

オートパッチクランプシステムを用いた 心筋イオンチャンネル評価

大阪ラボラトリー 本田 弥生

1 心筋イオンチャンネル評価の意義

医薬品に起因する心毒性の副作用は患者に重篤な影響を及ぼし、中でも薬剤誘発性の致死性不整脈であるTdP (Torsade de Pointes) は最もクリティカルな毒性に位置づけられています。TdP誘発により医薬品が相次いで市場から撤退したことを受け、2005年に日米EU医薬品規制調和国際会議 (ICH) は催不整脈リスク評価に対するガイドラインを制定しました。本ガイドラインでは催不整脈の原因となる心筋イオンチャンネルの1つであるhERG (human *Ether-a-go-go* Related Gene) カリウムチャンネルへの影響を評価するために、非臨床試験において *in vitro* hERG試験および *in vivo* 心電図試験 (QT延長^{*1}、TdP検出など) が義務付けられました。さらに、近年ではアメリカ食品医薬品局 (FDA) 主導で本ガイドラインの見直しが進められており、新しい *in vitro* 催不整脈リスク評価法としてhERGを含む複数の心筋イオンチャンネルに対するデータを *in silico* で総合的に評価する方法が提案されています。

そこで当社では、非臨床初期の段階で心毒性 (催不整脈リスク) を評価できるサービスを提供することに致しました。

2 オートパッチクランプシステムを用いたhERG試験の構築

当社は種々の心筋イオンチャンネルへの影響を正確かつ高速に評価できる全自動オートパッチクランプシステムQube384 (Sophion



図1 Qube384 (Sophion Bioscience社製)



Qube384 内ワークテーブル

Bioscience 社製) を導入しました (図1)。Qube384では心筋や神経などの興奮性細胞のイオンチャンネル電流をホールセルパッチクランプ法^{*2}で測定することができます。

本システムを用いて、心筋の活動電位を構成し、催不整脈の誘発に関与するhERGチャンネルを発現させた細胞を用いて、その電流の阻害活性を指標とした心毒性のポテンシャル評価を行いました。図2にQube384で取得したhERG電流波形を示します。臨床でTdPを発現したシサプリドの添加により、hERG電流は濃度依存的に抑制されました。また、QT延長やTdPを誘発することが知られている種々薬剤を用いて社内バリデーションを実施した結果、公表データ^{1)~3)}と非常に高い相関が得られました (図3)。

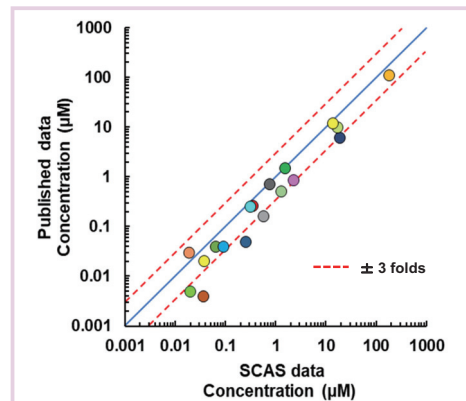


図3 社内データと公表データの比較 (IC₅₀値)

3 今後の予定

hERG試験の受託は2020年4月より開始しました。現在、ナトリウムチャンネル (Nav1.5) およびカルシウムチャンネル (Cav1.2) をそれぞれ発現させた細胞を用いたバリデーション試験を進めており、今後、総合的な心筋イオンチャンネル評価ができる体制を整備する予定です。

注 釈

- ※1 心電図上QT時間 (心筋の収縮時間) が延長している状態。この延長はTdPの発生要因となり得ます。
- ※2 細胞に接触させた微小電極に陰圧をかけ、細胞膜に穴を開けることで細胞全体の電気現象を記録する方法

文 献

- 1) J. Kramer, C.A. Obejero-Paz, G. Myatt, Y.A. Kuryshev, A. Burning-Wright, J.S. Verducci, A.M. Brown: *Sci. Rep.*, **3**, 2100 (2013)
- 2) T. Omata, C. Kasai, M. Hashimoto, T. Hombu, K. Yamamoto: *J. Pharmacol. Sci.*, **99**, 531 (2005)
- 3) B.R. Chaitman: *Circulation*, **113**, 2462 (2006)

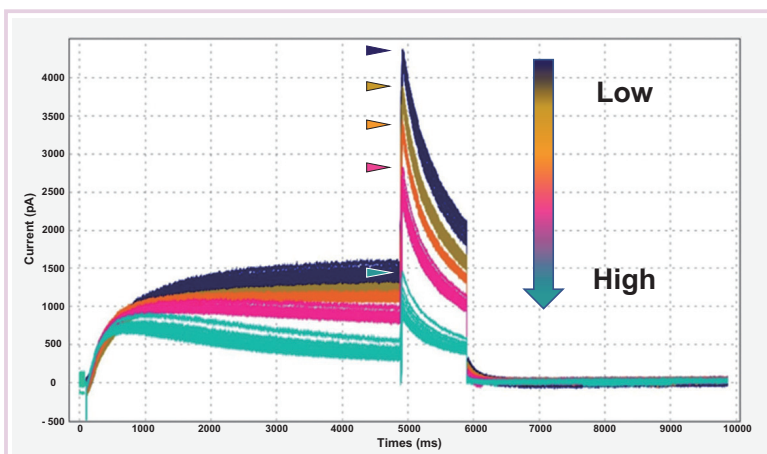


図2 シサプリド (3~100 nM) の累積適用によるhERG電流の抑制



本田 弥生
(ほんだ やよい)
大阪ラボラトリー