代替実験動物の心電図所見を用いる薬効評価

宮崎 博之^{*1} 杉山 隆^{*1} 吉山 友二^{*2}
斎藤 嘉鶴^{*3} 久保田 信雄^{*1} 島田 英世^{*1}

新医薬品の開発に際しては様々な薬効・毒性試験の実施が義務づけられている。近年、動物福祉の面から使用動物数の削減、実験動物代替法の開発が積極的に討論されている。

代替法としては*in vitro*における細胞を使用する方法が多く用いられているが、生体内における高次の立体構造を形成することは極めて困難であり、また他の組織・器官との相互作用もないため、正確な生体における反応を得ることは困難である。そこで我々は、哺乳動物と培養細胞との中間に位置する動物種としてニワトリ胚に注目して検討を行っている^{1,2)}。今回は、薬物の心臓に及ぼす影響をニワトリ胚心電図波形により検討したので報告する。

実験材料

1. 被験薬物

麻酔薬としてpentobarbitalを用いた。また、循環器系作用薬として、交感神経興奮薬のepinephrine、norepinephrineおよびisoprenalineを、副交感神経興奮薬のacetylcholineおよびpilocarpineを用いた。

2. ニワトリ胚

白色レグホンの種卵を大宮家禽研究所より購入し、温度 $37.5 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 、湿度約65RH%の自動転卵孵卵器を用いて孵卵し、実験に使用した。

実験方法

1. 心電図測定法

受精卵の赤道上の対角線上の2点及び南極の計3点に針電極を挿入し、生体電気用増幅器(AVB-21、日本光電)に接続し、サーマルアレイレコーダ(RTA-1100、日本光電)に双極間心電図波形として記録した。測定は孵卵器内で行い、心拍数はR-R間隔より算出した。

2. Pentobarbitalの用量設定及び卵齢の検討

孵卵2～18日目の受精卵の気室内にpentobarbital 0.5～20mgを投与し、心電図波形の変化を検討した。

3. 薬物の心電図波形に及ぼす影響

Pentobarbital 1mgの気室内投与により胚を非動化したのちに薬物を気室内に投与し、投与後30分間の心電図波形を記録した。

結果および考察

1. Pentobarbitalの用量設定及び卵齢の検討

0.5、1および5mgのpentobarbitalの気室内投与により、投与5分後から心電図の測定が可能となったが、0.5mgでは投与30分後には覚醒する例が認められた。10および20mgでは投与1分後から心電図の測定が可能となったが、10mgでは投与10分後から、また20mgでは投与2分後から房室伝導障害を伴う徐脈がみられた(Fig. 1)。以上の結果より、pentobarbitalの前処置によりニワトリ胚の安定した心電図の測定が可能となること が明らかとなったが、その用量は、効果の持続時間および高用量における不整脈の発現より勘

^{*1} 北里大学薬学部臨床薬理
〒108 東京都港区白金 5-9-1

^{*2} 同 病院薬局学

^{*3} 北里研究所病院

Fig.1 ECG tracings in chick embryo treated with pentobarbital

A, B: Pentobarbital 1mg was injected into the air sac of fertile eggs on th 12th or 16th day of incubation. ECGs were recorded 0 and 5 min after pentobarbital injection.
C: Arrhythmia(II° A-V block) in the 16th day-embryonic herat was induced at 20min after 20mg of pentobarbital injection.

案し、1mg/eggが適当であると考えられた。

心電図の測定は孵卵8日目より可能であったが、電位が比較的高く、解析可能な安定した心電図波形が得られる孵卵16日目と考慮された。また、心拍数は卵齢に伴って若干増加する傾向がみられた。

2. 薬物の心電図波形に及ぼす影響

孵卵16日目の受精卵を用いて5種類の薬物の心拍数に及ぼす影響について検討した結果、交感神経興奮薬であるepinephrine、norepinephrineおよびisoprenalineでは用量依存性の心拍数増加が認められた。また、副交感神経興奮薬であるacetylcholine及びpilocarpineでは用量依存性の心拍数減少が認められた。これらの反応は、哺乳動物においてみられる反応と同一であり、ニワトリ胚は哺乳動物を用いる循環器作用薬の薬効薬理試験の代替法として有用と考えられた。

結 論

受精卵への適量のpentobarbitalの投与により安定した心電図波形が得られると共に、交感神経及び副交感神経の興奮薬が哺乳動物の場合と同様の反応を示すことより、本法は医薬品の薬効判定のスクリーニング試験法として利用し得る可能性が高いと考えられた。

文 献

- 1) Sugiyama, T. Saito, K. Shimada, H. et al.: Pharmacological and toxicological studies using chick embryos. *Alternatives to Animal Testing and Experimentation*, 2: 84-85 (1993)
- 2) Miyazaki, H. Sugiyama, T. Shimada, H. et al.: Toxicological study of cardiovascular drugs in chick embryos and rodents. *In vitro toxicology.*, 7: 243-246 (1994)