

## LANDMARK PAPERS IN CARDIAC SAFETY

### Chapter 1 Mechanisms of arsenic-induced prolongation of cardiac repolarization

#### 第 1 回

Ficker E, Kuryshev YA, Dennis AT, Obejero-Paz C, Wang L, Hawryluk P, Wible BA, Brown AM. Mechanisms of arsenic-induced prolongation of cardiac repolarization. *Mol Pharmacol.* 2004; 66: 33–44.

*hERG* (*human Ether-a-go-go-Related Gene*)はカリウムチャネルの $\alpha$ サブユニット ( $Kv11.1$ ) をコードしている遺伝子 (*KCNH2*) です。hERG チャネルにより形成されるカリウム電流 ( $I_{Kr}$ ) は、ヒトにおいては心筋活動電位再分極の多くの部分を担っています。 $I_{Kr}$  の減少は先天性および後天性 QT 延長症候群 (long QT syndrome (LQTS)) の主たる原因のひとつです。

先天性 QT 延長症候群の 2 型 (LQT2) に見られる *KCNH2* 遺伝子突然変異は、細胞膜へのタンパク質輸送 (trafficking) 障害、ゲーティングまたはイオン透過の異常、ドミナントネガティブ作用といった種々のメカニズムによって hERG チャネルの機能障害を引き起こします。このうちもっとも多いのが小胞体から細胞膜へのタンパク質輸送障害です (Anderson et al., 2006)。タンパク質輸送障害の結果、小胞体に未成熟の hERG タンパク質が蓄積します (Anderson et al., 2006)。

QT 延長は薬物により hERG チャネルが阻害された場合にも起こり、薬物誘発性 QT 延長症候群 (drug-induced long QT syndrome) と呼ばれます。抗ヒスタミン薬、抗精神病薬、抗生剤など構造的に多種多様な薬物が QT 延長の原因となり、そのほとんどは hERG チャネルを直接阻害することによりその作用を発揮することが知られています。しかし、三酸化二砒素 (arsenic trioxide) やペンタミジン (pentamidine) は、hERG チャネルを直接阻害するのではなく、hERG チャネルの細胞膜への輸送を阻害することにより QT 延長を起こすことがわかっています。

2004 年に発表されたこの論文は、三酸化二砒素が hERG チャネルの細胞膜への輸送 (trafficking) を阻害することによりモルモット心室筋の  $APD_{30}$  (30%再分極時の活動電位持続時間。早期再分極の指標) および  $APD_{90}$  (90%再分極時の活動電位持続時間。心電図 QT 間隔とよく一致) を延長することを示しました。その後、同様のメカニズムにより hERG チャネルを阻害する薬物は他にもあることが報告されました。hERG チャネルの直接阻害薬のうち、40%は hERG チャネルの細胞膜への輸送 (trafficking) 阻害作用を併せ持つとの報告もあります (Wible et al., 2005)。

### Box1 *KCNH2* 遺伝子突然変異

*KCNH2* 遺伝子突然変異の 62%はミスセンス突然変異 (missense mutation)、24%はフレームシフト突然変異 (frameshift mutation)、14%はナンセンス突然変異 (nonsense mutation) および欠失変異 (deletion mutation) であることが報告されています (Kapplinger et al., 2009)。先天性 QT 延長症候群の 2 型 (LQT2) と関連した hERG ミスセンス突然変異のほとんどは、hERG タンパクのゴルジ装置及び細胞膜への輸送を阻害し、細胞膜におけるチャネル発現を減らします (Anderson et al., 2006, Sanguinetti, 2010)。その結果、小胞体における未成熟 hERG タンパク分画の割合が増加します (Anderson et al., 2006)。*KCNH2* の遺伝子変異の 30%は NMD(nonsense-mediated mRNA decay、ナンセンス変異依存 mRNA 分解機構)を発動し、hERG 電流 ( $I_{Kr}$ ) が半減することが報告されています (Vandenberg et al., 2012)。

### Box2 hERG trafficking assay

hERG のトラフィック阻害をスクリーニングする代表的なアッセイ法として HERG-Lite があります。HERG-Lite (Wible et al., 2005) は抗体を用いた化学発光法で、2 種類の異なった hERG チャネルの細胞表面への発現を観察することにより薬物の hERG チャネルに対する作用を予測するアッセイ法です。野生型 hERG チャネルを過剰発現させた細胞 (HEK293) を使ってトラフィック阻害の有無を調べます。トラフィック阻害を生じることがわかっている点突然変異(G601S)を有する hERG チャネルを発現させた細胞 (HEK293) 用いて、薬物の薬理的シャペロン (pharmacological chaperone) としての作用の有無を評価します。さらに、野生型 hERG チャネルを発現させた細胞 (HEK293) で、hERG 電流が室温で測定されます。細胞は薬物とともにオーバーナイト (16 時間) でインキュベーションされた後に評価されます。

100 種類 (50 種類は hERG ブロッカー、50 種類は hERG ノンブロッカー) の薬物が HERG-Lite で評価され、その結果に基づき、A、B、C、null の 4 つのグループに分けられました。ノンブロッカーは null (hERG チャネルへの作用なし) もしくは Class A (hERG のトラフィック阻害のみ) に、ブロッカーは Class B (hERG の直接阻害+薬理的シャペロン。野生型 hERG のトラフィック阻害作用なし) または Class C (hERG の直接阻害+トラフィック阻害) に分類されました。50 種類の hERG ブロッカーのうち 60%の薬物は Class B に、残りの 40%の薬物は Class C に分類されました。Class C に分類された薬物の中には弱い薬理的シャペロン作用を持つものが含まれています。Class B に分類された薬物では、hERG の直接阻害作用が強い薬物ほど薬理的シャペロンとしての作用も強い傾向が認められました。

HERG-Lite は 100 種類の薬物の hERG 阻害リスクを正しく予測し、偽陽性、偽陰性はありませんでした。

## REFERENCES

1. Anderson CL, Delisle BP, Anson B D, Kilby JA., Will ML, Tester DJ, Gong Q, Zhou Z, Ackerman MJ, January CT. Most LQT2 Mutations Reduce Kv11.1 (hERG) Current by a Class 2 (Trafficking-Deficient) Mechanism. *Circulation*. 2006; 113: 365–373.
2. Ficker E, Kuryshv YA, Dennis AT, Obejero-Paz C, Wang L, Hawryluk P, Wible BA, Brown AM. Mechanisms of arsenic-induced prolongation of cardiac repolarization. *Mol Pharmacol*. 2004; 66: 33–44.
3. Kapplinger JD, Tester DJ, Salisbury BA, Carr JL, Harris-Kerr C, Pollevick GD, Wilde AA, Ackerman MJ. Spectrum and prevalence of mutations from the first 2,500 consecutive unrelated patients referred for the FAMILION long QT syndrome genetic test. *Heart Rhythm*. 2009;6:1297-303.
4. Sanguinetti MC. HERG1 channelopathies. *Pflugers Arch*. 2010; 460: 265–76.
5. Vandenberg JI, Perry MD, Perrin MJ, Mann SA, Ke Y, Hill AP. hERG K<sup>+</sup> channels: structure, function, and clinical significance. *Physiol Rev*. 2012; 92: 1393–478.
6. Wible BA, Hawryluk P, Ficker E, Kuryshv YA, Kirsch G, Brown AM. HERG-Lite: a novel comprehensive high-throughput screen for drug-induced hERG risk. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2005 ;52:136-45.

## 確認試験

( ) 内に正しいことばを記入して下さい。

1. *hERG* (*human Ether-a-go-go-Related Gene*)はカリウムチャネルの ( ) サブユニット (Kv11.1) をコードしている遺伝子 (*KCNH2*) です。*hERG* チャネルにより形成されるカリウム電流 ( ) は、ヒトにおいては心筋活動電位 ( ) の多くの部分を担っています。
2. 先天性 QT 延長症候群の 2 型 (LQT2) に見られる *KCNH2* 遺伝子突然変異は、細胞膜へのタンパク質輸送 (trafficking) 障害、ゲーティングまたはイオン透過の異常、ドミナントネガティブ作用といった種々のメカニズムによって *hERG* チャネルの機能障害を引き起こします。このうちもっとも多いのが小胞体から細胞膜への ( ) です。
3. QT 延長は薬物により *hERG* チャネルが阻害された場合にも起こり、 ( ) と呼ばれます。
4. 三酸化二砒素やペンタミジンは、*hERG* チャネルを直接阻害するのではなく、*hERG* チャネルの ( ) することにより QT 延長を起こすことがわかっています。
5. *hERG* チャネルの直接阻害薬のうち、 ( ) %は *hERG* チャネルの細胞膜への輸送 (trafficking) 阻害作用を併せ持つとの報告もあります。
6. 次の単語を英訳しなさい。  
薬物誘発性 QT 延長症候群：  
三酸化二砒素：  
ペンタミジン：  
ミスセンス突然変異：  
ナンセンス変異依存 mRNA 分解機構：  
薬理的シャペロン：

## 確認試験解答

1. *hERG* (*human Ether-a-go-go-Related Gene*)はカリウムチャネルの ( $\alpha$ ) サブユニット (Kv11.1) をコードしている遺伝子 (*KCNH2*) です。hERG チャネルにより形成されるカリウム電流 ( $I_{Kr}$ ) は、ヒトにおいては心筋活動電位 (再分極) の多くの部分を担っています。
2. 先天性 QT 延長症候群の 2 型 (LQT2) に見られる *KCNH2* 遺伝子突然変異は、細胞膜へのタンパク質輸送 (trafficking) 障害、ゲーティングまたはイオン透過の異常、ドミナントネガティブ作用といった種々のメカニズムによって hERG チャネルの機能障害を引き起こします。このうちもっとも多いのが小胞体から細胞膜への (タンパク質輸送障害) です。
3. QT 延長は薬物により hERG チャネルが阻害された場合にも起こり、(薬物誘発性 QT 延長症候群) と呼ばれます。
4. 三酸化二砒素やペンタミジンは、hERG チャネルを直接阻害するのではなく、hERG チャネルの (細胞膜への輸送を阻害) することにより QT 延長を起こすことがわかっています。
5. hERG チャネルの直接阻害薬のうち、(40) %は hERG チャネルの細胞膜への輸送 (trafficking) 阻害作用を併せ持つとの報告もあります。
6. 次の単語を英訳しなさい。  
薬物誘発性 QT 延長症候群 : **drug-induced long QT syndrome**  
三酸化二砒素 : **arsenic trioxide**  
ペンタミジン : **pentamidine**  
ミスセンス突然変異 : **missense mutation**  
ナンセンス変異依存 mRNA 分解機構 : **nonsense-mediated mRNA decay**  
薬理的シャペロン : **pharmacological chaperone**

2017年10月2日脱稿

ご意見、ご質問、ご要望がございましたらお寄せ下さい。

深瀬 広幸 (hiroyuki.fukase@crht.jp)

