

## 最新研究の紹介

ベラパミルはヒトKv1.5チャンネルのポア領域に結合してチャンネルをブロックする

### 論文タイトル

Identification of verapamil binding sites within human Kv1.5 channel using mutagenesis and docking simulation

### 掲載誌

Cellular Physiology and Biochemistry 52:302-314 (2019)

DOI: [10.33594/0000000022](https://doi.org/10.33594/0000000022)

### 執筆者

Wei-Guang Ding, Ayami Tano, Xinya Mi, Akiko Kojima, Tomoyoshi Seto, Hiroshi Matsuura

Wei-Guang Ding and Ayami Tano contributed equally to this work.

### 概要

カルシウム拮抗薬であるベラパミルは、心房細動や発作性上室性頻拍など頻脈性不整脈の治療に用いられます。一方、Kv1.5チャンネルはヒト心臓においては主に心房筋に発現し、その活動電位持続時間を規定します。本研究では、ベラパミルがヒトKv1.5 (hKv1.5) チャンネルのポア領域に存在する複数のアミノ酸に結合して、hKv1.5チャンネルに直接の抑制作用をおよぼすことを、明らかにしました。

はじめに、培養細胞に発現させたhKv1.5チャンネルに対するベラパミルの効果を、パッチクランプ法により解析しました(図1)。ベラパミルは濃度依存性にhKv1.5チャンネルを抑制し、その効果は臨床濃度(約0.1  $\mu$ M)で出現しました。

次に、hKv1.5チャンネルに部位特異的 point mutation を導入して変異体を作成し、ベラパミルの抑制効果を調べました。その結果、図2に示す6種類の変異体ではhKv1.5チャンネルに対する抑制作用が减弱したため、ベラパミルはこれらのアミノ酸(Thr479、Thr480、Val505、Ile508、Val512、Val516)に作用して抑制作用を及ぼしていると考えられます。

最後に、ベラパミルのhKv1.5チャンネル結合状態をコンピュータ上で予測しました(図3)。その結果、ベラパミルは point mutation 導入法で予測されたアミノ酸との間で結合エネルギーが発生し、特にVal512とは $\pi$ -水素結合を形成することが予測されました。

Kv1.5チャンネルを抑制することは、心房内を異常な興奮が巡回するリエントリーを主な機転とする心房性不整脈に対する有効な治療法の一つとなりえます。本研究の成果は、ベラパミルがリエントリー性不整脈に対して抗不整脈作用を及ぼす可能性を示唆しています。

なお、この研究は研究医コースの田埜郁実さん（医学科第6学年）が積極的に実験や論文作成に参加し（共第一著者）、その内容を平成29年度第3回SUMSグラウンドラウンド（平成29年7月24日）で発表しました。その時に学内の多くの先生方から研究の発展につながる貴重なコメントやアドバイス、激励をいただきましたことに深く感謝申し上げます。

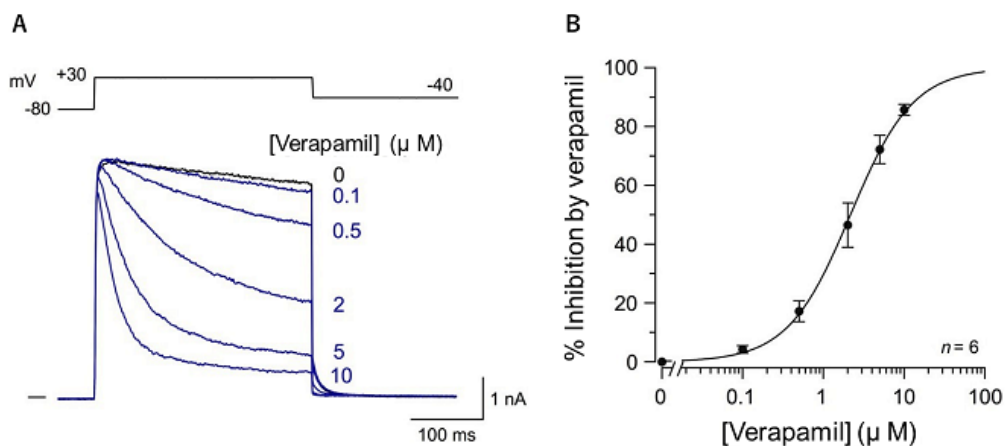


図1 ベラパミルによるhKv1.5チャネルの抑制効果 (A)種々の濃度のベラパミルによる hKv1.5チャネルの抑制 (B)ベラパミルによるhKv1.5チャネルの濃度依存性抑制効果

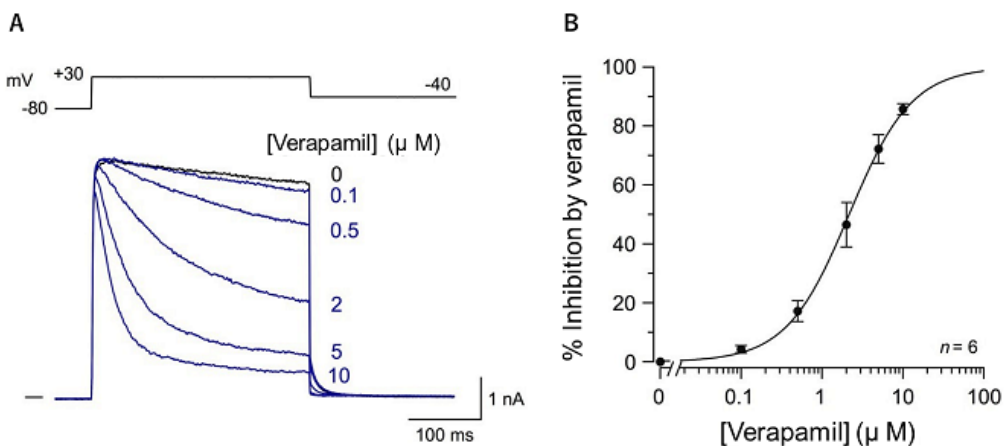


図1 ベラパミルによるhKv1.5チャネルの抑制効果 (A)種々の濃度のベラパミルによる hKv1.5チャネルの抑制 (B)ベラパミルによるhKv1.5チャネルの濃度依存性抑制効果

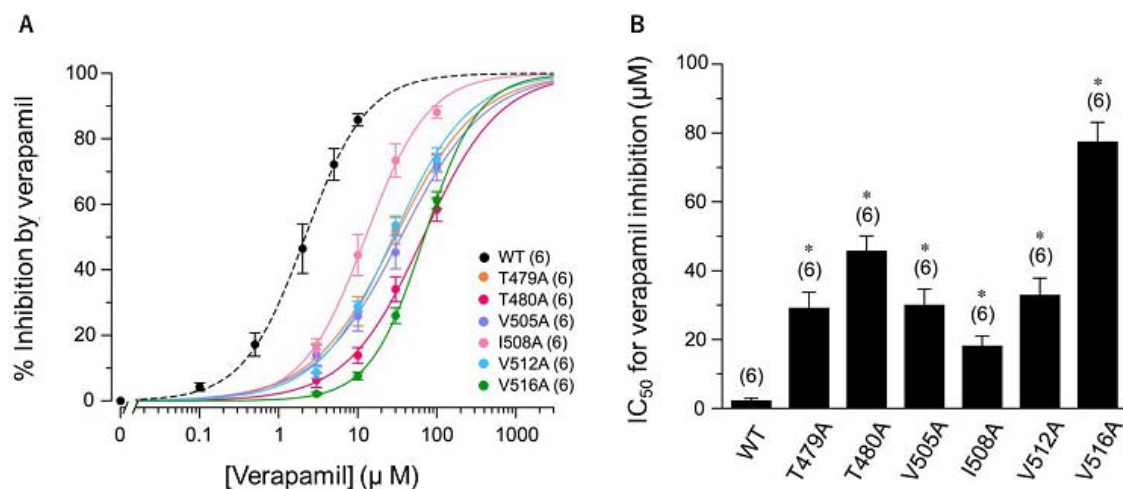
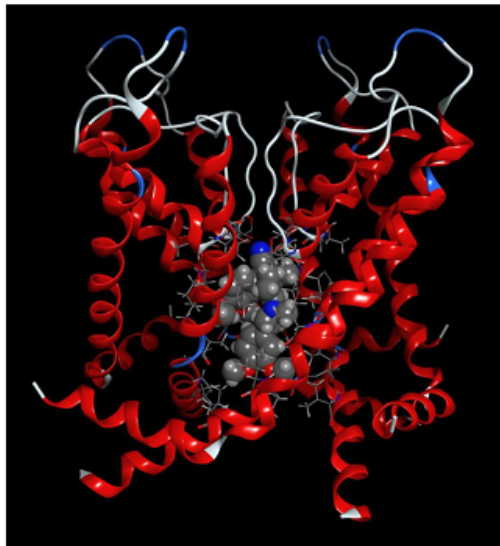


図2 ベラパミルによるhKv1.5チャネル変異体への抑制効果 (A)野生型および種々の変異体hKv1.5チャネルに対するベラパミルの濃度依存性抑制効果 (B)ベラパミルによる野生型および種々の変異体hKv1.5チャネルに対する抑制作用の半最大抑制濃度 (IC<sub>50</sub>)

A



B

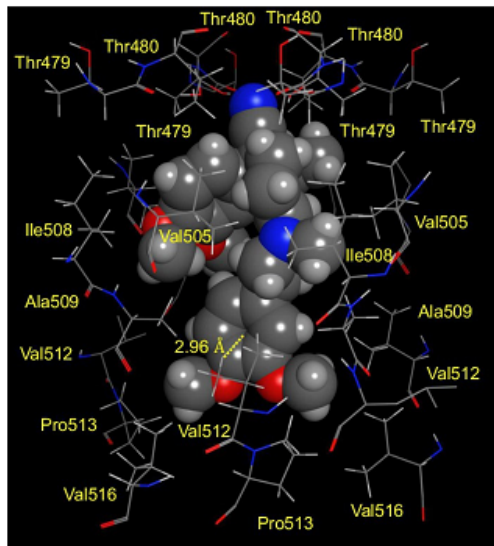


図3 コンピュータドッキングシミュレーション法によるベラパミルの結合状態の推測 (A) ベラパミルのhKv1.5チャネルの結合状態 (B) パネルAの拡大図

文責

松浦 博 生理学講座 (細胞機能生理学部門)