

創薬早期における薬剤誘発性 QT 延長リスクの *in vivo* 評価法に関する研究

学位論文内容の要旨

医薬品開発において心電図 QT 間隔の延長に伴う致死性不整脈の発生が問題となっており、hERG チャンネルの抑制が QT 延長作用の主原因と考えられ、創薬早期段階では *in vitro* における hERG 遮断評価が行われている。しかしながら、hERG チャンネルを抑制しても QT 延長作用を示さない薬剤も多く、hERG 評価だけでは十分なリスク評価とは言えない。本研究では、創薬早期において薬剤誘発性 QT 延長作用を正確に評価することを目的として、麻酔モルモット、麻酔イヌ及び覚醒マーモセットを用いた *in vivo* 評価法を開発した。

心筋再分極時間 (QT 間隔) は心拍数 (あるいは RR 間隔) の変動により生理的に変化するので、薬剤の QT 間隔に対する作用を正確に評価するため、麻酔モルモットと麻酔イヌでは心房にペーシング刺激を行い、心拍数を一定にした条件下で実験を行った。また、麻酔イヌと覚醒マーモセットでは QT 間隔と RR 間隔の関係を求めて最適な QT 補正式を作出することにより、QT 延長作用の検出精度を向上させた。

麻酔モルモットに心房ペーシングを行い、心拍数を一定にした条件下で単相性活動電位 (MAP) を測定した。陽性対照薬 8 種 (E-4031、cisapride、astemizole、terfenadine、bepridil、haloperidol、quinidine、*dl*-sotalol) 及び陰性対照薬 4 種 (diltiazem、verapamil、chlorpheniramine、captopril) を濃度を変えて静脈内投与した時の MAP 持続時間 (活動電位の振幅が 90% 減衰するまでの時間: $MAP_{90(\text{pacing})}$) を調べた結果、陽性対照薬はいずれも濃度依存性に $MAP_{90(\text{pacing})}$ の延長作用を示し、陰性対照薬はいずれも延長作用を示さなかった。本試験において陽性対照薬が $MAP_{90(\text{pacing})}$ を延長した用量 (ED_5 : 5% 延長用量) は、臨床において QT 延長作用を示すと報告された濃度と高い相関性を示した ($R^2=0.7214$)。

麻酔イヌにおいて心房ペーシング刺激が可能な処置を行い、心電図を測定した。心房ペーシングにより、薬剤未処置下において QT 間隔と RR 間隔の関係を求めた結果、RR 間隔が長くなると QT 間隔は延長した。これらの数値を用いて、心拍数の変動の影響を受けない QT 間隔を得るために Bazett、Fridericia、

Matsunaga、Van de Water の各補正式及び今回確立した試験別補正式の補正精度を比較検討した。その結果、試験別補正式 ($QTcX=QT/RR^{0.3879}$) が RR 間隔の変動の影響を最も受けにくく、変動係数 (CV) 値も少ない良好な補正能を示した。この試験別補正式を用いて、陽性対照薬 2 種 (astemizole、*dl*-sotalol) 及び陰性対照薬 1 種 (propranolol) を濃度を変えて静脈内投与し、陽性対照薬の血漿中濃度を測定するとともに、ペーシング刺激を行わない条件下の QTc 間隔 (QTcX 間隔) とペーシング刺激下の QT 間隔 ($QT_{(pacing)}$) に対する作用を調べた。その結果、陽性対照薬は濃度依存性に延長作用を示したが、陰性対照薬は延長作用を示さず、さらに陽性対照薬が QT 延長作用を示した濃度は、報告された臨床試験成績とほぼ一致した。

テレメトリー送信器をコモンマーモセットに埋め込み、無麻酔無拘束下で心電図を測定した。マーモセットの QT 間隔と RR 間隔の関係を求めた結果、イヌと同様、RR 間隔が長くなると QT 間隔は延長した。心拍数の変動の影響を受けない QT 間隔を得るために Bazett、Fridericia の各補正式及び個別別補正式の補正精度について検討した結果、個別別補正式 ($QTci=RR_{ref}^{\beta} \times QT/RR^{\beta}$ 、 β : 個別別補正係数) が RR 間隔の変動の影響を最も受けにくく、変動係数 (CV) 値も少ない良好な補正能を示した。この個別別補正式を用いて、陽性対照薬 2 種 (astemizole、*dl*-sotalol) 及び陰性対照薬 2 種 (propranolol、nifedipine) を経口投与したときの薬剤の作用および血漿中濃度を調べた。陽性対照薬はいずれも QTc 間隔を延長したが、陰性対照薬では QTc 間隔の延長は認められなかった。また、陽性対照薬が QT 延長作用を示した濃度は、報告された臨床試験成績とほぼ同等であった。

本研究において開発した麻酔モルモット、麻酔イヌ及び覚醒マーモセットを用いた評価系は、いずれも感度・特異度ともに非常に優れており、また陽性対照薬の反応性が臨床結果と相関を示したことから検出感度も適切であり、薬剤誘発性 QT 延長評価において有用であることが明らかとなった。麻酔モルモットは多検体処理が可能で最もスループットに優れており、麻酔イヌは多時点で血漿中薬物濃度測定用の採血を行うことができることから明確な被験薬の安全域を求めることが可能である。覚醒マーモセットでは臨床投与経路と同じ投与経路での薬剤評価が可能であり、最も有用性は高いと考えられる。被験薬の特性や評価化合物数に合わせて適切な評価系を選択して、医薬品開発の非常に早い研究段階から新規薬剤の正確な統合的 QT リスク評価を行うことにより、安全性の高い医薬品をより早く医療現場に提供することが可能になると期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 伊 藤 茂 男
副 査 教 授 葉 原 芳 昭
副 査 教 授 滝 口 満 喜
副 査 准教授 乙 黒 兼 一

学 位 論 文 題 名

創薬早期における薬剤誘発性 QT 延長リスクの *in vivo* 評価法に関する研究

医薬品開発において心電図 QT 間隔の延長に伴う致死性不整脈の発生が問題となっている。本研究では、創薬早期において薬剤誘発性 QT 延長作用を正確に評価することを目的として、麻酔モルモット、麻酔イヌ及び覚醒マーモセットを用いた *in vivo* 評価法を検討した。また、QT 延長作用の検出精度を向上させるために、麻酔イヌと覚醒マーモセットでは QT 間隔と RR 間隔の関係を求めて、心拍数の変動で影響を受けない最適な QT 補正式を作出し、以下の成績を得た。

麻酔モルモットに心房ペーシングを行い、心拍数を一定にした条件下で単相性活動電位 (MAP) を測定した。陽性対照薬 8 種及び陰性対照薬 4 種を静脈内投与し、MAP_{90(pacing)} 持続時間 (活動電位の振幅が 90%減衰するまでの時間) を調べた結果、陽性対照薬はいずれも MAP_{90(pacing)} の延長作用を示したが、陰性対照薬は延長作用を示さなかった。陽性対照薬が延長作用を示した用量 (ED₅: 5%延長用量) は、臨床において QT 延長作用を示すと報告された濃度と高い相関性を示した。

麻酔イヌにおいて心房ペーシング刺激下で、心電図を測定した。心房ペーシングにより、薬剤未処置下において QT 間隔と RR 間隔の関係を求めた結果、RR 間隔が長くなると QT 間隔は延長した。これらの数値を用いて、心拍数の変動の影響を受けない QT 間隔を得るために今まで報告されている補正式及び今回確立した補正式の補正精度を比較検討した結果、試験別補正式 ($QT_cX = QT / RR^{0.3879}$) が最適であり、変動係数 (CV) 値も少なかった。この補正式を用いて、陽性および陰性対照薬を静脈内投与し、陽性対照薬の血漿中濃度を測定するとともにペーシング刺激を行わない条件下の QT_{cX} 間隔とペーシング刺激下の QT 間隔 (QT_(pacing)) に対する作用を調べた。その結果、陽性対照薬は延長作用を示したが、陰性対照薬は延長作用を示さず、さらに陽性対照薬が QT 延長作用を示した濃度は、報告された臨床試験成績とほぼ一致した。

テレメトリー送信器を埋め込んだコモンマーモセットから無麻酔無拘束下で心電図を測定した。マーモセットの QT 間隔と RR 間隔の関係を求めた結果、RR 間隔が長くなると QT 間隔は延長した。イヌの実験と同様に報告されている各補正式と個体別補正式の補正精度について検討した結果、個体別補正式 ($QT_c = RR_{ref}^{\beta} \times QT / RR^{\beta}$, β : 個体別補正係数) が最も良好な補正能を示した。この補正式を用いて、陽性もしくは陰性対照薬

を経口投与したときの薬剤の作用および血漿中濃度を調べた。陽性対照薬はいずれも QTc 間隔を延長したが、陰性対照薬では QTc 間隔の延長は認められなかった。また、陽性対照薬が QT 延長作用を示した濃度は、報告された臨床試験成績とほぼ同等であった。

以上のように申請者が開発した麻酔モルモット、麻酔イヌ及び覚醒マーモセットを用いた QT 延長リスク評価系は、いずれも感度・特異度ともに優れていた。また、試験化合物の数や化学的性質に合わせて、これらの評価系を選択することにより、医薬品開発の非常に早い段階から新規薬剤の正確な統合的 QT リスク評価が可能となった。よって、審査員一同は、上記博士論文提出者田保充康氏の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第 6 条の規定による本研究科の行う博士論文審査等に合格と認めた。