

学位論文内容要旨

氏名：野川 央 印

題目：創薬の前臨床段階における薬物誘発性致死的不整脈リスクの *in vivo* 評価法に関する研究

背景・目的：

薬物により誘導される human *ether-à-go-go* related gene (hERG) チャネル阻害及びこれに起因する心電図の QT 間隔延長は、薬物誘発性致死的不整脈 (*Torsades de Pointes* : TdP) のリスクとなることが報告されている。そのため、創薬の前臨床段階における催不整脈リスク評価として、*in vitro* における hERG チャネル直接阻害及び *in vivo* における QT 間隔延長の測定が有用な方法として用いられている。

その一方で、hERG チャネル阻害のメカニズムは直接阻害だけではなく、いくつかの薬物は hERG 蛋白質の細胞膜上の発現を抑制し、実際に臨床において TdP を引き起こすことが報告されている¹⁾。しかしながら、*in vivo* 評価における hERG trafficking 阻害による QT 延長作用に関する情報は少なく、直接阻害と間接阻害の相互作用について検討した報告はほとんどない。

また、hERG チャネル阻害や QT 間隔延長作用を示す薬物のすべてが TdP を誘発するわけではない。例えば、hERG チャネル阻害に加えて L-type Ca^{2+} チャネルを強く阻害する verapamil や hERG チャネル阻害と同程度の Na^{+} チャネル (late 電流) 阻害作用を有する ranolazine は、臨床で低 TdP 催不整脈リスク薬物に分類されている。近年、この催不整脈作用の新指標として J-T_{peak} 間隔が注目されており、hERG チャネルに加えて L-type Ca^{2+} や Na^{+} チャネル (late 電流) を阻害する薬物では、J-T_{peakc} (心拍数により補正した J-T_{peak}) 間隔の延長は QTc (心拍数により補正した QT) 間隔の延長と比較して短いことが臨床において報告されている。しかしながら、前臨床試験での *in vivo* における J-T_{peak} 評価の有用性に関する報告は少ない。

本研究では、薬物誘発性致死的不整脈リスクの *in vivo* 評価における有用性の検証を目的として、(1) hERG trafficking 阻害作用を有する probucol を用いて、覚醒イヌにおける QT 延長作用について検討した²⁾。また、(2) 異なるイオンチャネルを阻害する薬物群を用いて、覚醒モルモットにおける J-T_{peak} 間隔評価の有用性について検討した³⁾。

方法：

(1) 心電図誘導電極を埋め込んだイヌ (Beagle、雄、 $n = 4$) を用いて、probutol (100 mg/kg) の単回及び7日間の反復経口投与、また、moxifloxacin (20 mg/kg) との併用投与における QT 間隔に対する影響についてテレメトリー法により検討した。なお、QT 間隔は心拍数に依存した変動を示すため、本試験ではノイズの少ない心表面心電図誘導法により心電図パラメータを取得し、得られた RR と QT の相関関係を基に個体別の補正式を作成して、高精度な QT 間隔の解析を行った。また、評価には投与後 1-21 時間における QTc 間隔の AUC (Area Under the Curve) 値を用いた。

(2) 心電図誘導電極を埋め込んだモルモット (Hartley、雌、 $n = 6-8$) を用いて、媒体 (0.5% w/v methyl cellulose) 又は異なるイオンチャネル阻害作用を示す 8 つの薬物 (dofetilide (0.1 mg/kg)、flecainide (45 mg/kg)、nifedipine (3 mg/kg)、quinidine (150 mg/kg)、quinine (75 mg/kg)、ranolazine (125 mg/kg)、sotalol (30 mg/kg) 及び verapamil (20 mg/kg)) の単回経口投与における心電図パラメータに対する影響をテレメトリー法により検討した。なお、QT 及び J-T_{peak} 間隔は心拍数 ($= 60 / \text{RR}$) に依存した変動を示すため、RR 変動の影響を補正した QT (QTcX) 及び J-T_{peakc} (J-T_{peakcX}) 値を算出する必要がある。しかしながら、モルモットの J-T_{peak} 補正式に関する報告はほとんどない。そのため本試験では、媒体投与群の RR-QT 及び RR-J-T_{peak} の相関関係を基に新たに最適な補正式を作成して評価に用いた。また、心電図パラメータの各値は薬物投与前値との差 (Δ 値)、さらに、QTcX 及び J-T_{peakcX} については媒体との差 ($\Delta\Delta$ 値) を算出し、評価に用いた。

これらの研究は杏林製薬株式会社の動物実験委員会の承認を得て実施した (承認番号：21-32、18-77/2018、18-172/2019、19-171/2020、19-286/2020、P20-156/2020)。

結果・考察：

(1) 覚醒イヌを用いて Probutol の投与における QTc 間隔に対する作用を検討した結果、単回投与群では、投与 2-4 日後において軽度ではあるが有意な QTc AUC_{1-21 h} の増加が認められた (Fig. 1A)。また、7 日間反復投与群では、時間依存的な QTc 間隔の延長作用が観察され、投与 2-7 日目において有意な QTc AUC_{1-21 h} の増加が認められた (Fig. 1B)。Probutol の単回投与時の最大血漿中濃度は投与 24 時間後であり、反復投与時において投与期間に依存した血漿中濃度の増加は認められなかった。

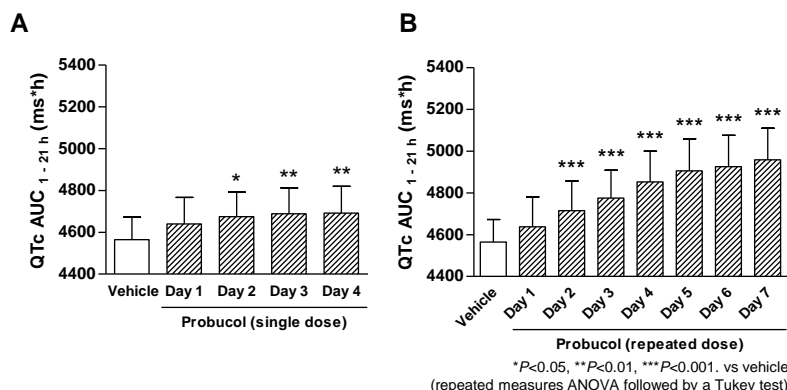


Fig. 1 Probucol (100 mg/kg) の単回 (A) 及び 7 日間反復投与 (B) における QTc AUC_{1-21h} に対する作用

hERG チャンネル直接阻害と発現阻害の *in vivo* における相関性を検討するため、直接阻害作用を有する moxifloxacin と probucol の併用投与における評価を行った (Fig. 2)。本試験では、probucol の単回及び 7 日間反復投与後に moxifloxacin を投与し、それぞれ probucol 単独投与及び反復投与 7 日目の QTc AUC_{1-21h} 間隔に対する影響と比較した。その結果、probucol と moxifloxacin 併用投与群では、それぞれの単独の投与群に対して、相加的な増加作用を示した。なお、moxifloxacin の血漿中濃度推移は単回投与及び併用投与においても違いはなかった。

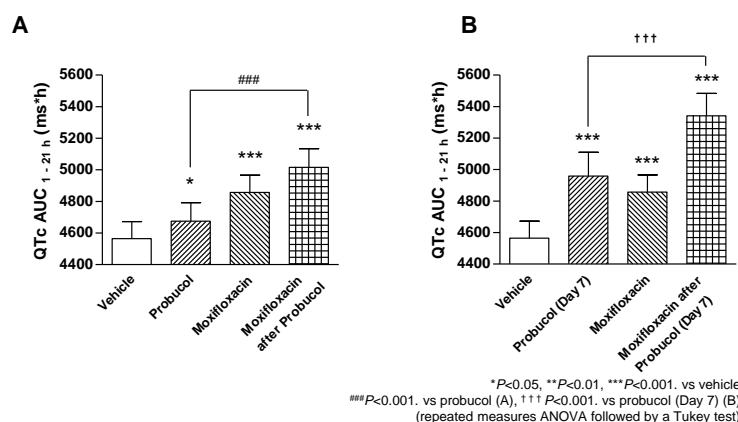


Fig. 2 Moxifloxacin (20 mg/kg) と probucol (100 mg/kg) の単回 (A) 又は 7 日間反復投与 (B) の併用投与における QTc AUC_{1-21h} に対する作用

(2) 覚醒モルモットを用いて 8 つの薬物における Δ QTcX 及び Δ J-T_{peak}cX に対する影響を検討した結果、選択的 hERG チャンネル阻害薬である dofetilide 及び sotalol 投与群では、媒体投与群と比較して有意な Δ QTcX 及び Δ J-T_{peak}cX の延長作用が観察され、この Δ J-T_{peak}cX の延長は Δ QTcX の延長と同程度であった。hERG チャンネル阻害作用に加えて Na⁺チャンネル (peak/late 電流) 及び (又は) L-type Ca²⁺チャンネル阻害作用を示す quinidine、quinine 及び flecainide 投与群では、 Δ QTcX 及び Δ J-T_{peak}cX の延長作用が認められたが、観察された Δ J-T_{peak}cX の延長は Δ QTcX の延長と比較して短いものであった。hERG チャンネル阻害と同程度の Na⁺チャンネル (late 電流) 阻害を有する ranolazine 投与群では、 Δ QTcX 及び Δ J-T_{peak}cX の延長傾向が観察されたが、統計学的に有意な差は認められなかった。hERG チャンネ

ル阻害と同程度の L-type Ca^{2+} チャネル阻害を有する verapamil 投与群では、媒体と比較して ΔQTcX 及び $\Delta\text{J-T}_{\text{peakcX}}$ に対する影響は観察されなかった。hERG チャネル阻害の無い選択的 L-type Ca^{2+} チャネル阻害薬である nifedipine 投与群では、 ΔQTcX の短縮が観察されたが、 $\Delta\text{J-T}_{\text{peakcX}}$ に対する影響は認められなかった。

本試験で取得した $\Delta\Delta\text{QTcX}$ 及び $\Delta\Delta\text{J-T}_{\text{peakcX}}$ を用いて、薬物の TdP 催不整脈リスクに対するカテゴリー解析を行ったところ (Fig. 3)、dofetilide、sotalol 及び quinidine は高リスク、quinine、flecainide 及び ranolazine は中リスク、verapamil 及び nifedipine は低リスクに分類された。本試験の結果は、臨床で報告されているリスク分類とほぼ一致していた。

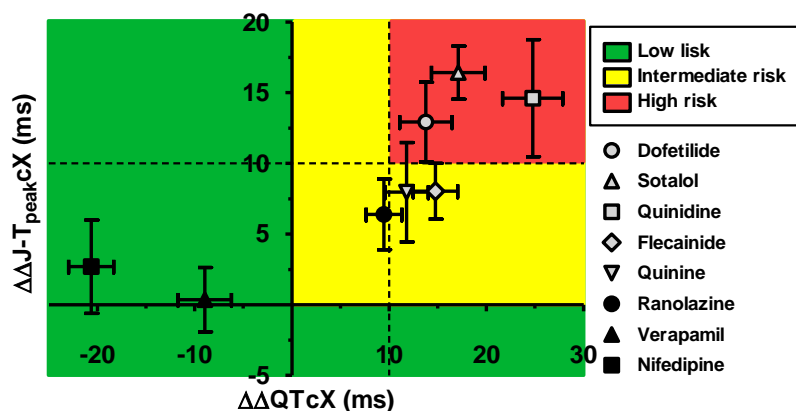


Fig. 3 $\Delta\Delta\text{QTcX}$ 及び $\Delta\Delta\text{J-T}_{\text{peakcX}}$ のパラメータを用いた参照化合物の TdP 催不整脈リスクのカテゴリー解析

結論：

本研究では、(1) hERG trafficking 阻害作用を有する probucol は、長期間の曝露により時間依存的な QT 間隔延長作用を示すことを明らかにし、また、probucol と hERG チャネル直接阻害薬 moxifloxacin との併用では、それぞれの単独投与における QT 延長作用を相加した作用を示すことを見出した。(2) 覚醒モルモットにおける J-T_{peak} 間隔の測定は、催不整脈作用評価のツールとして有用であることを見出した。本研究成果は、創薬における薬物誘発性致死的不整脈リスク評価に大きく貢献するものと期待される。

参考文献：

- 1) Nogawa, H., et al. *Eur. J. Pharmacol.* 741, 336-339 (2014).
- 2) Nogawa, H., et al. *Eur. J. Pharmacol.* 720, 29-37 (2013).
- 3) Nogawa, H., et al. *Eur. J. Pharmacol.* 927, 175065 (2022).

以上