

# Evaluation of the drug's property of the blocking to potassium and calcium channel from the change of FPD prolongation using human iPS cell-derived cardiomyocytes

○吉川 公人, 武内 史英, 北村 哲生, 大保 真由美, 長田 智治, 井上 裕章, 内田 秀臣, 大西 康之, 平塚 秀明

## 目的

薬剤の催不整脈作用のリスク予測に関する新技術の一つとして、ヒトiPS細胞由来心筋細胞を用いた細胞外電位測定法が期待されている。hERGブロッカーは心電図のQTc間隔に相当するFPDcFを延長させ、Cav1.2ブロッカーはFPDcFを短縮させることが知られている。ヒトiPS細胞由来心筋細胞には活動電位を形成するイオンチャンネルが発現していることから、再分極遅延を起因とする不整脈（Torsades de pointes）を直接的に予測できる一方、用いた薬剤がhERGおよびCav1.2の両方を阻害するマルチチャンネルブロッカーとしての性質を有しているかどうかといった、各チャンネルに対する作用を考察する方法については十分議論がなされていない。そこで今回、薬剤を2時間曝露することで薬剤のマルチチャンネルブロッカーとしての薬理作用を評価できるか検討した。

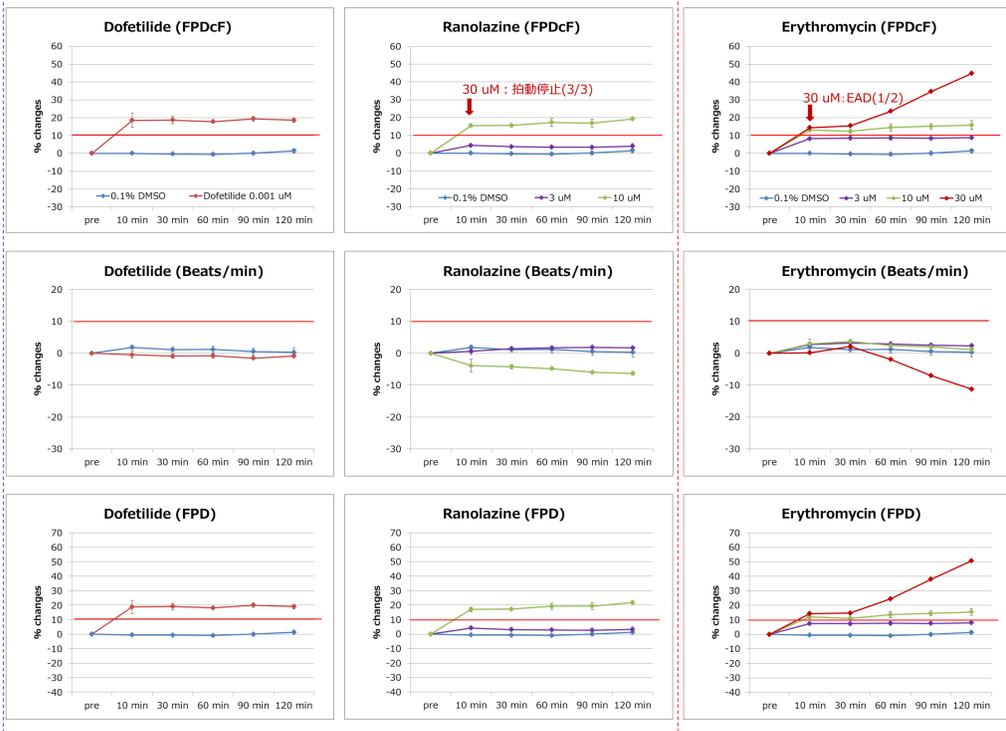
## 方法

使用細胞：iCell cardiomyocyte<sup>2</sup> (Cellular Dynamics International Inc.)  
 適用方法：単回適用後、2時間曝露  
 測定方法：細胞外電位測定  
 測定条件：温度：37℃, CO<sub>2</sub>濃度：5%  
 評価項目：1分あたりの拍動数（Beats/min）、FPD、FPDcFを各時点の最終30拍について解析。適用前に対する変化率（%changes）で評価（mean±S.E）  
 EAD（Early afterdepolarization）、拍動停止は波形から確認（発生標本数/全標本数）

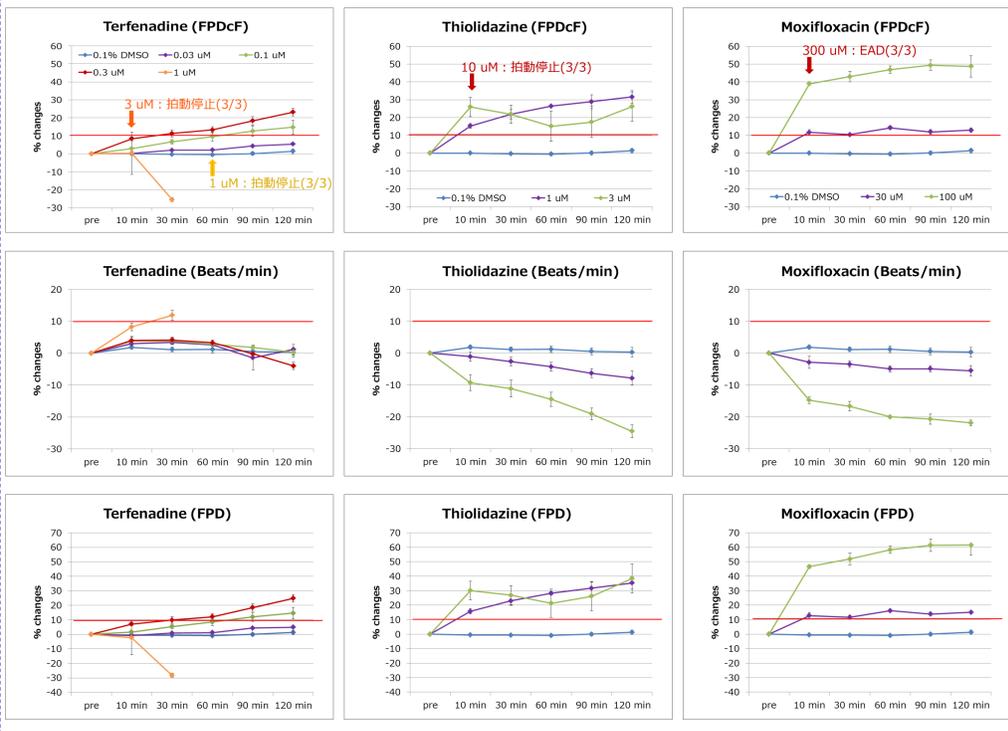
適用薬剤および濃度（N=2-3）：  
 Dofetilide (uM) : 0.001  
 Ranolazine (uM) : 3, 10, 30  
 Erythromycin (uM) : 3, 10, 30  
 Terfenadine (uM) : 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3  
 thioridazine (uM) : 1, 3, 10  
 Moxifloxacin (uM) : 30, 100, 300

## 結果

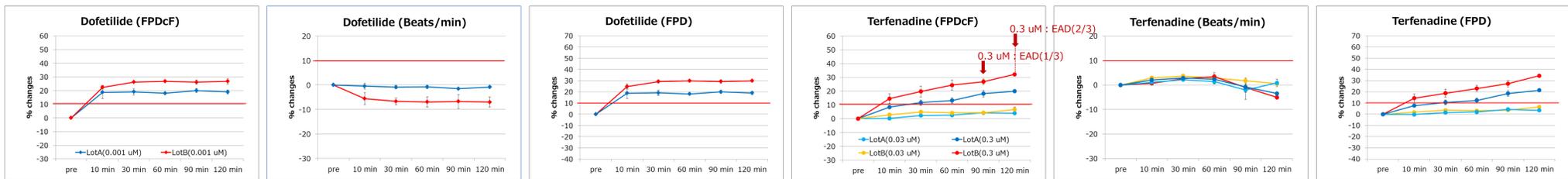
10分でFPDcFの延長がプラトーに達した薬剤群



2時間FPDcFが延長し続けた薬剤群



2ロット間での比較



## まとめ

単回適用した結果および各薬剤の血中濃度とIC50について下記に示した。

Drug	fETPC(uM)	FPDcF 10%延長濃度 (フリー体濃度) (uM)	FPDcF延長作用が10分で達したか	IC50 (uM)		Cav 1.2 IC50/hERG IC50
				hERG	Cav1.2	
Dofetilide	0.002	0.001 (0.0009)	○	0.03	26.7	890
Ranolazine	2.3	10 (9.5)	○	11.5	296	25.7
Erythromycin	12	10 (8.67) *	○*	38.9	-	-
Terfenadine	0.00029	0.1 (0.036)	×	0.05	0.93	18.6
Thioridazine	0.045	1 (0.13)	×	0.5	3.5	7.00
Moxifloxacin	5.6	30 (28.4)	×	86.2	173	2.01

\*: ErythromycinについてはEADが発生しない濃度  
 参考文献: J Pharmacol Toxicol Methods. 2016 Dec 10;84:111-127. doi: 10.1016/j.vascn.2016.12.003.

- Cav1.2 IC50/hERG IC50が20倍以上であるDofetilide, Ranolazineは適用後10分でFPDcFの延長作用がプラトーに達した。
- Erythromycinについては中濃度まではFPDcFの延長作用が適用後10分でプラトーに達したが、高濃度では延長し続けた。
- Cav1.2 IC50/hERG IC50が20倍以下であるTerfenadine, thioridazine, Moxifloxacinは適用後2時間までFPDcFが延長し続けた。
- DofetilideおよびTerfenadineについては2ロット間で同様の結果が得られた。

以上の結果から、hERGとCav1.2のIC50が近い薬剤は2時間までFPDcFを延長させることが分かった。適用後2時間までのFPDcFの経時的変化から薬剤のマルチチャンネルブロッカー（hERGおよびCav1.2）としての性質を評価できる可能性がある。