

横山浩史より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号甲第 580 号

学位申請者 : 横 山 浩 史

学位審査論文 : Pharmacological characterization of *microminipig* as a model to assess the drug-induced cardiovascular responses for non-clinical toxicity and/or safety pharmacology studies

(非臨床毒性および安全性薬理試験における薬物性心血管反応の評価モデルとしてのマイクロミニピッグの薬理学的特徴づけ)

著 者 : Hirofumi Yokoyama, Yuji Nakamura, Hiroyuki Saito, Yukitoshi Nagayama, Kiyotaka Hoshiai, Takeshi Wada, Hiroko Izumi-Nakaseko, Kentaro Ando, Yasuki Akie, Atsushi Sugiyama

公 表 誌 : The Journal of Toxicological Sciences 42 (1) : 93-101, 2017

論文内容の要旨 :

【背 景】

薬物による心血管作用の評価モデルとしては、ハロセン麻酔イヌモデルが確立されており、広く用いられている。マイクロミニピッグは富士マイクラ株式会社により樹立された世界最小のブタであり、イヌやサルに代わる実験動物として実用化が期待されている。

【目 的】

ハロセン麻酔イヌモデルの代替モデルとしてハロセン麻酔マイクロミニピッグモデルを構築するために、まずハロセン麻酔によるマイクロミニピッグの心血管系に対する作用を検討した。次に、 β -アドレナリン受容体遮断作用と I_{K_r} -阻害作用を有する *dI*-Sotalol によるマイクロミニピッグの心血管系に対する作用を検討し、薬物反応性をイヌと比較した。*dI*-Sotalol の催不整脈リスクを詳細に評価するために、心電図上の $J-T_{peak-c}$ (RR 間隔で補正した $J-T_{peak}$ 間隔 : 早期再分極相) 、 $T_{peak}-T_{end}$ (後期再分極

相) および1拍ごとのQT間隔の変化 (STV) についても評価した。

【方法】

実験1: ホルター心電計を装着し、1%ハロセンによる麻酔前後のマイクロミニピッグの心電図を取得し、心拍数とQT間隔を測定し、QTcF (Fridericia法で補正したQT間隔) を算出した。

実験2: 人工呼吸下で1%ハロセンによる全身麻酔を維持し、標準四肢第II誘導心電図を取得した。心電図指標として心拍数、PR間隔、QRS幅、QT間隔を計測し、QTcFを算出した。血圧測定用シースを大腿動脈に挿入し、血行動態指標として収縮期血圧、拡張期血圧を測定し、平均血圧を算出した。薬剤投与用シースを大腿静脈に挿入し、*dI*-Sotalolを0.1 mg/kg/10分で投与し、その後20分間観察を行った。引き続き0.3および1 mg/kgについても同様に投与と観察を行った。また、溶媒である生理食塩液も同様にその作用を検討した。

【結果】

実験1: ハロセン麻酔前の心拍数、QT間隔およびQTcFは、 77 ± 7 beats/min、 310 ± 11 ms および 335 ± 11 であった。ハロセン麻酔により心拍数は30%増加し、QT間隔は4%、QTcFは12%延長した。

実験2: *dI*-Sotalol投与前の心拍数、平均血圧、PR間隔、QRS幅、QT間隔、QTcFはそれぞれ、 107 ± 10 beats/min、 64 ± 6 mmHg、 98 ± 5 ms、 39 ± 4 ms、 312 ± 15 ms および 373 ± 11 であった。

dI-Sotalolの投与により用量依存的に心拍数と平均血圧が減少し、PR間隔、QT間隔およびQTcFが延長した。一方、QRS幅には変化を認めなかった。生理食塩液の投与により、心拍数、平均血圧、PR間隔、QRS幅、QT間隔およびQTcには全く変化を認めなかった。*dI*-Sotalol投与前の $J-T_{peak-c}$ 、 $T_{peak}-T_{end}$ およびSTVはそれぞれ、 318 ± 15 、 42 ± 4 および 1.8 ± 0.2 msであった。低用量の*dI*-Sotalolは $J-T_{peak-c}$ をわずかに延長させたが、中・高用量では薬物投与前と大きな変化を認めなかった。*dI*-Sotalolは用量依存的に $T_{peak}-T_{end}$ を延長する傾向を示した。また、*dI*-Sotalolは用量依存的にSTVを有意に増加させた。

【考察】

ハロセン麻酔の導入はQTcF同様にQT間隔を延長させたことから、ハロセン麻酔マイヌと同様にマイクロミニピッグの心筋再分極予備力を低下させると考えられた。ハロセン麻酔マイクロミニピッグに対する*dI*-Sotalolの心血管作用を、ヒトにおける薬物誘発心行動態反応および電気生理学的反応の予測性が高いハロセン麻酔イヌモデルのデータと比較検討した。*dI*-Sotalolに対するマイクロミニピッグの心血管系の反応は、同じ麻酔条件下ではイヌでの報告と変化の方向は同じであったが、その程度はより大きかった。生理食塩液による各心血管系指標に対する作用は認められなかったことから、ハロセン麻酔マイクロミニピッグモデルの各指標は90分以上安定であることが示された。マイクロミニピッグにおける後期再分極相および再分極過程の時間的ばらつきはイヌよりも高いが、早期再分極相の感度は低用量ではイヌよりも高いが高用量では反転する。

【総括】

非臨床毒性および安全性薬理試験において、ハロセン麻酔マイクロミニピッグモデルは薬物による心血管系反応を理解する上でイヌモデルと同様に有用である。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号甲第 580 号	氏 名	横 山 浩 史
学位審査担当者	主 査	赤 坂 喜 清
	副 査	館 田 一 博
	副 査	赤 羽 悟 美
	副 査	池 田 隆 徳
	副 査	諸 井 雅 男

学位審査論文の審査結果の要旨 :

動物愛護に関する社会的な関心の高まりから、非げっ歯類の実験動物であるイヌやサルに代替動物が求められている。申請者らは、家畜であることから実験動物としての使用への抵抗感の少ないブタの中で新たに開発された世界最小のマイクロミニピッグを用いて、イヌやサルに替わる薬物誘発心血管系作用の評価モデルとしての妥当性を *dI*-Sotalol により検証し、既存のイヌモデルと比較した。マイクロミニピッグは、ハロセン麻酔により QTc が延長したことからイヌと同様に心筋再分極予備力の低下が示唆された。ハロセン麻酔モデルは *dI*-Sotalol に対してイヌと同方向の心血管系の反応を示したが、その感受性は高かった。また、再分極過程の時間的ばらつきはイヌよりも高かった。以上より申請者らは、ハロセン麻酔マイクロミニピッグモデルは薬物による心血管系反応を理解する上でイヌモデルと同様に有用であると結論付けた。

平成 29 年 2 月 27 日 (月) 19:00~20:00 医学部 3 号館第 2 セミナー室において、館田教授、赤羽教授、池田教授、諸井教授、赤坂の出席のもと審査が行われた。まず、マイクロミニピッグの再分極過程における I_{Kr} と I_{Ks} の寄与の割合に関する質問があり、横山氏は $T_{peak}-T_{end}$ の解析から I_{Kr} の寄与はイヌと同程度であるが QTc がイヌより長いことから I_{Ks} の寄与は少ないと考えられると回答した。次に、評価薬剤として *dI*-Sotalol を選択した理由に関する質問があり、他の動物種や臨床での報告が多いこと、*vivo* モデルは電気生理だけでなく血行動態との同時評価も特長となるので両方に作用が出る薬物を選択したと回答した。また、*dI*-Sotalol の ED₁₀ に関し、ヒトとの比較データの有無に関する質問がなされた。これに対し、ヒトでは ED₁₀ としての報告はないが、最小作用量はマイクロミニピッグとヒトで類似していると回答した。マイクロミニピッグの背景情報として突然変異の責任遺伝子及び変異による長期的な影響に関する質問がなされ、一般のブタとの比較で遺伝子解析は行われているが大きな差異は認められていないこと、長期的な影響としては 10 歳齢のマイクロミニピッグを検討中であると述べた。最後にマイクロミニピッグがイヌに代替していくためにどのような追加評価が必要かとの質問があり、イヌで評価されている様々な薬物のデータの取得と共に、加齢の影響や生化学検査値などの一般的な背景情報を充実されていく必要があると返答した。

横山氏は全ての質疑に対して的確に返答し、上記のように研究の限界や今後の課題についても言及した。本研究は、非げっ歯類の実験動物として新たな薬物誘発心血管作用の評価モデルとしてのマイクロミニピッグの有用性を提示する重要な論文であると判定され、厳正なる審査の結果、学位授与に相当すると判断した。