能亢進型」の2つに大別される。これら2つの機序が複雑に組み合わせることにより心房細動が発症・維持されると考えられている(9)。すなわち、臨床における薬物の有効性を予測するためにはこれら2つのタイプの心房細動モデルに対する作用を検討する必要がある。本稿では、リエントリー型の心房細動モデルとして、頸部迷走神経を刺激することにより心房の有効不応期を短縮させた状態で電気刺激(期外刺激)を加えることで心房細動を惹起する「迷走神経刺激モデル」を、異所性自動能亢進型の心房細動モデルとして、心房筋にアコニチンを塗布することで心房細動を惹起する「アコニチン誘発性モデル」を使用して、薬効評価を行った。

迷走神経刺激モデルとアコニチン誘発性モデルを用いて抗心房細動作用を評価したところ、テルティアピン ($0.01 \sim 0.1 \text{ mg/kg}$) は両モデルにおいて静脈内投与5分以内に心房細動を停止させた(表1)。テルティアピン (0.03 mg/kg) は迷走神経刺激条件下における心房筋の有効不応期を有意に延長した(図1)。このとき心室の有効不応期に影響は与えなかった(10)。また、抗心房細動用量のテルティアピン ($0.01 \sim 0.1 \text{ mg/kg}$) は心電図指標 (PR 時間, QRS 幅および補正 QT 間隔) に影響を及ぼさなかったことから(図1)、心室の再分極相ならびに刺激伝導に対する作用は小さいと考えられた(10)。以上の結果から、 IK_{ACh} 遮断は心房選択的な有効不応期延長作用を有し、複数の機序に基づく心房細動モデルに対して停止効果を示したことから、心房細動に対する治療手段として有望であると考えられた。

2. 低分子プロトタイプ IK_{ACh} 遮断薬 NIP-141 の抗心房細動作用

テルティアピンを用いた検討により、 IK_{ACh} チャンネルが新規の心房細動の治療ターゲットとして有望である可能性が示唆された。しかしながら、テルティアピンはペプチドであり、経口投与ができないことから、心房細動のような慢性疾患に適用することは難しい。そこで、 IK_{ACh} 遮断作用を有する低分子化合物の探索

表1 迷走神経刺激モデル (VNS-induced AF) およびアコニチンモデルに対するテルティアピンの心房細動停止効果 (文献 10 より引用)

Dose (mg/kg)	VNS-induced AF			Aconitine-induced AF	
	Termination of AF	Time to AF termination (s)	AF reinduction	Termination of AF	Time to AF termination (s)
Vehicle	0/4	—	—	0/4	—
0.01	1/5	102	1/1	1/5	137
0.03	5/5 **	88 ± 22	1/5	3/5	49 ± 5
0.1	n.t.	—	—	4/4 *	41 ± 6

n.t. means not tested. Time of AF termination data are expressed as mean ± SEM. ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ vs vehicle-treated group.

(A) 有効不応期延長作用

(B) 麻酔イヌ心電図

図1 麻酔イヌにおけるテルティアピンの有効不応期延長作用 (A) および心電図指標 (B) に対する影響 (文献 10 より引用)

に着手した。初期の探索ステージにおいて、NIP-141を見出した(11)。NIP-141は心不全治療薬候補として見出された化合物であるが、イオンチャネルプロファイル試験の結果 IK_{ACh} 遮断作用 ($IC_{50} = 0.64 \mu\text{mol/L}$)を有することが確認された(12)。一方、心室の再分極相延長作用に関連する IK_r 遮断作用は弱い ($IC_{50} = 44 \mu\text{mol/L}$)ことが報告されている(12)。そこで、NIP-141のアコニチン誘発性モデルに対する作用を検討したところ、10 mg/kgの静脈内投与により心房細動停止効果が認められた(11)。NIP-141は迷走神経刺激モデルにも有効性を示すことが報告されている(13)。また、抗心房細動用量のNIP-141は迷走神経刺激条件下において心房の有効不応期を有意に延長することが報告されていることから(13)、本化合物が心房有効不応期を延長することで抗不整脈効果を示したと考えられた。また、心室の有効不応期には有意な影響を及ぼさなかったことから、心室再分極相の延長作用は弱いことが示唆された。一方で、他のイオンチャネルに対する結合阻害試験を行った結果、本化合物は Na^+ チャネルおよび Ca^{2+} チャネルに対する結合阻害作用を示した(11)。この結果は、抗心房細動用量のNIP-141が麻酔イヌで心収縮力および血圧低下作用を示した成績(14)を支持するものであり、本化合物が既存のI群抗不整脈薬と同様の心室に対する副作用を有する可能性

が示唆された。NIP-141の心室に対する副作用は、テルティアピンの投与では認められなかったことから IK_{ACh} 遮断作用と薬理的に異なる作用に基づくものであると推定することができ、より選択的な IK_{ACh} 遮断作用を有する低分子化合物を探索することで心房選択的な薬剤の創出が可能と考えられた。

3. 新規創出された IK_{ACh} 遮断薬 NIP-151 の心房有効不応期延長作用と心房細動停止効果

NIP-141の課題を克服するために改良研究を行った結果、より選択的な IK_{ACh} 遮断作用を有するNIP-151を見出した(15)。GIRK1/GIRK4発現細胞を用いた検討において、NIP-151はNIP-141と比較して400倍以上強い IK_{ACh} 遮断作用 ($IC_{50} = 1.6 \text{ nmol/L}$)を示す一方、 Na^+ チャネルおよび Ca^{2+} チャネルに対する結合阻害作用は減弱あるいは10倍以内の増強であり、 IK_{ACh} チャネルに対する選択性が向上した化合物である(16)。結果として、NIP-141は心房有効不応期を20ミリ秒延長する投与量において、約40%の血圧低下作用を示したのに対し、NIP-151は心房有効不応期を約40ミリ秒延長する投与量においても血圧には弱い作用しか示さなかった。また、NIP-151の IK_{ACh} 遮断作用強度は、hERG発現細胞における IK_r 遮断作用 ($IC_{50} = 57.6 \mu\text{mol/L}$)と比較して36000倍以上であったことから

(図2), 心室の再分極相に対しても影響を与えないことが期待できる. NIP-151 はアデノシン A_1 受容体およびムスカリン M_2 受容体に対する結合阻害作用を示したが, その作用強度はそれぞれ $IC_{50} = 57.1 \mu\text{mol/L}$ および $IC_{50} = 89.9 \mu\text{mol/L}$ であり, IK_{ACh} 遮断作用の $1/36000$ 以下であったことから, NIP-151 の IK_{ACh} 遮断作用に受容体拮抗作用の関与は少ないことが示唆された.

NIP-151 の抗心房細動薬としての有用性を明らかにするため, 有効不応期に与える影響および心房細動モデルに対する作用を評価し, 強力な IK_r 遮断作用 ($IC_{50} = 110 \text{ nmol/L}$) を有する III 群抗不整脈薬ドフェチライドの作用と比較した. 麻酔イヌを用いた検討において, NIP-151 ($15\text{--}30 \mu\text{g/kg/min}$) は迷走神経刺激条件下において心房選択的に有効不応期を延長し (図3), 迷走神経刺激およびアコニチンにより誘発された心房細動を停止させた (図4, 表2). 一方, ドフェチライド ($3\text{--}10 \mu\text{g/kg/min}$) は心房と心室の有効不応期を有意に延長させたが, 2種の麻酔イヌ心房細動モデルにおいて停止効果を示さなかった (表2). ドフェチライドの心房細動停止効果が低かった原因は, IK_r 遮断薬が一般的に有する逆頻度依存性 (正常の状

態よりも心房細動などの頻脈時に薬効が低下する性質) に基づくものと推測された.

次に, NIP-151 とドフェチライドの心臓に対する副作用を麻酔イヌモデルとウサギ催不整脈モデルで比較した. ドフェチライド ($3\text{--}10 \mu\text{g/kg/min}$) は, 麻酔イヌモデルにおいて心電図 QT 間隔を有意に延長させ, ウサギ催不整脈モデルにおいて致死的な不整脈である TdP を誘発した. 一方, 抗不整脈用量に比べて $10\text{--}30$ 倍高い用量 ($300\text{--}1000 \mu\text{g/kg/min}$) の NIP-151 を用いても, ウサギ催不整脈モデルにおいて TdP は誘発されず, 麻酔イヌモデルで心電図 (PQ 時間, QRS 幅および補正 QT 時間) および循環動態指標 (血圧, 心拍数および心収縮力) に対して最高用量 ($1000 \mu\text{g/kg/min}$) でのみ血圧を変化させた以外に問題となる作用は観察されなかったことから, 心臓での副作用が軽減された薬物であると考えられた. NIP-151 の各種イオンチャネルに対する作用は網羅的に検討されていないものの, IK_{ACh} を 50% 遮断する濃度の約 600 倍 ($10 \mu\text{mol/L}$) でもイヌ心室筋活動電位の指標に影響を及ぼさなかったことから, 立ち上がり速度に関わる電位依存性 Na^+ チャネルや再分極相に関わる K^+ チャネルや Ca^{2+} チャネルに対する作用は弱いことが示唆

図2 NIP-151 の IK_{ACh} および IK_r 遮断作用: (A) 典型的 IK_{ACh} 電流トレース. (B) 濃度反応曲線 (文献 16 より引用)

図3 麻酔イヌ迷走神経刺激条件下における NIP-151 (A) およびドフェチライド (B) の有効不応期延長効果 (文献 16 より引用)

(A) 迷走神経刺激誘発性心房細動モデル

(B) アコニチン誘発性心房細動モデル

図4 各種心房細動モデルにおける NIP-151 の心房細動停止効果 (文献 16 より引用)

表2 迷走神経刺激モデル (VNS-induced AF) およびアコニチンモデルに対する NIP-151 とドフェチライドの心房細動停止効果 (文献 16 より引用)

	VNS-induced AF model				Aconitine-induced AF model		
	Dose ($\mu\text{g/kg/min}$)	Termination of AF	Time to AF termination (s)	AF reinduction	Dose ($\mu\text{g/kg}$)	Termination of AF	Time to AF termination (s)
Vehicle	-	1/10	98	1/1	-	0/5	-
NIP-151	5	4/5 *	525 $\pm$ 25	3/4	10	0/5	-
	15	5/5 **	372 $\pm$ 38	1/5	30	4/5 *	85 $\pm$ 23
					100	5/5 **	76 $\pm$ 15
Dofetilide	3	1/4	793	1/1	100	0/4	-
	10	0/4	-	-			

Time to AF termination data are expressed as mean $\pm$ SEM. ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ vs vehicle-treated group.

された。

以上の結果から、強力な IK_{ACh} 遮断作用を有する NIP-151 は心房選択的な不応期延長作用と抗心房細動作用を有する薬物であり、III 群抗不整脈薬と比べて有効性と安全性の点で優れていることが示唆された。

4. 電気的リモデリングが進行した心房筋における IK_{ACh} 遮断薬の有効不応期延長作用

心房細動はいったん発症すると経過とともに、その持続時間が長くなり最後には恒久化する。Allessie らはこの現象を Atrial fibrillation begets atrial fibrillation (心房細動が新たな心房細動を誘発する) と表現し、短時間でも心房細動を起こした心房筋では、有効不応期の短縮・不均一化および伝導速度の遅延により心房細動が発症・維持され易くなることを報告した(17)。この現象は電気的リモデリングと呼ばれている。電気的リモデリングを起こした心房筋では L 型 Ca^{2+} チャネルの発現が低下し、細胞内に流入するカルシウム量が減少することで心房筋の収縮力が低下する。その結果、心房の拡大や繊維化が進行し、心房細動の重症化ならびに慢性化にはたらく。また、電気的リモデリングに

より影響を受けるチャネルには Na^{+} チャネルや IKr チャネルも含まれることから、既存の抗不整脈薬は電気的リモデリングが進行した心臓に発生する持続性心房細動に対する有効性が低いことが知られている。そのため、持続性心房細動患者に対して高い有効性を示す抗心房細動薬の開発が望まれている。

前述の迷走神経刺激モデルおよびアコニチンモデルは発作性心房細動のモデルである。持続性心房細動モデルとしては、心房を 400 ~ 600 回 / 分の頻度で数日から数週間電気刺激することにより電気的リモデリングを誘発する心房高頻度ペーシングモデルが一般的に使用されている。そこで持続性心房細動に対する有効性を明らかにする目的で、イヌ心房高頻度ペーシングモデルを用いて IK_{ACh} 遮断薬の心房有効不応期に対する作用を評価した。NIP-151 (0.3 mg/kg) およびテルティアピン (0.03 mg/kg) は心房高頻度ペーシングの前後で心房有効不応期を延長させたが、その程度は心房高頻度ペーシング後で有意に大きい値を示した (図 5)。心電図 QT 間隔に対する影響は認められなかったことから、本モデルにおいても心室再分極相に対する IK_{ACh} 遮断薬の作用は少ないことが示唆された。一方、

図5 イヌ心房高頻度ペーシングモデルにおける E-4031 (0.01 mg/kg) と NIP-151 (0.1 mg/kg) の心房有効不応期延長作用

IK_r 遮断作用を有する III 群抗不整脈薬 E-4031 (0.01 mg/kg) も心房高頻度ペーシングの前後で心房有効不応期を延長させたが、心房高頻度ペーシング後の作用はペーシング前の値に比べて有意に小さいものであった (図 5)。E-4031 は心電図 QT 間隔も有意に延長したが、その作用はペーシング前後で変化がみられなかった (18)。

以上の結果から、IK_{ACh} 遮断薬は IK_r 遮断作用を有する III 群抗不整脈薬に比べて持続性心房細動により電気的リモデリングが進行した状態においても高い効力を発揮する可能性が示された。近年、Dobrev らは持続性心房細動患者の心房筋では、受容体刺激非存在下におけるテルティアピン感受性電流成分が洞調律患者および発作性心房細動患者の心房筋に比し増加していることを報告した (6)。また、シングルチャネル・パッチクランプ法を用いた検討においても、受容体刺激非存在下において洞調律患者の心房筋では IK_{ACh} はほとんど観察されないのに対して、持続性心房細動患者の心房筋では IK_{ACh} が多く観察されることを示した。すなわち、持続性心房細動患者では受容体非依存的な機序により IK_{ACh} チャンネルが活性化している可能性が示された (6)。イヌ左心房筋および肺静脈を用いた検討でも同様の報告がなされていることから (19)、我々の研究において IK_{ACh} 遮断薬の有効不応期延長作用が電気的リモデリング後に増強したのは、受容体非依存的な機序により活性化した IK_{ACh} チャンネルを阻害した

ことに基づくものと考えられた。

おわりに

IK_{ACh} 遮断作用を有する物質は心房の有効不応期を延長することにより、心房細動を停止することが示唆された。一方で、心室再分極相や循環動態に対する影響は少なく、既存の抗不整脈薬と比較して安全性が高いことが示された。さらに、持続性心房細動患者に対する有効性が期待される情報も蓄積しつつあることから、IK_{ACh} は新規の抗心房細動薬の治療ターゲットとして有望であると考えられた。

文 献

- 1) Furberg CD, et al. Am J Cardiol. 1994;1:236-241.
- 2) Benjamin EJ, et al. Circulation. 1998;98:946-952.
- 3) Vos MA. J Cardiovasc Electrophysiol. 2004;15:1451-1452.
- 4) Liu L, et al. Am J Physiol. 1997;273:H805-H806.
- 5) Dobrzynski H, et al. J Histochem Cytochem. 2001;49:1221-1234.
- 6) Dobrev D, et al. Circulation. 2005;112:3697-3706.
- 7) Drich MD, et al. Br J Pharmacol. 2000;131:569-577.
- 8) Jin W, et al. Biochemistry. 1985;37:13291-13299.
- 9) Nattel S. Nature. 2002;415:219-226.
- 10) Hashimoto N, et al. Pharmacol Res. 2006;54:136-141.
- 11) Hashimoto N, et al. Europace. 2007;9:246-251.
- 12) Matsuda T, et al. J Pharmacol Sci. 2005;98:33-40.
- 13) Nagasawa N, et al. Circ J. 2002;66:185-191.
- 14) Fujikura N, et al. J Pharmacol Sci. 1999;79 Suppl 1:178.
- 15) Tanikawa K, et al. WO200121610.
- 16) Hashimoto N, et al. J Cardiovasc Pharmacol. 2008;51:162-169.
- 17) Maurits CEF, et al. Circulation. 1995;92:1954-1968.
- 18) Hashimoto N, et al. Circulation. 2007;116:II 139.
- 19) Ehrlich JR, et al. J Physiol. 2004;557:583-597.

著者プロフィール

橋本 哲郎 (はしもと のりお)

Nissan Chemical America Corporation

◇ 1998 年 大阪薬科大学大学院卒, 2009 年 博士 (薬学) 学位取得 (東邦大学), ◇ 研究テーマ: 循環器疾患治療薬の薬理研究, ◇ 著書: Progress in Cardiac Arrhythmia Research (NOVA Publishers, 2008)