株式会社LSIメディエンス 試験研究センター

Göttingenミニブタの薬剤誘発心筋障害モデルを用いた心毒性評価に関する予備的検討

○遠藤　和守，細田 秀勝，宮内 良徳，高山 聡，大竹 誠司

Preliminary trial of cardiac toxicity using drug-induced myocardial damage models in Göttingen miniature pigs.

○ Kazumori endo, Hidekatsu Hosoda, Yoshinori Miyauchi, Satoshi Takayama, Seiji Otake

目　的

医薬品の非臨床安全性試験において循環器系に対する毒性評価が求められており生命維持に関わる心毒性評価は特に重要な評価項目である．ブタの心臓はヒトと類似することが知られており心毒性評価に有用と考えられるが，ブタを用いた報告は少ない．

今回，Göttingenミニブタ心筋障害モデルを用いて血液生化学的検査値及び心電図の変動と病理組織学的変化との関連を予備的に検討した．

方　法

試験動物

Göttingen Minipigs
月齢：7 ～ 8ヶ月齢
体重：12.2 ～ 15.9kg
使用動物数：雄 8頭

投与経路

皮下投与 (側腹部)

投与物質

isoproterenol（ISP）0, 0.05, 0.5, 5mg/kg（0mg/kgは生理食塩液を投与）

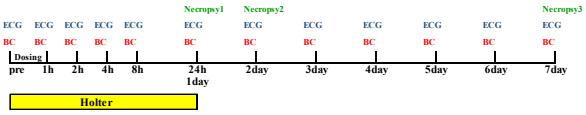
測定機器

血液生化学的検査
移動式免疫発光測定装置 パスファースト（cTnI）
Epalyzer2
TBA-2000FR

パスファースト
株式会社ＬＳＩメディエンス

心電図検査
D700LX
JETシステム [JET-3ETA-BP]

ISP投与後，経時的に血液生化学的検査，肢誘導心電図検査及び投与後24時間のホルター心電図検査を実施した．また投与翌日，投与後2日及び投与後7日に心臓を採材して病理組織学的検査を実施した．

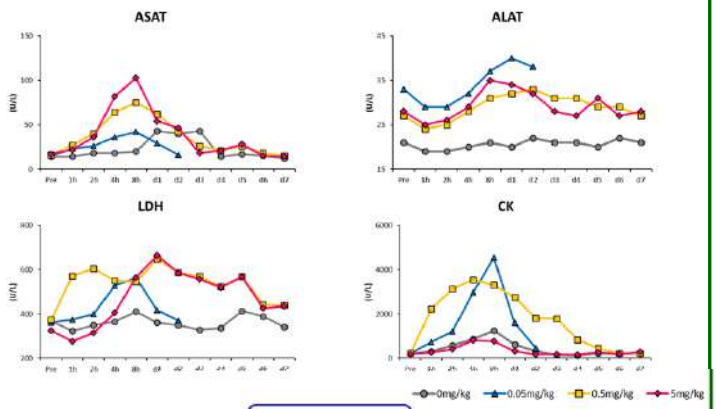


Necropsy1: 0, 0.05, 0.5, 5mg/kg ; Necropsy2: 0.05mg/kg ; Necropsy3: 0, 0.5, 5mg/kg .

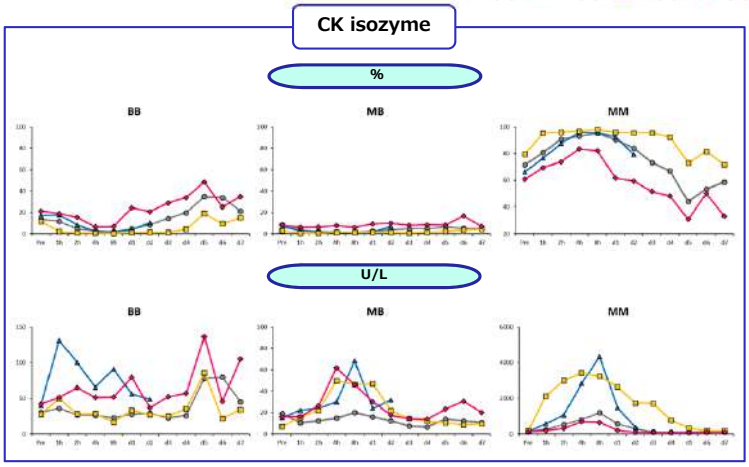
結　果

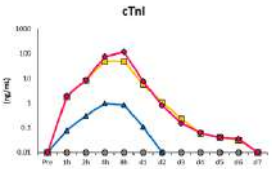
血液生化学的検査

0.05mg/kgでは投与後2日※，その他の用量では投与後7日まで経時的に血液生化学的検査（検査項目：ASAT, ALAT, LDH, CK, CKアイソザイム，トロポニンI (cTnI)）を実施した．
※:投与後2日に血液生化学的検査値の回復がみられた為，検査を終了し心臓を採材した．



CK isozyme



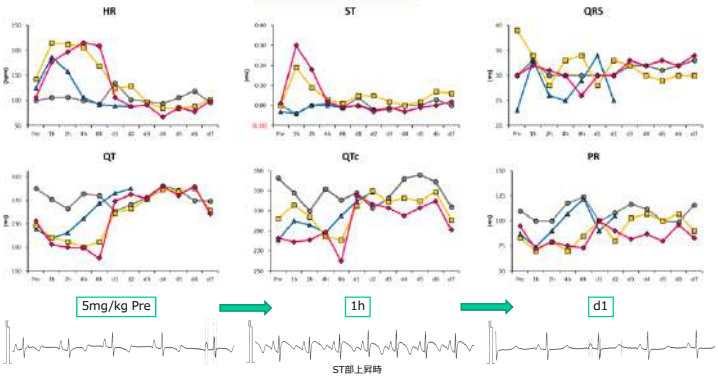


■何れの用量においてもISP投与後4又は8時間にASAT, ALAT, LDH, CK, CKアイソザイム(MB), (MM)及びcTnIの上昇が認められた．
■CKでは用量に依存した変動がみられなかった．CK及びCKアイソザイム (MM)で変動の傾向がほぼ一致していることから検査時の暴れ等を反映した上昇であることが考えられた．

心電図検査

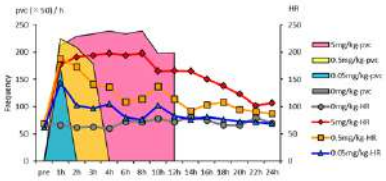
0.05mg/kgでは投与後2日，その他の用量では投与後7日まで経時的に肢誘導心電図検査を，全用量について投与後24時間のホルター心電図検査を実施した．

肢誘導心電図



ホルター心電図

JETシステム



■肢誘導心電図で一時的なHR, STの上昇及びQRSの低下がみられた．
QT, QTcでは投与後一時的な低下が見られた後，投与後6日まで高値で推移した．
■ホルター心電図では心拍の上昇に伴う不整脈 PVC(premature ventricular contraction)が用量に依存して認められた．

心臓の病理組織学的検査

薬剤の影響が最も強く現れると考えられる投与翌日（全用量）
血液生化学的検査値の回復が認められた投与後2日（0.05mg/kg）及び投与後7日（0, 0.5, 5mg/kg ）に心臓を採材して病理組織学的検査を実施した．

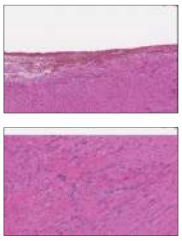
Table　Microscopic examination

Organ / Findings	Isoproterenol Dose (mg/kg)	投与翌日 0	投与翌日 0.05	投与翌日 0.5	投与翌日 5	血液生化学的検査値の回復時点 0	血液生化学的検査値の回復時点 0.05	血液生化学的検査値の回復時点 0.5	血液生化学的検査値の回復時点 5
	Necropsy date	Day 1	Day 1	Day 1	Day 1	Day 7	Day 2	Day 7	Day 7
Heart									
Necrosis; cardiomyocyte; diffuse		-	-	-	-	-	-	-	-
Necrosis with inflammatory cell infiltration; cardiomyocyte; multifocal; mainly left papillary muscle		-	+	++	+++	-	-	-	-
Necrosis with fibrosis; cardiomyocyte; multifocal; mainly left papillary muscle		-	-	-	-	-	-	++	++
Hemorrhage, subendocardium; left ventricular wall		-	++	++	++	-	-	+	+
Hemorrhage, focal; left ventricular wall		-	+	-	-	-	-	-	-

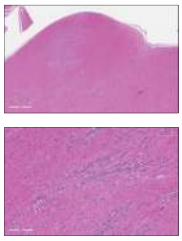
Grade: -, not remarkable; +, minimal; ++, mild; +++, moderate

■投与翌日では0mg/kgを除く全ての用量で心筋の出血及び炎症性細胞浸潤を伴う壊死が認められた．
■血液生化学的検査値の回復が認められた投与後2日(0.05mg/kg) では心筋の障害は認められなかったのに対し，投与後7日(0.5, 5mg/kg)では，心筋の出血および線維化を伴う壊死の障害が継続して認められた．

投与翌日
(5mg/kg)



血液生化回復時点
(5mg/kg)



ま　と　め

- Göttingenミニブタ心筋障害モデルに於いて血液生化学的検査値（ASAT, ALAT, LDH, CK, CKアイソザイム(MB), (MM) ）の変動が認められ，特にcTnIは心筋障害を高感度に反映することが確認できた．CKではそのアイソザイムの殆どが骨格筋由来CK(MM)であったことから保定時の暴れ等による外因的影響を受けやすいと言える．その為ミニブタのCK評価をより正確に行う際はアイソザイムの測定が不可欠であると考えられた．
- 心電図検査では，HRの上昇に起因すると考えられる不整脈及び一時的なQRS, QT, QTc, PRの低下が，波形変化に伴うSTの上昇が認められた．QT, QTcでは投与翌日以降はPreと比較して高値に推移し，各心電図パラメーターの変動を確認することができた．
- 病理組織学的検査では，各用量における心筋障害の程度と各検査結果との関連を比較することができた．

本試験の実施に際し，動物実験委員会審査及び試験研究センター長の承認を得た．