

2nd Japanese Safety Pharmacology Society

第2回 日本安全性薬理研究会 学術年会

プログラム・要旨集



会 期： 2011年2月18日(金)・19日(土)

会 場： 東京大学弥生講堂・一条ホール

年会長： 和崎 正彦(田辺三菱製薬株式会社)

＜タイムテーブル＞ 2月18日（金）

13:00	開会挨拶	和崎 正彦（田辺三菱製薬株） 関野 裕子（国立医薬品食品衛生研究所）
13:10	教育講座	心臓の活動電位形成におけるイオンチャネルの役割 黒川 洵子（東京医科歯科大学 難治疾患研究所） 座長：和崎 正彦（田辺三菱製薬株）
14:00	招待講演 I 心筋イオン チャネル	1．T型カルシウムチャネルと心筋自動能 田中 光（東邦大学薬学部 薬物学教室） 2．QT 間隔の性差とイオンチャネル 黒川 洵子（東京医科歯科大学 難治疾患研究所） 座長：千葉 克芳（第一三共株）
15:00 ～ 15:15 休憩		
15:15	一般演題	1．オートパッチクランプを用いた Cav1.2 及び Nav1.5 チャネル阻害スクリーニング系の確立 本多 正樹（中外製薬株） 2．光学イメージングシステムを用いた心臓刺激伝導系評価：ウサギ心筋梗塞モデルの摘出心臓におけるフレカイニドの作用 稲村 直樹（田辺三菱製薬株） 3．hERG チャネル活性化薬剤 ICA-105574 の心電図に及ぼす影響 浅山 真秀子（田辺三菱製薬株） 4．I_{Ks} ブロック誘発性 torsades de pointes のリスク評価のための非臨床評価戦略 千葉 克芳（第一三共株） 5．カニクイザルの QT 間隔及びサル ERG 発現量に対するペンタミジンの影響 松尾 純子（新日本科学株） 座長：北山 哲也（協和発酵キリン株） 田澁 弘行（大日本住友製薬株）
16:30 ～ 16:45 休憩		
16:45	シンポジウム 海外招待講演	1. Existing and emerging strategies to reduce safety pharmacology related liabilities in pharmaceutical drug discovery and development Jean-Pierre Valentin (AstraZeneca) 2. Role of safety pharmacology studies to predict adverse effects in late-stage clinical development Alfred Botchway (Xenometrics LLC) 座長：山本 恵司（武田薬品工業株）
18:15 ～ 懇親会		

＜タイムテーブル＞ 2月19日（土）

8:30	一般演題	<p>6. マイクロミニピッグ：イヌ・サルに替わりうる <i>in vivo</i> 薬物性 QT 延長評価モデル動物 齊藤 裕之（スギ生物科学研究所(株)）</p> <p>7. ヒト ES 細胞由来心筋を用いた QT リスク評価に関する基礎検討 谷口 智彦（エーザイ(株)）</p> <p>8. Hand2 発現による P19 細胞から交感神経への高効率な分化誘導 橋本 裕介（東京理科大学大学院 基礎工学研究科 生物工学専攻 ゲノム生物学研究室）</p> <p>9. D70-PCTR を用いたテレメトリー法によるイヌの呼吸機能解析 久我 和寛（武田薬品工業(株)）</p> <p>10. アカゲザルにおける2種類の薬物自己投与方法でのニコチン強化効果の検出精度の比較 飯野 雅彦（イナリサーチ(株)）</p> <p>座長：安東 賢太郎（東京大学大学院 農学生命科学研究科 獣医学専攻 比較病態生理学） 豊島 茂樹（大塚製薬工場(株)）</p>
9:45 ~ 10:00 休憩		
10:00	招待講演 II 行動薬理 ・依存性	<p>1. 動物の行動から何が分かるか？ - 包括的行動解析のすすめ - 小倉 博雄（エーザイ(株)）</p> <p>2. 薬物依存の基礎研究と評価 鈴木 勉（星薬科大学薬学部 薬品毒性学）</p> <p>座長：澤田 光平（エーザイ(株)）</p>
11:00 ~ 11:10 移動		

＜タイムテーブル＞ 2月19日（土）

11:10	ポスター セッション	<p>1. データベース PharmaPendium と Embase を用いた承認医薬品の安全性情報検索の有用性 鈴木 直子（エルゼビア・ジャパン(株)）</p> <p>2. 最近承認された新薬の「QT/QTc 評価試験」と心血管リスク評価 西村（鈴木） 多美子（就実大学 薬学部 薬理学）</p> <p>3. テレメトリラットの VEGFR2 阻害性血圧上昇リスク評価への応用可能性 磯部 剛仁（中外製薬(株)）</p> <p>4. 安全性薬理試験におけるグルコースクランプ法の有用性 松原 史典（(株)薬物安全性試験センター）</p> <p>5. 覚醒ラットにおける心血管系および呼吸器系機能の同時評価 関谷 浩司（協和発酵キリン(株)）</p> <p>6. マウスにおいて胃からの固体排出能は 5-HT₃ 受容体を介している 高木 観（田辺三菱製薬(株)）</p> <p>7. カニクイザルを用いた自動静脈内投与による whole-body plethysmograph 法での呼吸機能測定法 小田切 則夫（三菱化学メディエンス(株)）</p> <p>8. カニクイザルを用いた体内埋め込み式インピーダンス法による呼吸機能測定の検討 坂本 憲吾（イナリサーチ(株)）</p> <p>9. ラット及びアカゲザルにおけるコカイン及びペントバルビタール静脈内自己投与の比較 藤原 淳（イナリサーチ(株)）</p>
11:10	ポスター セッション (口述もあり)	<p>10. カニクイザルの QT 間隔及びサル ERG 発現量に対するペンタミジンの影響 松尾 純子（新日本科学(株)）</p> <p>11. マイクロミニピッグ：イヌ・サルに替わりうる <i>in vivo</i> 薬物性 QT 延長評価モデル動物 斉藤 裕之（スギ生物科学研究所(株)）</p> <p>12. アカゲザルにおける 2 種類の薬物自己投与法でのニコチン強化効果の検出精度の比較 飯野 雅彦（イナリサーチ(株)）</p>

＜タイムテーブル＞ 2月19日（土）

12:10 ~ 12:50 昼食		
12:50	シンポジウム iPS/ES 細胞	<p>1．ヒト ES/iPS 細胞を用いた薬剤の催不整脈性評価技術の開発 安田 賢二（東京医科歯科大学 生体材料工学研究所）</p> <p>2．ヒト ES/iPS 細胞を用いた薬剤の催不整脈性評価技術による評価の現状 北村 哲生（三菱化学メディエンス株）</p> <p>3．QT 延長リスク評価におけるヒト iPS 細胞由来心筋細胞の有用性 - パッチクランプによる評価系の確立 - 本多 正樹（中外製薬株）</p> <p>4．ES/iPS 細胞の毒性・安全性薬理評価への応用 - 現状と期待される応用 - 篠澤 忠紘（武田薬品工業株）</p> <p>座長：田保 充康（中外製薬株）、林 誠治（日本新薬株）</p>
14:50 ~ 15:10 休憩		
15:10	パネルディス カッション 臨床の副作用	<p>1．臨床試験段階における副作用予測 熊谷 雄治（北里大学東病院 治験管理センター）</p> <p>2．薬物の循環器系副作用発現に影響する生体側因子 中谷 晴昭（千葉大学大学院医学研究院 薬理学）</p> <p>3．第 Ⅲ 相臨床試験（臨床薬理試験）の試験デザインについて 水野 英子（田辺三菱製薬株）</p> <p>座長：澤田 光平（エーザイ株）、葛西 智恵子（アステラス株）</p>
17:00	閉会挨拶	次期（第 3 回）年会長 葛西 智恵子（アステラス株）

<プログラム>

教育講座

心臓の活動電位形成におけるイオンチャネルの役割

黒川 洵子

東京医科歯科大学 難治疾患研究所

招待講演 I (心筋イオンチャネル)

1. T型カルシウムチャネルと心筋自動能

田中 光

東邦大学薬学部 薬物学教室

2. QT間隔の性差とイオンチャネル

黒川 洵子

東京医科歯科大学 難治疾患研究所

招待講演 II (行動薬理・依存性)

1. 動物の行動から何が分かるか? - 包括的行動解析のすすめ -

小倉 博雄

エーザイ株式会社 プロダクトクリエーション本部 プロダクトクリエーションシステムズ

2. 薬物依存の基礎研究と評価

鈴木 勉

星薬科大学薬学部 薬品毒性学教室

シンポジウム (海外招待講演)

1. Existing and emerging strategies to reduce safety pharmacology related liabilities in pharmaceutical drug discovery and development

Jean-Pierre Valentin, PhD

Department of Safety Pharmacology, Safety Assessment UK, AstraZeneca

2. Role of safety pharmacology studies to predict adverse effects in late-stage clinical development

Alfred Botchway, PhD

Xenometrics LLC

シンポジウム（iPS/ES 細胞）

1．ヒト ES/iPS 細胞を用いた薬剤の催不整脈性評価技術の開発

安田 賢二，金子 智行，野村 典正

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所

2．ヒト ES/iPS 細胞を用いた薬剤の催不整脈性評価技術による評価の現状

北村 哲生，榊原 基嗣，小池 美紀子，蔭山 瑠衣，庵 泰徳，館野 実，長田 智治，関島 勝

三菱化学メディエンス株式会社 創薬支援事業本部 先端技術研究センター

3．QT 延長リスク評価におけるヒト iPS 細胞由来心筋細胞の有用性

- パッチクランプによる評価系の確立 -

本多 正樹，清川 順平，井上 智彰，田保 充康

中外製薬株式会社 安全性研究部

4．ES/iPS 細胞の毒性・安全性薬理評価への応用 - 現状と期待される応用 -

篠澤 忠紘

武田薬品工業株式会社 医薬研究本部 開発研究センター

パネルディスカッション（臨床の副作用）

1．臨床試験段階における副作用予測

熊谷 雄治

北里大学東病院 治験管理センター

2．薬物の循環器系副作用発現に影響する生体側因子

中谷 晴昭，金指 美沙子，小倉 武彦

千葉大学大学院医学研究院 薬理学

3．第 Ⅲ 相臨床試験（臨床薬理試験）の試験デザインについて

水野 英子

田辺三菱製薬株式会社 開発本部 データサイエンス部

一般演題 口述発表(1~10)

1. オートパッチクランプを用いた Cav1.2 及び Nav1.5 チャネル阻害スクリーニング系の確立

本多 正樹, 磯部 剛仁, 小松 竜一, 田保 充康
中外製薬株式会社 安全性研究部

2. 光学イメージングシステムを用いた心臓刺激伝導系評価: ウサギ心筋梗塞モデルの摘出心臓におけるフレカイニドの作用

稲村 直樹, 前川 素子, 白川 清, 和崎 正彦, 西田 敦之, 宇野 芳文, 北村 和之
田辺三菱製薬株式会社 安全性研究所

3. hERG チャネル活性化薬剤 ICA-105574 の心電図に及ぼす影響

浅山 真秀子, 矢野 浩二, 白川 清, 奥山 久嗣, 西田 敦之, 宇野 芳文, 北村 和之
田辺三菱製薬株式会社 研究本部 安全性研究所

4. I_{Ks} ブロック誘発性 torsades de pointes のリスク評価のための非臨床評価ストラテジー

千葉 克芳, 高砂 浄, 高森 秀男, 阿部 泰之, 坂倉 智子, 鈴木 尚子, 前田 優, 三分一所 厚司
第一三共株式会社 研究開発本部 安全性研究所

5. カニクイザルのQT間隔及びサルERG発現量に対するペンタミジンの影響

松尾 純子, 桑野 康一, 大熊 慎也, 伴 昌明, 徳吉 誠一郎, 鈴木 晶子, 春山 みほり, 洲加本 孝幸,
福崎 好一郎, 永田 良一
株式会社新日本科学 安全性研究所

6. マイクロミニピッグ: イヌ・サルに替わりうる *in vivo* 薬物性 QT 延長評価モデル動物

斉藤 裕之¹, 秋江 靖樹^{1,2}, 中村 裕二², 星合 清隆¹, 永山 幸利¹, 楯 美樹¹, 岡田 啓¹, 金子 直樹³,
伊藤 勝彦³, 杉山 篤²
¹スギ生物科学研究所株式会社, ²東邦大学・医学部・薬理学, ³富士マイクラ株式会社

7. ヒト ES 細胞由来心筋を用いた QT リスク評価に関する基礎検討

谷口 智彦¹, 日原 太郎², 光村 直洋², 吉永 貴志¹, 山崎 一斗², 伊藤 昌史², 澤田 光平¹
エーザイ株式会社, ¹グローバル CV 評価研究部, ²新技術研究部

8. Hand2 発現による P19 細胞から交感神経への高効率な分化誘導

橋本 裕介, 堤 未香穂, 加藤 尚弘, 小野田 文俊, 大津 正也, 田代 文夫, 村上 康文
東京理科大学大学院 基礎工学研究科 生物工学専攻 ゲノム生物学研究室

9. D70-PCTR を用いたテレメトリー法によるイヌの呼吸機能解析

久我 和寛, 林 良太, 古川 義之, 山本 恵司
武田薬品工業株式会社 医薬研究本部 開発研究センター

10. アカゲザルにおける 2 種類の薬物自己投与法でのニコチン強化効果の検出精度の比較

飯野 雅彦, 藤原 淳, 星野 満, 佐々木 幹夫, 若狭 芳男, 柳田 知司
株式会社イナリサーチ

一般演題 ポスター発表（1～12）

1．データベース PharmaPendium と Embase を用いた承認医薬品の安全性情報検索の有用性

鈴木 直子, 海附 玄龍, 高久 雅楽子
エルゼビア・ジャパン株式会社

2．最近承認された新薬の「QT/QTc 評価試験」と心血管リスク評価

西村（鈴木）多美子
就実大学薬学部 薬理学教室

3．テレメトリーラットの VEGFR2 阻害性血圧上昇リスク評価への応用可能性

磯部 剛仁¹, 小松 竜一¹, 本多 正樹¹, 蔵本 詩乃², 進藤 英俊², 田保 充康¹
¹中外製薬株式会社 安全性研究部, ²中外製薬株式会社 前臨床研究部

4．安全性薬理試験におけるグルコースクランプ法の有用性

松原 史典, 橋口 憲子, 濱田 敦子, 宮澤 英男, 都丸 明宏, 岡田 一秀, 金納 明宏
株式会社 薬物安全性試験センター

5．覚醒ラットにおける心血管系および呼吸器系機能の同時評価

関谷 浩司, 斎藤 高史, 北山 哲也
協和発酵キリン株式会社 研究本部 安全性研究所

6．マウスにおいて胃からの固体排出能は 5-HT₃ 受容体を介している

高木 観¹, 安東 賢太郎²
¹田辺三菱製薬株式会社 研究本部 安全性研究所
²東京大学大学院 農学生命科学研究科 獣医学専攻 比較病態生理学教室

7．カンクイザルを用いた自動静脈内投与による whole-body plethysmograph 法での呼吸機能測定法

小田切 則夫, 川端 貫太, 秋山 賢之介, 坂井 勝彦, 大保 真由美, 佐々木 一暁, 今泉 真和, 直 弘
三菱化学メディエンス株式会社 創薬支援事業本部 試験研究センター 安全性薬理グループ

8．カンクイザルを用いた体内埋め込み式インピーダンス法による呼吸機能測定の検討

坂本 憲吾, 坂口 靖江, 松田 祐馬, 藤原 淳, 本坊 敏保
株式会社イナリサーチ

9．ラット及びアカゲザルにおけるコカイン及びペントバルビタール静脈内自己投与の比較

藤原 淳, 飯野 雅彦, 星野 満, 小口 正夫, 綿引 芳恵, 佐々木 幹夫, 若狭 芳男, 柳田 知司
株式会社イナリサーチ

10．カンクイザルの QT 間隔及びサル ERG 発現量に対するペンタミジンの影響

口述発表 5 と同じ

11．マイクロミニピッグ：イヌ・サルに替わりうる *in vivo* 薬物性 QT 延長評価モデル動物

口述発表 6 と同じ

12．アカゲザルにおける 2 種類の薬物自己投与法でのニコチン強化効果の検出精度の比較

口述発表 10 と同じ

< 要旨集 >

教育講座	P10
招待講演 I (心筋イオンチャネル)	P11
招待講演 II (行動薬理・依存性)	P12
シンポジウム (海外招待講演)	P13
シンポジウム (iPS/ES 細胞)	P14 ~ P15
パネルディスカッション (臨床の副作用)	P16 ~ P17

心臓の活動電位形成におけるイオンチャネルの役割

Roles of ion channels in cardiac action potential

黒川 洵子

東京医科歯科大学 難治疾患研究所

Junko KUROKAWA

Dept Bio-informational Pharmacol, MRI, Tokyo Med Dent Univ.

ヒトの心臓は1日約10万回拍動し、一生の間血液を全身に送り出している。この自律的で規則的なポンプとしての機能は、心臓の電気活動に統御されている。心臓電気活動とは、活動電位の発生と静止を意味し、心臓に発現するイオンチャネルの機能により規定される。

不整脈疾患とは心臓電気活動の均衡が乱れた状態である。不整脈の分子メカニズムを理解するには、まずは生理的状态の心筋活動電位を形成するイオンチャネルの性質と役割を知る必要がある。静止電位の形成、膜抵抗(膜のイオン透過性)の変化、イオンチャネルの電位依存性についての理解は基本となる。その理解を基に、特定のイオンチャネルの障害が、統合された心臓電気活動の中ではどのような意味を持つのかを考える端緒になれば有難い。

今回の教育講座では、活動電位形成におけるイオンチャネルの役割について基本となる事項の理解を目指し、予め募集した質問へのQ&Aコーナーを設け、参加者との対話形式で理解を深めたい。

< Memo >

T型カルシウムチャネルと心筋自動能

T-type calcium channel and myocardial automaticity

田中 光

東邦大学薬学部 薬物学教室

Hikaru TANAKA

Department of Pharmacology, Toho University Faculty of Pharmaceutical Sciences

Dihydropyridine 系降圧薬の efonidipine (ラセミ体) は、降圧に伴う反射性頻脈を起こしにくいことが知られているが、私達は摘出心筋標本等を用いてこの理由を研究する過程で心筋自動能に寄与するカルシウムチャネルについて理解を深めることが出来た。Efonidipine の光学異性体 (*R* 体, *S* 体) および nifedipine の各種カルシウムチャネル電流および洞房結節活動電位波形に対する作用を検討した。*R*(-)-efonidipine は選択的に T 型カルシウムチャネル電流 (Cav3.1 電流) を抑制した。マウス, モルモット洞房結節活動電位の緩徐脱分極の勾配を緩やかにして徐脈作用を示したが、ウサギではこのような波形変化は観察されなかった。*S*(+)-efonidipine は L 型カルシウムチャネル電流 (Cav1.2 および Cav1.3 電流) および T 型カルシウムチャネル電流 (Cav3.1 電流) を同程度に抑制し、ウサギ洞房結節活動電位の緩徐脱分極の勾配を緩やかにして徐脈作用を示した。Nifedipine は L 型カルシウムチャネル電流 (主に Cav1.2 電流) を強く抑制し、ウサギ洞房結節活動電位の緩徐脱分極の勾配のわずかな減少を起こした。なお、心房筋や心室筋でも L 型・T 型両カルシウムチャネル電流が観測されたが、心筋収縮への寄与は認められなかった。一般に小さい動物ほど心拍数が高い傾向があるが、その理由の 1 つとして小さい動物ほど洞房結節の歩調とりへの T 型カルシウムチャネル電流の寄与が大きいことが示唆された。また、L 型カルシウムチャネル電流の中でもこれまで知られていた Cav1.2 電流とは異なる Cav1.3 電流が緩徐脱分極に寄与することが薬理的に示された。動物種、発達段階、部位、病態の有無により心筋に発現するカルシウムチャネルの分子種や役割が異なり、これが薬物の作用・副作用にも影響すると考えられる。

QT 間隔の性差とイオンチャネル

Involvement of regulation of ion channels in gender difference in QT-interval

黒川 洵子

東京医科歯科大学 難治疾患研究所

Junko KUROKAWA

Dept Bio-informational Pharmacol, MRI, Tokyo Med Dent Univ.

薬物による心室筋再分極時間の延長(薬剤誘発性 QT 延長作用)は、Torsades de pointes (TdP)という特徴的な心室頻拍性不整脈を発症し、突然死を引き起こす可能性があることから、創薬の前臨床段階での安全性評価の必須項目である。しかしながら、現在においても QT 延長評価の精度を上げる努力は必要とされている。評価を困難にする一因として、不整脈のトリガー因子は複数あり、互いに関連しながら影響を与えることが挙げられる。我々は、不整脈トリガーの分子メカニズムを解析することにより、QT 延長評価の精度向上に寄与することを目標としている。

現在は、女性では男性の 2 倍以上 TdP が発症するという性差に注目している。QT 間隔が男性より女性が 20 ms 長いという生理的な性差には血中性ホルモン濃度が関連する事が、臨床的に指摘されている。それを受けて、性ホルモンによる転写調節を介したゲノム経路によるイオンチャネル発現量について国際的に解析されたが、実験結果は混とんとして結論がでなかった。一方、我々は、心筋のテストステロン・プロゲステロン受容体の非ゲノム経路の関与を世界に先駆けて発表し、性ホルモンが急性的にイオンチャネルを制御することにより心室筋再分極時間をコントロールすることを見出した。また、生理的濃度エストロゲンは非ゲノム経路を惹起せず、hERG チャネルに直接作用することを見出した。これらの結果を心臓活動電位コンピューターシミュレーションモデルに導入することにより、女性の性周期での催不整脈性の変動をモデル化した。

本講演では、心筋イオンチャネルに対する性ホルモンの急性作用の分子メカニズムを中心に、生理的濃度の性ホルモンが心室筋再分極時間に及ぼす影響について概説したい。

動物の行動から何が分かるか? - 包括的行動解析のすすめ -

What does animal behavior tell us? - Recommendation for comprehensive behavioral analysis -

小倉 博雄

エーザイ株式会社 エーザイ・プロダクトクリエーションシステムズ プロダクトクリエーション本部

Hiroo OGURA

Product creation Headquarters, Eisai Product Creation Systems, Eisai Co., Ltd.

動物はヒトのように思うところを話してはくれないので、行動を解析することが動物の脳神経の活動を知る上での重要なアプローチのひとつとなる。動物の行動は生得的行動と習得的行動の二つに大別されるが、実際にはこの二つが複雑に絡み合い、影響し合って最終的な行動として現れると考えられる。また、脳神経の活動以外の因子が大きく行動に影響することもしばしば見受けられる。したがって、行動を通して中枢神経系の活動を理解しようとする際には、ひとつの行動を追って結論を導き出すのではなく、できれば種々の行動を解析し、その動物が示す行動特性の全体像を浮き彫りにすることが望ましい。その上に立ってそれぞれの特徴をより深く掘り下げていく必要があると思われる。

このような見地から、今回は行動特性を包括的に把握することを目的として構築した包括的行動解析の手法について紹介する。本行動解析システムは、自発運動、運動機能、学習、情動性などをみる 6 種の行動試験系を組み合わせた基本メニューと、そこで何らかの差異が認められた際に実施するより詳細な解析メニューのふたつで構成されている。このシステムを用いて 20 数種の遺伝子操作マウスについて行動解析を実施した結果、およそ 70% の遺伝子操作マウスでそれぞれ特有の behavioral phenotypes をとらえることができた。これらの事例や薬剤による中枢神経系の発達障害検出の応用例を示しながら、行動学的評価の実際について述べ、更に行動解析にあたって考慮すべき諸点についても言及したい。

薬物依存の基礎研究と評価

Basic research and evaluation of drug dependence

鈴木 勉

星薬科大学 薬学部 薬品毒性学教室

Tsutomu SUZUKI

Department of Toxicology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Hoshi University

薬物依存は精神依存と身体依存に分類され、これらの評価法はほぼ確立されている。医薬品を開発する際、候補化合物の主作用あるいは副作用として中枢作用を示す場合には依存性試験を行う必要がある。精神依存の評価は条件づけ場所嗜好性試験 (CPP 法) や薬物自己投与 (SA) 法が主に用いられている。CPP 法は簡便であることから、合成段階より導入し、精神依存を示さない候補化合物を合成することも可能である。一方、精度の高い SA 法は、候補化合物の精神依存の有無や強度等の特徴も検討できる。また、薬物弁別法は薬物の感覚効果を評価する方法であり、依存性薬物で弁別を獲得した動物に候補化合物を投与して類似の感覚効果を示した場合には精神依存がある可能性が高い。これらの方法を組み合わせて候補化合物の精神依存を総合的に評価するのが好ましいと考えている。一方、身体依存は薬物の投与量、投与頻度、投与期間の3因子により強度が決定される。評価法としてはペンタゾシンやジアゼパムのような身体依存の弱い薬物でも退薬症候が観察できる方法でなければならぬ。我々が開発した薬物混入飼料 (DAF) 法は摂餌と共に薬物が摂取されることから、上記の3因子を満足し、オピオイドからベンゾジアゼピン系薬物まで評価できる有用な方法と考えている。また、モルヒネやバルビタールで身体依存を獲得した動物で休薬を行い、軽度の退薬症候が発現している状態に、候補化合物を投与してその退薬症候を抑制するか否かによって評価する交差身体依存性試験も行い、依存のタイプも検討する。次に、依存と規制の関係は、依存性があれば、直ちに規制ということではない。候補物質の臨床上的有用性と乱用や精神毒性等の危険性のバランスで決められる。臨床上的有用性に優れ、危険性が少ない薬物は規制を受けていないものも多く、また規制を受けていても汎用されている薬物も多い。医薬品の開発では有用性と危険性のバランスを探ることが重要である。

Existing and emerging strategies to reduce safety pharmacology related liabilities in pharmaceutical drug discovery and development

Jean-Pierre Valentin, PhD

Director & Global Discipline Leader for Safety Pharmacology

Department of Safety Pharmacology, Safety Assessment UK, AstraZeneca

Drug-induced cardiovascular adverse events remain the main reason for drug discontinuation, drug withdrawal from the market place and adverse drug reactions. Cardiovascular adverse events are diverse; they affect all components of the cardiovascular system (heart, vasculature and blood components) and can be life threatening. They occur following acute or chronic treatment and can be functional and/or structural in nature. In most cases they are not related to the primary pharmacological target, the therapeutic class or the chemical class. One of these cardiovascular issues has been the ability for certain drugs to induce a prolongation of the duration of the QT interval of the electrocardiogram leading, under certain circumstances, to potentially fatal arrhythmias known as *Torsades de Pointes*. Over the last 15 years, we have gained a significant understanding of the molecular mechanisms underpinning electrocardiographic changes such as prolongation of the QT and PR intervals and QRS complex and associated dysrhythmias. Nowadays, modern technologies allow early screening of large number of compounds against molecular targets that affect cardiac electrophysiology. *In silico*, *in vitro* and *in vivo* pre-clinical screening options are available and should enable to reduce the risk in man. The resulting pre-clinical integrated risk assessment has significant value in decision making and defining the clinical monitoring strategy. Although, the molecular mechanisms underpinning other cardiovascular toxicities (e.g., Inotropy / lusitropy; Cardiomyopathy) are still not fully understood, emerging non-clinical strategies based on the principles described for electrocardiographic issues are emerging. The presentation will provide examples of established and emerging cardiovascular strategies and will describe the impact that these strategies have on drug candidates' selection. The presentation will report on our knowledge gaps in particular in relation to understanding i) the translation of non-clinical assays to humans clinical outcomes, ii) the magnitude of changes that are a cause for clinical concern and iii) the association between functional and structural changes.

Role of safety pharmacology studies to predict adverse effects in late-stage clinical development

Alfred Botchway, PhD

President

Xenometrics LLC

Drug safety has continually been a vital aspect of drug development and extremely important in late-stage clinical development and has in recent years increased the importance of safety pharmacology studies especially in the eyes of drug development companies and global regulatory agencies. Drug-induced adverse events, which are not necessarily related to specific therapeutic or chemical classes, remain the main reason for discontinuation of late-stage clinical development products. The role of safety pharmacology studies to elucidate cardiovascular issues has been well publicized, but similar unwanted adverse side effects including life threatening events affecting other vital organ systems are also prevalent. One of the key roles of safety pharmacology is to help guide and provide information for a decision to be made for continued testing in the intended clinical population. This session will address i) the role of safety pharmacology studies in predicting clinical adverse events in organ systems including but not limited to the respiratory, central nervous system and cardiovascular system, ii) the magnitude of changes that predict a cause for clinical concern.

ヒト ES/iPS 細胞を用いた薬剤の催不整脈性評価技術の開発

Development of evaluation technology for arrhythmogenic potential of drugs with human ES/iPS cells

安田 賢二, 金子 智行, 野村 典正
東京医科歯科大学 生体材料工学研究所

Kenji YASUDA, Tomoyuki KANEKO, Fumimasa NOMURA
Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University

ヒト ES 細胞、ヒト iPS 細胞などのヒト幹細胞の出現は、これらヒト幹細胞から分化して無限に供給される品質の揃ったヒト臓器細胞を用いて薬剤の効果や毒性検査が実用化される可能を示唆している。しかし、実際には、単一の細胞レベルでの機能解析の結果と、臓器レベルの機能解析の結果の間には大きな隔りが存在する。これを理解するためには、細胞が集団・ネットワーク化することで初めて現れる「集団効果/協同性」や「細胞間伝達遅延」などの細胞ネットワーク特有の応答特性を理解する必要がある。これは、たとえば細胞の集団効果による拍動の安定性や、伝達経路の異方性に起因した刺激情報の組織内での循環伝導など、孤立化した1細胞や、従来のランダムな分散培養では計測することができない、規則を持った集団となることで初めて現れてくる現象などである。われわれは、この「細胞集団・ネットワーク」の階層の持つ機能特性を理解するために、構成的アプローチによって、1細胞レベルから細胞の空間配置・相互作用を制御して構築した細胞集団・ネットワークの培養技術と、数十細胞を同時に計測できる1細胞レベル細胞状態電位計測技術を組み合わせたオンチップ・セロミクス培養計測系を新たに構築し、構成的な手法によって細胞集団・ネットワークが持つ集団ならではの機能の定量的計測を試みている。

本会では1細胞単位での細胞形状変化の光学計測、電位変化計測を組み合わせることによって、心拍出量、Na, K, Caなどのイオンチャンネルの状態を細胞ネットワークから計測することができる本システムの概要に加えて、実際に心筋細胞をチップ上に1細胞単位で構成的に配置して環状ネットワークを形成することで期外収縮の発生を観測できるオンチップ・リエントリ-モデルによる薬剤応答定量的予測実験系など細胞ネットワークレベルでの心筋細胞を用いた創薬、毒性検査への応用の可能性について議論させていただきたい。

ヒトES/iPS細胞を用いた薬剤の催不整脈性評価技術による評価の現状

Current progress on evaluation of our developing technology for arrhythmogenic potential of drugs with human ES/iPS cells

北村 哲生, 榊原 基嗣, 小池 美紀子, 蔭山 瑠衣, 庵 泰徳, 館野 実, 長田 智治, 関島 勝
三菱化学メディエンス株式会社 創薬支援事業本部 先端技術研究センター

Tetsuo KITAMURA, Mototsugu SAKAKIBARA, Mikiko KOIKE, Rui KAGEYAMA, Yasunori IHORI, Minoru TATENO, Tomoharu OSADA, Masaru SEKIJIMA
Advanced Medical Science Research Center, Drug Development Service Segment, Mitsubishi Chemical Medience Co.

薬剤の開発において、催不整脈作用に関する安全性評価は必須である。非臨床試験における催不整脈作用評価として、*in vitro* I_{Kr} 試験、*in vivo* QT試験等が広く行われている。しかし、ヒト細胞との違いによる偽陽性や種差の問題があり、より外挿性に優れた動物代替系の開発は重要な課題である。我々はヒトとの細胞差による問題を解決し得るヒトES/iPS細胞由来心筋細胞を用い、細胞レベルと共に組織としての機能を計測可能な多電極システムにより細胞外電位(FP)を計測し、薬剤の催不整脈性を評価する*in vitro*評価系の開発を目指している。催不整脈作用の原因としてイオンチャネル阻害が大きな割合を占めるため、活動電位を形成する Na^+ 、 Ca^{2+} 、 K^+ の各イオンチャネル阻害効果をFP計測により評価できるか否かをヒト心筋と同様の各イオンチャネル群の発現・機能が期待されるヒトES細胞由来心筋を用いて検討した。その結果、 Na^+ チャネルブロッカーの適用により、波形ピークの強度が減少した。 Ca^{2+} チャネルブロッカーでは、細胞外電位持続時間(FPD)の短縮を示した。 K^+ チャネルブロッカーでは、FPDの延長を示した。以上の結果から、開発システムによりヒトES細胞由来心筋における各イオンチャネル阻害効果をFP計測により評価出来ることが示唆された。次に、我々はFPDを指標として*in vitro* I_{Kr} 試験であるhERG試験で発生する偽陽性・偽陰性薬剤を評価した。hERG試験において偽陰性を示すDL-SotalolではFPDの延長が確認され、本評価法からは K^+ チャネルのブロッカー陽性と判定できた。一方、偽陽性を示すVerapamilでは本評価法においてFPDの延長は確認されなかった。

以上から、我々の開発中のシステムはhERG試験における課題である偽陽性・偽陰性の問題を回避できることが示唆された。本開発システムにヒトES/iPS細胞由来心筋細胞を組み合わせることにより、安全性薬理に関するヒトへの外挿性に優れた動物代替法として構築できる可能性を議論したい。

QT 延長リスク評価におけるヒト iPS 細胞由来心筋細胞の有用性 - パッチクランプによる評価系の確立 -

Usefulness of human iPS cell-derived cardiomyocyte in the risk assessment of QT prolongation

- Establishment of evaluation system with patch clamp -

本多 正樹, 清川 順平, 井上 智彰, 田保 充康
中外製薬株式会社 安全性研究部

Masaki HONDA, Jumpei KIYOKAWA, Tomoaki INOUE, Mitsuyasu TABO
Safety Assessment Dept., Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

ヒト iPS 細胞は, ヒト由来体細胞へ特定の遺伝子を導入した細胞であり, 多分化能を有する。本細胞を分化することにより得られるヒト iPS 細胞由来心筋細胞は, 心筋としての機能に關与する複数の分子 (イオンチャネル, 収縮關連タンパクなど) を保持するヒト細胞であり, ヒト心筋における化合物のイオンチャネル電流及び活動電位へ及ぼす影響を総合的に評価可能な試験系となることが期待される。さらに遺伝的背景や病態に応じて個別に iPS 細胞を創ることも可能であり, 患者 (病態) 特性に基づくリスク要因を加味した安全性評価や, 個別医療への貢献も期待できる。そこで我々は, ヒト iPS 細胞を拍動する心筋細胞へ分化させ, 分化した細胞の電気生理学的及び薬理学的特性をパッチクランプ法によって明らかにし, 安全性評価への有用性を検討してきた。

ヒト iPS 細胞は 201B7 株を用い (Cell 131: 861-872, 2007), 分化した拍動する細胞塊を酵素処理によって単一細胞へ分散させ, パッチクランプに用いた。本細胞から得られた I_{Na} , I_{Ca} , I_{Kr} 及び I_{Ks} はそれぞれに特徴的な電位依存性を示し, 各種イオンチャネル阻害剤によって抑制された。Current-clamp 法により活動電位波形を取得し, それらへ対するイオンチャネル阻害剤の作用を検討したところ, I_{Kr} 及び I_{Ks} 阻害剤によって活動電位持続時間は延長し, I_{Ca} 阻害剤によって短縮した。以上の結果から, ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた本試験系は, 電気生理学的安全性評価において有用な手法となる可能性が示された。

本シンポジウムでは, ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いたパッチクランプ評価系について紹介し, 安全性薬理評価における課題について考察する。

ES/iPS 細胞の毒性・安全性薬理評価への応用 - 現状と期待される応用 -

Application of ES/iPS cells to toxicology/safety pharmacology - Current status and expected utilization -

篠澤 忠紘

武田薬品工業株式会社 医薬研究本部 開発研究センター

Tadahiro SHINOZAWA

Development Research Center, Pharmaceutical Research Division, Takeda Pharmaceutical Company Limited

医薬品候補化合物のヒトにおける副作用発現の可能性を評価するため、ヒト初代細胞を用いた種々の試験系の利用が試みられている。しかしながら、細胞ロット間のばらつきや入手困難な細胞種があるため、試験系の発展が制限されている。胚性幹細胞(ES 細胞)は、分化誘導により安定的に均一な各種の分化細胞を生産でき、また、分化細胞は hERG 試験などで用いられるリコンビナント細胞に比べ、目的とする細胞の生理的な機能をより保持していると考えられることから、効率的で精度の高い副作用予測を行えると期待されている。

今回、我々はマウス ES 細胞から分化誘導により得られた心筋マーカー陽性分化細胞を用いて網羅的遺伝子発現解析を行い、安全性研究に利用できる可能性のある機能を探索した。パスウェイ解析ソフト (Ingenuity Pathways Analysis) を用いて、分化誘導により発現変動した遺伝子群を解析したところ、分化細胞は心筋関連の機能分子のネットワークを保持していることがわかった。また、イオンチャネル関連遺伝子について、成体心室筋と比較解析をしたところ、カルシウム及びカリウムチャネル遺伝子群において、成体心室筋の遺伝子発現に類似する遺伝子が多く含まれることがわかった。実際に、分化細胞は自律拍動能を保持し、拍動機能はイオンチャネルブロッカーにより影響を受けることが確認された。また、troponin や actin など構造的に拍動機能に関係する遺伝子発現の多くも、成体心室筋のそれと類似しており、透過型電子顕微鏡観察の結果、分化誘導後の培養日数の経過に伴い形態的に成熟していることが示唆された。本シンポジウムでは、以上の結果に加えて iPS 細胞を用いた検討結果についても一部紹介し、ES 並びに iPS 細胞の安全性研究における新たな可能性について考察したい。

臨床試験段階における副作用予測

Prediction of adverse drug reactions in clinical trials

熊谷 雄治

北里大学東病院 治験管理センター

Yuji KUMAGAI

Clinical Trial Center, Kitasato University East Hospital

臨床試験において治験薬の有害反応を可能な限り回避することは被験者保護に最も重要な問題である。しかし、臨床試験の段階で得られている薬剤の情報は限られており、非臨床試験で得られた所見をもとに、動物からヒトへの外挿を行う必要がある。一般的に組織中薬物濃度と薬理効果の関連は種を超えて一致すると考えられているため、薬理作用に基づいて出現する毒性については動物データによりヒトでの反応を予測することがある程度可能である。このような暴露の程度に依存した毒性についてはバイオマーカーの活用などを組み合わせることにより、有害反応の予測性を高めることが可能であろう。腎障害におけるバイオマーカーの探索はその良い例のひとつである。しかし、非臨床試験データのヒトへの外挿にはいくつかの問題点がある。まず、近年増加しているヒトに特異的な抗体等については動物データからの予測性は低いことがあげられ、特に主たる薬理作用の過剰発現は、TGN1412 事件で見られたようなきわめて重篤な有害反応へつながりかねない。また、ヒトで見られる有害反応の多くは被験者により言語化されてはじめて出現したことがわかるものが多く、一般的に自覚される有害反応は動物データからの予測には限界がある。さらに、より広い臨床的使用で問題になる有害反応は出現頻度がきわめて低いものが多く、これらの直接的な検出は対象例数が限られている臨床試験の段階では不可能である。しかし、なんらかのバイオマーカーを用いて特定の有害反応のリスクを予想することが開始されており、心電図 QT 間隔延長を用いた致死性不整脈出現リスクの予想がこれにあたる。これらのことから、有害反応の検出、有害反応のリスクの予測するためには非臨床試験段階、臨床試験段階におけるデータの蓄積と有害反応バイオマーカーの探索が重要である。

薬物の循環器系副作用発現に影響する生体側因子

Intrinsic factors affecting the manifestation of drug-induced adverse events in the cardiovascular system

中谷 晴昭, 金指 美沙子, 小倉 武彦
千葉大学大学院医学研究院 薬理学

Haruaki NAKAYA, Misako KANAZASHI, Takehiko OGURA
Department of Pharmacology, Chiba University Graduate School of Medicine

薬物が投与される患者側の病的素因や遺伝的素因によって、その循環器系副作用が出現することがある。例えば、心肥大、心不全、糖尿病といった病態においては、既に心筋細胞膜における K^+ チャネル密度が低下し、活動電位幅が延長しているため、 K^+ チャネル遮断作用を持つ薬物の投与によってその QT 延長作用が更に増強する可能性がある。特にうっ血性心不全においては重症心室性不整脈や心房細動を併発する事が多いが、それらを治療するために K^+ チャネル遮断作用を持つ抗不整脈薬を投与すると、過度の QT 延長を来し、Torsade de pointes (Tdp)を惹起する事も多い。また、遅延整流 K^+ 電流の速い成分(I_{Kr})および遅い成分(I_{Ks})を流す HERG チャネルや K_vLQT1 チャネルに潜在的な変異が存在する場合には、QT 延長作用を持つ薬物によって容易に Tdp を引き起こす可能性がある。また、海外から一塩基多型(SNP)によって二次性 QT 延長症候群の発生頻度が異なってくるという報告もなされている。そこで本邦において抗不整脈薬で誘発された QT 延長症候群の患者において観察された、いくつかの SNP を同定し、イオンチャネルおよびその付属蛋白の一部の SNP が薬物の反応性を変化させるか否かについて、それらのイオンチャネルおよび付属蛋白を培養細胞に発現させ機能解析を行った。その結果、今回検討した SNP については、QT 延長を来す抗不整脈薬の pirlmenol に対する感受性は大きく影響する事は無かった。また、細胞外液の K^+ 濃度を変化させると HERG チャネル電流に対する pirlmenol の抑制作用は増強した。これらの結果から、環境因子の変化が二次性 QT 延長症候群の発症により重要な役割を果たす事が示唆された。本発表では二次性 QT 延長症候群の発生に関与する病態因子、遺伝的因子および環境因子について論じてみたい。

第 相臨床試験（臨床薬理試験）の試験デザインについて

Planning and design of phase I study

水野 英子

田辺三菱製薬株式会社 開発本部 データサイエンス部

Hideko MIZUNO

Data Science Department, Development Division, Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation

巨額の費用と長い開発期間を要する医薬品開発においては、リスクマネジメントの重要性がますます高まっている。多くの製薬メーカーが、開発後期中断や市場撤退という巨大な損失を減らすべく、POC（proof of concept）の早期見極めを加速化するとともに、より戦略的なリスクマネジメントの方法を模索している。

このような流れの中、主に健康成人を対象として安全性・忍容性の確認を主要評価項目とする第 相臨床試験（以下、P1 試験）、特に FIH（First in Human）試験の位置づけは非常に大きい。FIH 試験として実施される単回投与試験は、それ以後に実施される全ての臨床試験の用量限界を決定づける最大耐量（MTD）や最大許容量（MAD）を把握するものであり、推定臨床用量を超えた高用量域での安全性情報を入手できる数少ない機会だからである。P1 試験成績から得られる有害事象の発現傾向や頻度は、非臨床試験から得られた安全性情報と合わせて薬物の潜在的リスクを評価する重要な情報であり、その後の開発段階でのリスクマネジメントを構築する指標ともなる。最近では、POC 見極めの判断や POC 確認後の事業性をより明確に評価するため、P1 段階から患者での試験を実施するのはもちろんのこと、有効性や安全性をより積極的に評価するバイオマーカーを探索して P1 試験から取り入れるなど、開発スピードや開発効率をあげるための取組みが色々検討されていると思う。このように治験環境が厳密にコントロールされた中で多くの情報を得られる P1 試験計画の策定は非常に重要で、かつ内容も豊富なものとなっている。

本口演では、そういった P1 試験の治験デザインを考えるにあたりどの様なところにポイントを置いて策定すべきか、過去の失敗も踏まえて私見を述べさせていただきたいと思う。

< Memo >

< 要旨集 >

一般演題

口述発表 (1 ~ 10)

P19 ~ P23

ポスター発表 (1 ~ 12)

P24 ~ P28

オートパッチクランプを用いた Cav1.2 及び Nav1.5 チャンネル阻害スクリーニング系の確立

Establishment of cardiac ion channel screening system on QPatch

本多 正樹，磯部 剛仁，小松 竜一，田保 充康
中外製薬株式会社 安全性研究部

Masaki HONDA, Takehito ISOBE, Ryuichi KOMATSU, Mitsuyasu TABO
Safety Assessment Dept., Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

【背景及び目的】安全性薬理に関する早期スクリーニング評価として，hERG チャンネル強制発現細胞株を用いたオートパッチクランプアッセイが広く実施されている。しかし，生体の心循環機能には Ca^{2+} チャンネルや Na^{+} チャンネルも重要な役割を担っており，より副作用の軽減を目指した化合物創製のためには創薬早期段階からこれらのチャンネルへの作用を加味した総合的なリスク評価を実施することが有効と考えられる。そこで本研究ではオートパッチクランプ機器（Qpatch HTX）を用い，Cav1.2 及び Nav1.5 チャンネルスクリーニング系を確立し，本スクリーニング系のチャンネル阻害検出感度及び実験精度について検証することを目的とした。

【方法】Cav1.2 強制発現 CHO 細胞及び Nav1.5 強制発現 CHL 細胞を使用した。機器は Qpatch HTX（48 データ同時取得システム）を用い，single hole mode にて全細胞電流を測定し，各イオンチャンネルの電気生理学的特性を確認した。また，種々の陽性対照薬（Cav1.2: 7 種，Nav1.5: 8 種）を用いて各チャンネル阻害検出感度を検討した。

【結果及び考察】Qpatch にて測定した各イオンチャンネルの電気生理学的特性はマニュアル法で得られたものと同様であり，スクリーニングに妥当な試験系であると考えられた。各種陽性対照薬では濃度依存的に電流が抑制され， IC_{50} 値はマニュアル法で得られた値と同等であり，本法はマニュアルパッチクランプと同等の検出感度を有すると考えられた。有効データ取得率は約 50% であり，各アッセイでおおよそ 24 細胞のデータが取得可能であった。以上，Qpatch システムを用いた Cav1.2 及び Nav1.5 チャンネルスクリーニング系は，創薬早期段階において化合物の心循環副作用リスクの予測及び回避手段の探索に有効なツールになると期待できる。

光学イメージングシステムを用いた心臓刺激伝導系評価：ウサギ心筋梗塞モデルの摘出心臓におけるフレカイニドの作用

Optical imaging of flecainide-induced changes in excitation propagation in isolated rabbit heart with the subchronic myocardial infarction

稲村 直樹，前川 素子，白川 清，和崎 正彦，西田 敦之，宇野 芳文，北村 和之
田辺三菱製薬株式会社 研究本部 安全性研究所

Naoki INAMURA, Motoko MAEKAWA, Kiyoshi SHIRAKAWA, Masahiko WASAKI, Atsuyuki NISHIDA, Yoshifumi UNO, Kazuyuki KITAMURA
Safety research laboratories, Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation

膜電位感受性色素を用いた光学イメージング技術により心室の興奮伝播を可視化することが可能である。この技術を用いて心室性不整脈の前兆となる変化を捉えることができれば薬剤の催不整脈作用の予測に有用であると考えられる。

Na⁺チャンネル阻害薬は心筋梗塞や頻脈の患者において、心室細動（VF）等のリエントリー性不整脈を誘発するリスクを高めることが知られている。今回、我々は心筋梗塞モデルのウサギから摘出した心臓にクラス Ic 群の抗不整脈薬であるフレカイニドを灌流下で頻脈を誘発させた際の興奮伝播を光学イメージング装置により記録した。

心筋梗塞モデルは麻酔下でウサギの左回旋枝を結紮することにより作成し、1 週間後に心臓を摘出し Langendorff 灌流心として実験に供した。フレカイニド（1 μM）は 15 分間灌流させ、さらに頻脈を誘発するためイソプロテレノール（10 nM）をフレカイニドと同時に VF が発生するまで最大 15 分間灌流した。興奮伝播の変化は心臓に膜電位感受性色素の di-4-ANEPPS を灌流させて得られる蛍光を高速高感度カメラで記録した。

フレカイニドにより心室内の興奮伝播の伝導速度は減少し、不均一な興奮伝播が誘発された。これらの変化はイソプロテレノールにより誘発された頻脈下で増強した。VF が誘発された心臓では、発火のタイミングの遅延や興奮伝播の方向の分散が VF 発生の直前に観察された。

以上の結果から、心室の興奮伝播の方向や発火のタイミングの不均一性等の変化を光学イメージング技術により検出することは薬剤誘発催不整脈作用の予測に有用である可能性が示唆された。

hERG チャネル活性化薬剤 ICA-105574 の心電図に及ぼす影響

The effects of hERG activator, ICA-105574 on ECG

浅山 真秀子, 矢野 浩二, 白川 清, 奥山 久嗣, 西田 敦之, 宇野 芳文, 北村 和之
田辺三菱製薬株式会社 研究本部 安全性研究所

Mahoko ASAYAMA, Kouji YANO, Kiyoshi SHIRAKAWA, Hisashi OKUYAMA, Atsuyuki NISHIDA, Yoshifumi UNO,
Kazuyuki KITAMURA
Safety Research Laboratories, Research Division, Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation

【目的】QT 短縮症候群において心室性不整脈及び突然死が認められることが知られており、QT 短縮症候群には hERG チャネルの先天性遺伝子変異による hERG 電流が増加した患者も含まれている。近年、hERG チャネルを活性化する薬剤の存在が明らかとなってきたが、薬剤による hERG チャネルの活性化と QT 短縮を含む心電図との関連性は未だ明確になっていない。本研究では hERG チャネルを活性化することが知られている ICA-105574 について、hERG 電流並びにモルモット摘出心臓及び麻酔下イヌにおける心電図に対する影響を評価し、hERG 活性化作用と心電図変化との関連を比較検討した。

【方法】hERG 電流は、hERG 過剰発現 HEK293 細胞を用いてホールセルパッチクランプ法により測定した。モルモット摘出心臓では、洞リズム下または 200 あるいは 300 bpm のペーシング下で心電図及び単相性活動電位を測定した。これらの検討では 0.3、1、及び 3 $\mu\text{mol/L}$ を評価した。麻酔下イヌにおける検討では、1%ハロセン麻酔下で 1、3、及び 10 mg/kg の用量を静脈内投与し、心電図を測定した。また、心電図測定と同時に採血し、血漿中薬物濃度を測定した。

【結果及び考察】ICA-105574 は 0.3 $\mu\text{mol/L}$ から脱分極過程における hERG 電流を増加させ、1 $\mu\text{mol/L}$ においては薬剤処理前に比較して約 4 倍に増加させた。イヌ麻酔下心電図に対しては、10 mg/kg で QT 及び QTc を短縮させ、このときの血漿中蛋白非結合型薬物濃度は約 2 $\mu\text{mol/L}$ であった。一方、モルモット摘出心臓においては 3 $\mu\text{mol/L}$ まで明らかな心電図異常は認められなかった。以上のように、hERG の活性化により hERG 電流を増加させる薬剤が in vivo で QT を短縮させる可能性が示唆された。

I_{Ks}ブロック誘発性torsades de pointesのリスク評価のための非臨床評価ストラテジー

Nonclinical testing strategy for risk assessment of I_{Ks} blockade-induced torsades de pointes liability

千葉 克芳, 高砂 浄, 高森 秀男, 阿部 泰之, 坂倉 智子, 鈴木 尚子, 前田 優, 三分一所 厚司
第一三共株式会社 研究開発本部 安全性研究所

Katsuyoshi CHIBA, Kiyoshi TAKASUNA, Hideo TAKAMORI, Yasuyuki ABE, Tomoko SAKAKURA, Naoko SUZUKI,
Yu MAEDA, Atsushi SANBUISHO
Medicinal Safety Research Laboratories, R&D Division, Daiichi Sankyo Co., Ltd.

【目的】 我々は、薬物誘発性 QT 延長症候群のリスク評価のための非臨床評価ストラテジーとして、標準試験 [hERG 電流アッセイ、モルモット活動電位アッセイ（右室乳頭筋標本）および心電図評価（覚醒・正常イヌ/サル）] に加えて、各種フォローアップ試験の重要性を提案してきた（谷本学校 毒性質問箱 第 12 号：36 - 44, 2010）。今回、選択的 I_{Ks} 阻害作用を有する HMR1556 (IC₅₀=0.034 - 0.12 nM) を用い、I_{Ks} 阻害作用による QT 延長症候群発生のリスクを標準試験および各種フォローアップ試験を用いて評価した。

【方法及び結果】 標準試験：hERG 電流（ハイスルーブット/マニュアル法）および活動電位アッセイ（右室乳頭筋標本）において、30 μM まで作用は認められなかった。覚醒・正常イヌ [1 and 3 mg/kg/10 min i.v. infusion (n=4)] において、QT / QTc の延長作用が認められたが、torsades de pointes (TdP) は誘発されなかった。 フォローアップ試験：単離心室筋細胞を用いたモルモット活動電位アッセイにおいて、右室乳頭筋標本では捕捉できなかった活動電位持続時間の延長作用が認められた。麻酔・正常ウサギ [1 and 3 mg/kg/10 min i.v. infusion (n=4)] および麻酔・ α_1 受容体作動薬負荷ウサギ [6 mg/kg/20 min i.v. infusion (n=4)] において、QT / QTc の延長作用が認められたが、TdP は誘発されなかった。一方、麻酔・慢性房室ブロック（慢性心不全）イヌ [1 and 3 mg/kg/10 min i.v. infusion (n=5)] では、覚醒・正常イヌに比較して同等以上の QT / QTc の延長作用が認められ、2 例において TdP が誘発された。

【考察】 I_{Ks} 阻害作用も QT 延長および TdP 誘発の原因となることから、薬物誘発性 QT 延長症候群のリスク評価のためには、早期に I_{Ks} 阻害作用の有無を検討することも重要である。

カニクイザルの QT 間隔及びサル ERG 発現量に対するペンタミジンの影響

Effects of pentamidine on QT interval and ether-a-go-go related gene expression in cynomolgus monkeys

松尾 純子, 桑野 康一, 大熊 慎也, 伴 昌明, 徳吉 誠一郎, 鈴木 晶子, 春山 みほり, 洲加本 孝幸, 福崎 好一郎,
永田 良一
株式会社新日本科学 安全性研究所

Junko MATSUO, Koichi Kuwano, Shinya Ohkuma, Masaaki BAN, Seiichiro Tokuyoshi, Akiko SUZUKI, Mihori HARUYAMA,
Takayuki SUKAMOTO, Koichiro FUKUZAKI, Ryoichi NAGATA
Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd. Drug Safety Research Laboratories (SNBL DSR)

【目的】薬剤誘発性 QT 延長は、薬剤が心筋の hERG チャンネルを直接的にブロックすることが主な原因と考えられている。しかし、いくつかの薬剤は、*in vitro* において hERG チャンネルタンパク質の細胞内輸送（hERG トラフィック）を阻害することが報告されており、hERG トラフィック阻害が薬物誘発性 QT 延長のメカニズムの一つとして関与する可能性が示唆されている。本研究では、臨床において QT 延長及び torsades de pointes を起こすことが報告されており、また *in vitro* において hERG トラフィック阻害作用を有することが知られているペンタミジンをカニクイザルに反復投与し、QT 間隔に対する影響を検討した。さらに、同一個体の心筋組織における活動電位、 I_{Kr} 密度及びサル ERG チャンネルの発現に対する影響についても検討した。

【方法】雄性カニクイザル ($n=4$) にペンタミジンを 4 mg/kg/day で反復筋肉内投与し、テレメトリー法により心電図を経時的に測定した。QTc 延長 (10%以上) がみられた時点で、ペントバルビタール麻酔下にて心臓を摘出し、微小電極法により乳頭筋活動電位を、穿孔パッチクランプ法により左心室筋の I_{Kr} 密度を、ウェスタンブロット法により左心室筋の ERG 発現量をそれぞれ測定した。

【結果及び考察】ペンタミジン投与開始後 3 週以降において、全例で投与前と比較して 10%以上の QT/QTc の延長がみられた。また、乳頭筋活動電位において、無処置の動物と比較して APD₉₀、APD₃₀ 及び APD₃₀₋₉₀ の有意な延長 (約 30%) がみられた。左心室筋においては、 I_{Kr} 密度の有意な減少 (約 25%) 及び ERG 発現量の低下傾向 (約 30%) がみられた。これらの結果より、ペンタミジンはカニクイザルにおいて ERG 発現量及び I_{Kr} 密度を減少させることにより、QT 間隔を延長させる可能性が示唆された。

マイクロミニピッグ：イヌ・サルに替わりうる *in vivo* 薬物性 QT 延長評価モデル動物

Microminipig: An alternative *in vivo* animal model to dogs and monkeys for analyzing drug-induced QT-interval prolongation

斉藤 裕之¹, 秋江 靖樹^{1,2}, 中村 裕二², 星合 清隆¹, 永山 幸利¹, 楯 美樹¹, 岡田 啓¹, 金子 直樹³, 伊藤 勝彦³, 杉山 篤²

¹スギ生物科学研究所株式会社, ²東邦大学・医学部・薬理学, ³富士マイクラ株式会社

Hiroyuki SAITOH¹, Yasuki AKIE^{1,2}, Yuji NAKAMURA², Kiyotaka HOSHIAI¹, Yukitoshi NAGAYAMA¹, Yoshiki TATE¹, Hiroshi OKADA¹, Naoki KANEKO³, Katuhiko ITOH³, Atsushi SUGIYAMA²

¹Sugi Institute of Biological Science; ²Department of Pharmacology, School of Medicine, Toho University; ³Fuji Micra Inc.

【目的】我々は2008年、成獣でも体重10 kg未満の世界最小サイズの超小型ミニブタ（登録和名：マイクロミニピッグ、英名：Microminipig, MMP）を開発した。今回、MMPの薬物性QT延長評価モデル動物としての有用性を検討した。

【方法】5匹の雄性MMP（体重10.9±0.1 kg）を1%ハロセンで吸入麻酔した。大腿動静脈にシースを留置し、それぞれ血圧測定および薬物投与に利用した。体表面第 誘導心電図を測定した。dl-Sotalolの各用量（0.1, 0.3 及び1 mg/kg/10 min, i.v.）を20分間隔で累積投与した。

【結果】心拍数および平均血圧の前値はそれぞれ101±11 bpm および65±7 mmHgであった。心拍数は0.1 mg/kg投与後から低下し、平均血圧は0.3 mg/kg投与後から低下した。PR間隔, QRS幅, QT間隔およびQTcFの前値はそれぞれ95±5, 36±5, 312±18 および367±11 msであった。PR間隔, QT間隔およびQTcFは0.1 mg/kg投与後から延長したが、QRS幅には変化を認めなかった。

【考察】今回観察されたdl-sotalolの薬理作用はイヌやサルにおける報告と一致したので、MMPはイヌやサルと同様に薬物性QT延長評価モデルとして利用できると考えられた。MMPは現在、薬物性QT延長評価以外に、薬物性TdP、慢性心不全、動脈硬化、薬物動態など、種々な分野の研究への応用が進められている。

ヒト ES 細胞由来心筋を用いた QT リスク評価に関する基礎検討

Basic study for QT risk assessment using cardiomyocyte derived from human embryonic stem cells

谷口 智彦¹, 日原 太郎², 光村 直洋², 吉永 貴志¹, 山崎 一斗², 伊藤 昌史², 澤田 光平¹
エーザイ株式会社, ¹グローバル CV 評価研究部, ²新技術研究部

Tomohiko TANIGUCHI¹, Taro HIHARA², Naohiro KOHMURA², Takashi YOSHINAGA¹, Kazuto YAMAZAKI², Masashi ITO², Kohei SAWADA¹

¹Global CV Assessment Dept., ²New Technology Dept., Eisai Co., Ltd.

新規化合物の心電図 QT 間隔への影響をより早期に調べ、影響のあるまたはその可能性が示唆された化合物を排除することは医薬品開発の迅速化につながる。しかしながらイヌやサルを用いた QT リスク評価は比較的開発後期に実施されることが多い。近年、ヒト幹細胞から分化させた心筋細胞が利用可能となり、多検体をより開発早期に、またより少量の化合物で、ヒト心筋に発現している各種イオンチャネルへの影響を包括的に評価できるツールとして期待されている。これまで、遺伝的、電気生理的な特徴づけを始めとした各種検討が行われており、幹細胞由来心筋細胞塊は洞結節、心房、心室タイプに分類できることや、心筋塊ごとがヘテロな集団であることなどが分かっているものの背景データはまだ十分蓄積されているとはいえない。そのため、評価に用いる細胞塊のクライテリアの設定やデータの解釈については議論の余地があり、医薬品開発過程での QT リスク評価の実践というレベルには至っておらず、今後更なるデータの蓄積が求められている。

我々はヒト ES 細胞由来心筋細胞塊を使って、遺伝子解析及び電気生理学的な基礎検討を行った。その結果、Nav1.5, Cav1.2, Kv7.1, Kv11.1, Kir2.1 等の活動電位の形成に寄与する主要な遺伝子群の発現が確認された。また、MED64 システムを用いて、QT 間隔に影響を与える代表的な化合物による Field Potential（細胞外電位）の変化を解析したところ、 I_{Kr} , I_{Ks} 阻害による細胞外電位持続時間（FPD）の延長、 I_{Ca} 阻害による FPD の短縮が見られた。しかし、薬物への応答性、Field Potential 波形、またその変化パターンなどに細胞塊ごとで大きな差があり、信頼できる結果を得るためには更なる検討が必要である。本研究会では遺伝子解析の結果や実際の測定方法等について発表する。

Hand2 発現による P19 細胞から交感神経への高効率な分化誘導

Highly efficient conversion of P19 embryonal carcinoma cells to sympathetic neuron by Hand2 expression

橋本 裕介, 堤 未香穂, 加藤 尚弘, 小野田 文俊, 大津 正也, 田代 文夫, 村上 康文
東京理科大学大学院 基礎工学研究科 生物工学専攻 ゲノム生物学研究室

Yusuke HASHIMOTO, Mikaho TSUTSUMI, Naohiro KATOH, Fumitoshi ONODA, Masaya OHTSU, Fumio TASHIRO,
Yasufumi MURAKAMI
Tokyo Univ. of Science, Fac. Indust. Sci. Tech., Biol. Sci. Tech.

【目的】近年、ES 細胞や iPS 細胞を利用した再生医療、薬物の毒性評価への応用が注目を集めている。このような技術への応用には、高効率かつ、目的の分化形質へ特異的に分化誘導することのできる方法が必要とされる。しかし、従来のサイトカインなどの液性因子を利用した分化誘導法は、効率、特異性が共に低く、このような技術への応用は難しい。そこでこのような問題を解決するために、各分化形質を決定するのに必要なマスター遺伝子の同定ということが近年の研究の中心となっている。そこで私たちは、転写因子 Hand2 に着目し、末梢神経の高効率な分化誘導法の開発、およびそのメカニズムの解明を試みた。

【方法】Hand2 は、末梢神経の発生初期段階において発現が誘導され、交感神経が分泌するノルアドレナリンを合成する酵素である Dopamine β hydroxylase を制御することが報告されている。また、神経冠の初代培養細胞において Hand2 を過剰発現させると末梢神経へ分化が誘導されることも報告されている。そこで私たちは、ES 細胞と同様に三胚葉に分化誘導することが可能である P19 細胞において Hand2 の発現を誘導し、末梢神経への分化を試みた。さらに、P19 細胞を利用した分化誘導法が *in vivo* の末梢神経分化を反映しているか定量性 PCR によって評価を行った。

【結果及び考察】ES 細胞から末梢神経への分化誘導効率は 3 割と低い効率であったのに対し、本方法では 8 割以上の効率で交感神経へと分化誘導することに成功した。さらに、本細胞における分化メカニズムを解析したところ、末梢神経の発生と同様の遺伝子の発現変動を示すことが示唆された。さらなる解析により、Hand2 が未分化維持に必須とされる Nanog や、自律神経の発生に必要とされる Phox2b などの遺伝子を制御することで交感神経へと分化を促進することが示唆された。本研究は ES 細胞や、iPS 細胞の交感神経分化に必須となるマスター遺伝子を同定し、より高効率な分化誘導法の開発へ貢献することができると期待される。

D70-PCTR を用いたテレメトリー法によるイヌの呼吸機能解析

Analysis of respiratory function in conscious freely moving dogs by a telemetry method with D70-PCTR

久我 和寛, 林 良太, 古川 義之, 山本 恵司
武田薬品工業株式会社 医薬研究本部 開発研究センター

Kazuhiro KUGA, Ryouta HAYASHI, Yoshiyuki FURUKAWA, Keiji YAMAMOTO
Development Research Center, Pharmaceutical Research Division., Takeda Pharmaceutical Co., LTD.

【目的】D70-PCTR (Data Sciences International)は新規のテレメトリー用送信機であり、本装置で胸郭インピーダンスを測定することにより、非拘束下で連続的に呼吸数や換気量などの呼吸パラメータを測定することができる。本研究の目的は、イヌにおいてD70-PCTRを用いた非拘束下での長時間の連続した呼吸機能評価を試み、今後の毒性及び安全性薬理評価への応用が可能か否かを検討することである。

【方法】D70-PCTRをビーグル犬計4頭に埋め込み、以下の検討を行った。最初に、塩酸メドトミジン (0.07 mg/kg, i.m.)によって鎮静させたイヌの呼吸機能を、ニューモタコメータとD70-PCTRで同時に測定し、各種パラメータの値を比較した。次に、ホームケージでのD70-PCTRを用いた連続記録による無処置時の呼吸パラメータの日内・日間変動、個体差といった呼吸の基礎データの収集を行った。最後に呼吸興奮作用のある塩酸ドキサプラム (1, 3, 10 mg/kg, i.v.)を投与したときの呼吸機能の変化を検討した。なお解析にはDSI PONEMAH (ver. 4.9)を使用した。

【結果及び考察】D70-PCTRとニューモタコメータとの同時測定では、呼吸数は両法で同等の測定値が得られたが、一回換気量及び分時換気量については鎮静により呼吸数が低下している時には、D70-PCTRの測定結果の方がニューモタコメータの測定結果に比べ、高い値を示す傾向がみられた。ホームケージ内でのデータ収集では、いずれのパラメータにおいても日内変動が認められたが、日間変動は明らかでなかった。また、一回換気量に個体差がみられ、個体間での絶対値の比較には注意が必要であることが判明した。塩酸ドキサプラムの投与では、用量依存的に呼吸数、一回換気量及び分時換気量が増加し、呼吸機能の亢進が確認された。以上の結果より、D70-PCTRを用いてイヌの呼吸機能の変化を捉えられる可能性が示された。

アカゲザルにおける2種類の薬物自己投与法でのニコチン強化効果の検出精度の比較

Comparison of detection accuracy of the nicotine reinforcing effect between 2 self-administration procedures in rhesus monkeys

飯野 雅彦, 藤原 淳, 星野 満, 佐々木 幹夫, 若狭 芳男, 柳田 知司
株式会社イナリサーチ

Masahiko IINO, Atsushi FUJIWARA, Mitsuru HOSHINO, Mikio SASAKI, Yoshio WAKASA, Tomoji YANAGITA
Ina Research Inc.

【目的】薬物の強化効果を検索する薬物自己投与法には、1日の薬物摂取可能時間を1-2時間、各用量の観察を数日間以内とする短期間自己投与法と、時間制限をせず各用量を2週間以上観察する連続自己投与法がある。短期間自己投与法では短期間に広い用量範囲の強化効果を検索できるが false positive（あるいは negative）の問題があり、連続自己投与法では実験期間は長い強化効果の検出精度は高いと考えられるが、その比較データは報告されていない。本研究では、強化効果が比較的弱いニコチンの静脈内自己投与による検出精度の違いを、アカゲザルの短期及び連続自己投与法で検討した。

【方法】数種薬物の自己投与経験を有するがニコチン自己投与経験のないアカゲザル8例（n=4）を用い、短期間（2時間法）及び連続自己投与法（連続法）でニコチン自己投与を観察した。2時間法では、1日の摂取可能時間を2時間、用量範囲は0.00025～0.256 mg/kg/inf.（連続4日間/用量）の条件とした。連続法では、1日24時間連続で摂取可能、用量範囲は0.01～0.1 mg/kg/inf.（14-21日間/用量）とした。

【結果及び考察】2時間法では4例中2例がニコチンを活発に摂取したが、他の2例では活発な摂取はなかった。連続法では、4例全ての動物がニコチンを活発に摂取した。ただし、初回テスト用量0.1 mg/kg/inf.では、4例中2例は観察初日から活発な摂取を開始したが、他の2例は観察8又は12日から自発的に摂取を開始した。2時間法と比べ、連続法では観察期間が長く散発的に摂取する薬物の効果を体験する機会が多いため、強化効果を検出しやすいと考えられる。以上の通り、本研究において、連続法は2時間法より強化効果の検出精度が高いことが、強化効果の比較的弱いニコチンにおいて、比較試験として初めて確認された。

データベース PharmaPendium と Embase を用いた承認医薬品の安全性情報検索の有用性

The usefulness of search for safety data of approved drugs in US and EU using PharmaPendium and Embase

鈴木 直子, 海附 玄龍, 高久 雅楽子
エルゼビア・ジャパン株式会社

Naoko SUZUKI, Genryou UIMITSUKI, Utako TAKAKU
Elsevier Japan KK

【目的】承認医薬品の毒性・副作用の情報は承認審査文書、学術論文などに膨大な報告があるが、有用な情報へ短時間で辿り着くのが困難であることが多い。そこで、承認医薬品の情報データベース PharmaPendium（ファーマペンディウム）と医薬分野の学術文献データベース Embase(エンベース)を用いて、承認審査資料、学術論文といった広範囲にわたるソースから有用な情報の効率的な取得を試みた。

【方法】特定の副作用が承認申請文書内で報告されている薬剤を PharmaPendium を用いて調べた。PharmaPendium では、FDA および EMEA の承認審査文書から安全性情報をインデックス化してあることにより、特定の副作用名を入力し、薬剤を抽出した。次に、Embase を用いて、特定の病名が副作用として論じられ、かつ、クリニカルトリアルを行っている論文だけを抽出した。また、比較として承認申請文書を掲載する公的サイト（Drugs@FDA、EMEA）および、一般的なサーチエンジンを用いて論文から同様の情報を発見できるかを検討した。さらに、薬物動態データや薬理データについても同様の検討を行った。

【結果及び考察】PharmaPendium と Embase はそれぞれ承認審査文書と学術論文から安全性情報が抽出されてインデックス化されていることにより、特定の毒性・副作用を示すことが報告されている薬剤一覧を容易に得ることができた。さらに、出典元へもリンクしているため、実験条件などの情報へも容易に辿り着けた。また、薬物動態データについても数値データ化されており、薬物名から薬物動態一覧や併用薬存在下のデータが容易に得られた。さらに、全文検索も可能であり、これらのデータベースを組み合わせるにより効率よく安全性情報へ辿り着けることを示した。一方、無償で公開されている情報源では、インデックス化のメリットが享受できず、FDA の承認申請文書はキーワード検索による調査も出来ないことにより、かなりの労力を費やしても必要なデータを得ることが困難であった。

最近承認された新薬の「QT/QTc評価試験」と心血管リスク評価

Thorough QT/QTc studies of recently approved new drugs and cardiovascular safety evaluation

西村（鈴木）多美子
就実大学 薬学部 薬理学教室

Tamiko SUZUKI - NISHIMURA
Dept of Pharmacology, School of Pharmacy, Shujitsu Univ.

【目的】「非抗不整脈薬におけるQT/QTc間隔の延長と催不整脈作用の潜在的可能性に関する臨床的評価について」（以下、本ガイドライン）が通知され、本年11月1日以降に申請される医薬品に添付される資料は、本ガイドラインに基づくこととされた。そこで、今後の医薬品開発の参考とするために、最近承認された新薬の審査報告書から非臨床試験及びQT/QTc評価試験を調査した。

【方法】本ガイドライン通知後の平成21年11月以降に承認され審査報告書が公表されている新薬の審査報告書を調査し、QT/QTc評価試験の内容、非臨床試験との関連性、臨床における心血管リスク評価、及び審査での医薬品医療機器総合機構（PMDA）の判断を比較検討した。

【結果】医薬品第一及び第二部会の審議を経て平成22年1、4、6及び7月に承認された新薬の審査報告書は、それぞれ、20、14、1及び16報であった。この中で、QT/QTc試験を実施した品目は、それぞれ、4、3、1及び3報であった。QT/QTc評価試験の試験計画は、申請者により、様々であったが、ほとんどの試験で、陽性対照薬モキシフロキサシン400mg経口投与群が設定されていた。試験実施場所は、海外であり、被験者は健康成人男女であった。審査の過程で、非臨床試験やQT/QTc評価試験結果に特段の問題はないとされながらも、臨床試験データからの心血管リスク評価の説明が求められた品目も多く認められた。

【考察】審査では、非臨床試験やQT/QTc評価試験に加えて、臨床での心血管リスク評価も行われていた。10月承認品目についても調査中である。QT/QTc評価試験の結果のみで、ヒトでの心血管リスクの程度を判断することは難しそうであるが、今後、さらに非臨床試験やQT/QTc評価試験データが蓄積されることで、開発中から製造販売後までの患者の安全・安心が高められていくことに期待している。

テレメトリーラットの VEGFR2 阻害性血圧上昇リスク評価への応用可能性

Application of telemetered rats for the risk assessment of hypertension caused by inhibition of VEGFR2

磯部 剛仁¹, 小松 竜一¹, 本多 正樹¹, 蔵本 詩乃², 進藤 英俊², 田保 充康¹

¹中外製薬株式会社 安全性研究部, ²中外製薬株式会社 前臨床研究部

Takehito ISOBE¹, Ryuichi KOMATSU¹, Masaki HONDA¹, Shino KURAMOTO², Hidetoshi SHINDO², Mitsuyasu TABO¹

¹Safety Assessment Dept., Chugai Pharmaceutical Co., LTD. ²Pre-Clinical Research Dept., Chugai Pharmaceutical Co., LTD.

【目的】近年, Vascular Endothelial Growth Factor Receptor type 2 (VEGFR2) を標的とした血管新生阻害剤の開発が盛んであるが, VEGFR2 シグナル阻害剤共通の副作用として高血圧が報告されている。創薬早期の段階における VEGFR2 阻害性血圧上昇のリスク評価は, 心循環機能に対するリスクの少ない化合物を創出する上で重要と考えられる。少ない検体量で評価可能な小動物は創薬早期の評価において有用性が高く, また臨床を想定した血圧上昇リスク評価を行う上では無麻酔無拘束下の実験が有用である。そこで本試験では, テレメトリーラットを用い, VEGFR2 阻害剤の血圧に対する影響について検討した。

【方法】ラット (Slc: Wistar, 雄) の腹大動脈に血圧測定用カテーテルを挿入したテレメトリーラットを作製し, 臨床で高血圧が確認されている cediranib, sunitinib, sorafenib の 3 種類の VEGFR2 阻害剤を 4 日間反復投与して血圧を測定した。また, 非テレメトリー埋め込みラットを用いて 4 日間反復投与における血中濃度を測定した。

【結果及び考察】3 種類の薬剤全てにおいて, 用量依存的な血圧上昇が認められた。血圧の経時的変化については, 臨床と同様の持続的な血圧上昇が本試験においても認められた。また, 3 種類の薬剤について, 臨床において高血圧が認められる AUC と本試験においてラットで血圧上昇が認められた AUC は同等であった。以上より, VEGFR2 阻害性血圧上昇において本試験系の臨床予測性が高いことが示唆され, 血圧上昇リスク評価へ応用可能であると考えられた。

安全性薬理試験におけるグルコースクランプ法の有用性

Utility of glucose clamp technique in safety pharmacology studies

松原 史典，橋口 憲子，濱田 敦子，宮澤 英男，都丸 明宏，岡田 一秀，金納 明宏
株式会社 薬物安全性試験センター

Fuminori MATSUBARA, Noriko HASHIGUCHI, Atsuko HAMADA, Hideo MIYAZAWA, Akihiro TOMARU, Kazuhide OKADA, Akihiro KANNO
Drug Safety Testing Center Co., Ltd.

【目的】安全性薬理試験においてインスリン分泌を促進させる血糖降下薬の評価では，化合物の薬理作用が低血糖を引き起こし，心血管系への影響をみる際，試験結果が化合物本来の有害作用であると判断するのに困難なことがある。我々は，低血糖による影響を回避し，化合物本来の作用を評価するため，グルコースクランプ法を用いた試験法の有用性について検討を行った。

【方法】テレメトリー送信機を埋め込んだ雄性ビーグル4例に，インスリン0，1，3，7.5 IU/bodyを皮下投与し，投与前から投与後6時間まで血圧，心拍数，心電図の測定を行った。また，1時間毎に血中電解質濃度を測定した。実験は，以下の3つの方法で実施した。

実験1: 無麻酔無拘束下での実験 (No Clamp; 従来のテレメトリー試験)

実験2: 無麻酔拘束下での実験 (No Clamp)

実験3: 無麻酔拘束下での実験 (Glucose Clamp)

実験3では，外頸静脈より中心静脈付近に挿入したカテーテルから50%ブドウ糖注射液を投与し，血糖値を約100 mg/dLに維持して測定を行った。

【結果および考察】実験1および2では，インスリンの作用は同様に認められ，血圧の低下，心拍数の増加，QTcの延長，血中 K^+ 濃度の低下が濃度依存的にみられた。一方，実験3では，血圧の低下，心拍数の増加はみられなかったが，QTcの延長，血中 K^+ 濃度の低下が認められた。これらのことから，実験1と実験2では，同様に化合物の評価が出来ることが明らかとなった。さらに，実験3では，グルコースクランプ法を用いることで低血糖による影響を受けることなく，化合物本来の作用を評価できることが示された。したがって，グルコースクランプ法は，インスリン分泌を促進させる血糖降下薬の心血管系への影響を評価することができ，安全性薬理試験において有用であることが明らかとなった。

覚醒ラットにおける心血管系および呼吸器系機能の同時評価

Concurrent assessment of cardiovascular and respiratory function in conscious rats

関谷 浩司, 斎藤 高史, 北山 哲也
協和発酵キリン株式会社 研究本部 安全性研究所

Koji SEKIYA, Takashi SAITO, Tetsuya KITAYAMA
Toxicological Research Laboratories, Kyowa Hakko Kirin Co., Ltd.

【目的】心血管系および呼吸器系は生命維持に必須の機能である。早期開発ステージにおいて新規化合物の心血管系および呼吸器系への影響を総合的に評価するため、テレメトリー測定法および全身プレチスモグラフ法の組み合わせにより、無麻酔・無拘束下ラットにおける心血管および呼吸機能の同時評価系を構築し、その有用性を検討した。

【方法】麻酔下にて雄性ラットにテレメトリー送信器（TA11PA-C40）の血圧測定用カテーテルを下方腹大動脈より挿入し、送信器本体は腹腔内の腹壁に留置した。動物（n=4）に溶媒、Baclofen（3、10 および 30 mg/kg）および Caffeine（3、10 および 30 mg/kg）をラテン方格法にて経口投与した。動物をテレメトリー用受信ボード上に置いたプレチスモグラフチャンバーに入れ、血圧波形より収縮期血圧（SBP）、拡張期血圧（DBP）および心拍数（HR）を Dataquest A.R.T.TM Gold Acquisition を用いて取得/解析した。さらに、呼吸波形は、Baxco System XA 呼吸機能データ収集/解析システムにて測定し、呼吸回数（RR）、1 回換気量（TV）、分時換気量（MV）および気道抵抗（Penh）を解析した。

【結果及び考察】Baclofen により、SBP、DBP、HR、TV、MV、Penh が用量相関性に増加し、RR が変化しないにもかかわらず、TV の増加に伴う MV の増加および Penh の上昇が認められた。Caffeine によって、SBP、DBP、HR、RR、TV、MV が用量相関性に増加し、Penh は減少した。

以上の結果より、無麻酔・無拘束のラットにおいて陽性対照薬の心血管系および呼吸器系機能に及ぼす影響を同時に評価可能であった。本法は新規化合物のバイタルに及ぼす影響を総合的に検討するための有用な評価系であると考えられた。

マウスにおいて胃からの固体排出能は 5-HT₃ 受容体を介している

Solid gastric emptying in mice is mediated by 5-HT₃ receptors

高木 観¹, 安東 賢太郎²

¹田辺三菱製薬株式会社 研究本部 安全性研究所

²東京大学大学院 農学生命科学研究科 獣医学専攻 比較病態生理学教室

Kan TAKAGI¹, Kentaro ANDO²

¹Safety Research Laboratories, Research Division, Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation

²Department of Comparative Pathophysiology, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

【目的】悪心や嘔吐は多くの薬剤に認められ、服薬認容性の低下につながる副作用である。本研究では、嘔吐を起こさないマウスの消化器機能評価実験系に対する催吐作用を有する薬物の作用を検討した。さらに、胃からの固体排出能遅延が 5-HT₃ 受容体を介しているかを検討した。

【方法】雄性 ddY マウスに催吐作用を有する抗痙縮薬 (atropine sulfate: 0.1 - 3 mg/kg *i.p.*、salmon calcitonin: 1 - 30 units/kg *i.m.*)、催吐薬 (copper sulfate: 1 - 30 mg/kg *p.o.*、apomorphine: 0.01 - 0.3 mg/kg *s.c.*) および化学療法薬 (cisplatin: 0.3 - 10 mg/kg *i.v.*、doxorubicin: 0.3 - 10 mg/kg *i.v.*) を投与し、腸管輸送能、胃からの液体排出能 (Phenol Red 法) および固体排出能 (Beads 法) を評価した。更に、salmon calcitonin、copper sulfate、cisplatin および doxorubicin によって抑制された固体排出能に対する 5-HT₃ 拮抗薬 ondansetron (3 - 100 µg/kg *i.v.*) の作用を検討した。

【結果及び考察】固体排出能試験のみが検討した全ての薬剤の作用を検出することができ、検出感度が最も高かった。また、化学療法薬による嘔吐の治療薬として使用される ondansetron は salmon calcitonin および copper sulfate による固体排出能抑制に対して影響を及ぼさなかったが、化学療法薬 (cisplatin および doxorubicin) による固体排出能抑制に対して拮抗作用を示した。以上の結果から、嘔吐を起こさないマウスでも薬物の催吐作用の予測に使用し得ること、方法として固体排出能が最も適していることが示唆された。また、化学療法薬による固体排出抑制はヒトと同様に 5-HT₃ 受容体を介していることが明らかとなった。

カニクイザルを用いた自動静脈内投与による whole-body plethysmograph 法での呼吸機能測定法

Measurement of respiratory function using whole-body plethysmograph by automatic intravenous administration in cynomolgus monkeys

小田切 則夫, 川端 貫太, 秋山 賢之介, 坂井 勝彦, 大保 真由美, 佐々木 一暁, 今泉 真和, 直 弘
三菱化学メディエンス株式会社 創薬支援事業本部 試験研究センター 安全性薬理グループ

Norio ODAGIRI, Kanta KAWABATA, Kennosuke AKIYAMA, Katuhiko SAKAI, Mayumi OBO, Kazuaki SASAKI,
Masakazu IMAIZUMI, Hiroshi ATAI
Pharmacology Safety Assessment Group, Nonclinical Research Center, Drug Development Service Segment,
Mitsubishi Chemical Medience Co.

【目的】 Whole-body plethysmograph (WBP)法による無麻酔無拘束下でのカニクイザルの呼吸機能評価において、従来、被験物質の静脈内投与は、サル用呼吸機能測定用チャンバー（チャンバー）より動物を取り出し投与していたが、この方法では投与直後の薬物作用が捉えられなかった。また、チャンバー内での静脈内持続投与での呼吸機能測定もできなかった。今回、チャンバーに静脈内持続投与用の改造を行い、動物をチャンバー内に収容したままで静脈内投与および静脈内持続投与を行い WBP 法による呼吸機能評価の検討を実施した。

【方法】 カニクイザル（体重 4～6 kg、雄）を用い、呼吸促進薬としてジモルホラミン 1 および 3 mg/kg を静脈内投与し、投与 1 時間まで WBP 法で呼吸機能（呼吸数、一回換気量、分時換気量）を測定した。また、呼吸抑制薬として塩酸モルヒネ 1 mg/kg/hr、4 時間の静脈内持続投与を行い、投与終了後 8 時間まで呼吸機能を測定した。

【結果及び考察】 ジモルホラミンの静脈内投与で従来投与方法では捉えられなかった投与直後からの吸機能促進作用がみられた。また、従来、チャンバー内で測定ができなかった静脈内持続投与では、モルヒネを持続投与している間では 1 回換気量および分時換気量の低下が、持続投与終了後には呼吸数の増加、1 回換気量および分時換気量の低下がみられた。以上の結果、チャンバーの静脈内連続投与用の改造により、動物をチャンバーより取り出すことなく静脈内投与することができ、静脈内投与直後に作用が現れる薬物の評価および長時間持続投与中での薬物の評価が可能になった。

カニクイザルを用いた体内埋め込み式インピーダンス法による呼吸機能測定への検討

Measurement of respiratory function using impedance telemetry transmitter in cynomolgus monkeys

坂本 憲吾，坂口 靖江，松田 祐馬，藤原 淳，本坊 敏保
株式会社イナリサーチ

Kengo SAKAMOTO, Yasue SAKAGUCHI, Yuma MATUDA, Atsushi FUJIWARA, Toshiyasu HOMBO
Ina Research Inc.

【目的】安全性薬理コアバッテリー試験における呼吸機能測定では、ラットの Whole body plethysmograph (WBP) 法が一般的に用いられている。イヌやサルにおいてもラットと同様に WBP 法が開発され、また、その他の方法として、呼吸による体躯の体積変化を捉える呼吸誘起体積変動記録法も開発されている。さらに、体内埋め込み式テレメトリー送信器 (D70-PCTR: DSI 社) を用いたインピーダンス法も開発され、海外では実用化されているが、日本の施設における報告はない。そこで我々は、インピーダンス法による呼吸機能測定法のバリデーションのため、カニクイザルを用いて、本法にて報告のないモルヒネ及びジモルホラミンの呼吸機能への影響を検討した。

【方法】血圧・心電図測定用のカテーテル及び電極は常法により留置し、インピーダンス測定用電極は左右の第7肋骨周囲の筋繊維下に留置した。回復後、生理食塩液 (0.5 mL/kg, im)、モルヒネ (3 mg/kg, im) 及びジモルホラミン (1 mg/kg, iv) を投与し、一回換気量 (TV)、分時換気量 (MV) 及び呼吸数を測定した。また、併せて心血管系パラメータも同時に測定した。

【結果及び考察】モルヒネ投与では、TV 及び MV はそれぞれ投与後 2 時間で 33%、投与後 4 時間で 25% をピークとして顕著に減少し、投与後約 8 時間まで持続した。ジモルホラミン投与では、TV 及び MV は一過性に増加した。これらの呼吸測定の結果は、他の測定方法による結果と類似していた。本法の特徴として、軽微な体動による呼吸パラメータへの影響はほとんど認められず、また、呼吸測定により心血管系パラメータに影響を及ぼすような現象は認められなかった。したがって、本法は、無拘束下におけるサルの呼吸測定に有用であることが示された。

ラット及びアカゲザルにおけるコカイン及びペントバルビタール静脈内自己投与の比較

Comparison of intravenous self-administration with cocaine and pentobarbital between rats and rhesus monkeys

藤原 淳，飯野 雅彦，星野 満，小口 正夫，綿引 芳恵，佐々木 幹夫，若狭 芳男，柳田 知司
株式会社イナリサーチ

Atsushi FUJIWARA, Masahiko IINO, Mitsuru HOSHINO, Masao OGUCHI, Yoshie WATAHIKI, Mikio SASAKI,
Yoshio WAKASA, Tomoji YANAGITA
Ina Research Inc.

【目的】ICH M3(R2)ガイドライン（2009）では、薬物依存性試験の供試動物にはサルでの優位性がない限りげっ歯類を用いることが推奨されている。本研究では、2種類の薬物静脈内自己投与方法を用い、ラットとアカゲザルにおける強化効果の検出精度の違いを調べた。

【方法】ラット及びアカゲザルでの自己投与に関して多数の報告があるコカイン（C）及びラットでの報告がほとんどないペントバルビタールナトリウム（P）を用い、活発に摂取する動物の割合を比較した。1日の薬物摂取を2時間に制限した自己投与実験（2時間法）では、事前にCを活発に摂取することを確認した後、4ないし5用量段階のC（ラットでは0.015～1、サルでは0.004～0.256 mg/kg/inf.）又はP（ラットでは0.06～4、サルでは0.25～1 mg/kg/inf.）を摂取させた。1日の薬物摂取を制限しない連続自己投与実験（連続法）では、薬物自己投与経験のない動物にC（ラットでは0.25、サルでは0.06 mg/kg/inf.）又はP（1 mg/kg/inf.）を摂取させた。

【結果及び考察】2時間法では、Cはいずれの動物種（n=5）も活発に摂取した。一方、Pはサルでは全例（n=6）が活発に摂取したが、ラット（n=5）では全く摂取しなかった。連続法で活発な摂取がみられたのは、Cはサルでは11/12例（92%）、ラットでは6/7例（86%）であり、一方、Pはサルでは29/41例（71%）、ラットでは4/11例（36%）であった。以上の通り、いずれの自己投与方法においても、Cはラット及びサルの大部分が活発に摂取するが、Pではラットよりサルのほうが活発に摂取する動物の割合が高いことが本研究により明らかとなった。したがって、さらに他の薬物について検討する必要があるが、中枢神経系抑制薬の強化効果の検出精度は、サルのほうがラットよりも高い可能性が示唆された。

一般演題（ポスター） 1 0

カニクイザルの QT 間隔及びサル ERG 発現量に対するペンタミジンの影響

Effects of pentamidine on QT interval and ether-a-go-go related gene expression in cynomolgus monkeys

一般演題（口述） 5 と同じ

一般演題（ポスター） 1 1

マイクロミニピッグ：イヌ・サルに替わりうる *in vivo* 薬物性 QT 延長評価モデル動物

Microminipig: An alternative *in vivo* animal model to dogs and monkeys for analyzing drug-induced QT-interval prolongation

一般演題（口述） 6 と同じ

一般演題（ポスター） 1 2

アカゲザルにおける 2 種類の薬物自己投与方法でのニコチン強化効果の検出精度の比較

Comparison of detection accuracy of the nicotine reinforcing effect between 2 self-administration procedures in rhesus monkeys

一般演題（口述） 1 0 と同じ