〈抄録〉 第23回 日本臨床薬理学会年会 2002年12月10~11日 大阪

安全性薬理における催不整脈評価法 —HERG 電流および心室筋細胞の活動電位に対する 各種薬剤の作用—

永田良一^{*1,2} 深瀬広幸^{*2} 永山伸一^{*1} Gong Qi^{*1}
内村奈央^{*1} 松尾純子^{*1} 鬼頭剛^{*1}

【目的】

本年「ICH 安全性薬理ガイドライン案 (ICH5, S7B)」は Step3 に到達し、昨年6月には厚生労働省から「安全性薬理試験ガイドライン (ICH5, S7A)」が通知された。ガイドラインにおいて重要な項目は、心血管系に及ぼす影響、特に QT 間隔に作用する被験薬の評価である。心臓の再分極に影響を及ぼす化合物は重篤な心室性不整脈を誘発し、最悪の場合には突然死を招くこともある。このような危険性を回避するためにも、新薬開発の早い時期に、被験薬が心室筋の再分極を延長させる性質を持つか否かを評価する定常的な *in vitro* の試験系が求められている。すでに、我々は安全性薬理試験の中で、臨床にリンクできるような QT 延長作用および催不整脈作用の評価方法についての新しいシステムを報告してきた。今回、さらに各種薬剤を用いて whole-cell patch-clamp 法を用いた *in vitro* 評価系を検証した。

【方法】

① HERG 電流試験

HERG 導入 CHO-K1 細胞及び HEK293 細胞を用いた、voltage-clamp mode で HERG 電流を測定した。

② 活動電位試験

麻酔下の雄性モルモット (300~500g) を開胸し、Langendorff 装置を用いて冠動脈の Tyrode 液による灌流を行いながら心臓を摘出した。灌流液を Ca^{2+} -free の Tyrode 液に替え酵素処理を行った。酵素処理後、Kraftbrue (KB) 液で灌流し、その後、左心室筋のみを切り取り、細切しピペティングすることで単一心室筋細胞を作製した。current-clamp mode で誘発した活動電位 (AP: Action Potential) を測定した。

【結果および考察】

催不整脈作用を有する薬剤として注目されている抗ヒスタミン剤 astemizole 及び terfenadine について検討した。遅延整流性 K^+ 電流 (I_{Kr} : 早い成分) の選択的阻害薬 E-4031 と同様に terfenadine 及び astemizole は $3\text{nM} \sim 3\mu\text{M}$ で濃度依存的に HERG 電流を抑制し、 APD_{90} (90%再分極時の活動電位持続時間) においては、terfenadine は $30\text{nM} \sim 1\mu\text{M}$ で、astemizole は

Fig. 1 HERG 電流に対する催不整脈薬 ($3 \times 10^{-6} \text{M}$) の影響

*1 株式会社新日本科学

〒891-1394 鹿児島県鹿児島郡吉田町宮之浦 2438

*2 CPC クリニック

30nM~3 μ M で濃度依存的に延長を示した (Fig 1, 2)。

Fig. 2 活動電位に対する催不整脈薬の影響

催不整脈作用が報告されている($\pm$)-Sotalol (30 μ M) は、HERG 電流においてはわずかな抑制であったが、APD₉₀の延長を示した。

催不整脈作用が報告されていないカルシウム拮抗薬 Verapamil (1 μ M) は HERG 電流を抑制したが、APD₉₀の短縮を示した。最近、臨床において QT 延長及び TdP 発現が報告された H2 ブロッカー famotidine は 1 μ M~100 μ M で HERG 電流を抑制しなかったが、100nM~100 μ M で APD₉₀の延長を示した(Fig 3, 4)。

Fig. 3 HERG 電流に対するFamotidineの影響

以上示したように薬剤によっては、催不整脈作用を持つにもかかわらず、HERG 電流を抑制せず、AP にのみ延長作用を示す薬剤もある。

逆に、催不整脈作用が報告されていないにもかかわらず、HERG 電流は抑制するものもある。

Fig. 4 活動電位に対するFamotidineの影響

しかしながら、verapamil は AP を短縮させることから分かるように、これにより実際は催不整脈作用を示さない。よって、HERG 電流による評価だけでは、催不整脈作用を有する被検薬を見落とししたり、催不整脈作用を持たないにもかかわらず、HERG 電流抑制で開発スケジュールが止まる、または、遅れることが考えられる。従って、patch-clamp 法を用いてイオン電流 (I_{kr}) および AP の両方を測定することで、被験薬の催不整脈作用の有無をよりの確に予測できると考えられる。

今回の報告において、催不整脈作用 (被験薬が心室筋の再分極を延長させる性質を持つか否か) の評価方法についての新しいシステムとして、*in vitro* の電気生理学的試験系では patch-clamp 法 (心室筋の活動電位、イオン電流及び HERG 電流) の両方を組み合わせて用いることが有用であることが示唆された。