

氏 名（本籍）	あ 足 だち 立 ひで 秀 ゆき 之
学 位 の 種 類	博 士 （ 薬 学 ）
学 位 記 番 号	薬 第 3 2 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 4 年 6 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当

学 位 論 文 題 目 狭心症治療薬の薬効評価法とその作用特性に関する研究

論文審査委員 (主 査)
教授 佐藤 進 教授 大 泉 康
教授 大 内 和 雄

論文内容要旨

狭心症は心筋虚血に基づく特有な胸痛や胸部不快感を主症状とし、冠動脈硬化による器質的狭窄のため労作による心筋の酸素需要の増加に対し血液供給が不足したとき、または血管攣縮や血栓による冠動脈内腔の閉塞のため心筋への血液供給が減少したときに生じる。従ってCa拮抗薬、硝酸薬、 β 遮断薬および抗血小板薬などによる薬物治療は心筋の酸素需要の減少または心筋への酸素供給の増加を目的とするが、各薬物の心行動態上の詳細な奏効機序は不明である。これは方法論的に制約のある臨床研究に代わり、詳細な薬効評価が可能であり、薬物の臨床効果を予測しうる生理的またはヒトの病態と類似した動物実験モデルが少ないことによる。

冠血管の拡張収縮反応に関する研究でもっぱら冠血流量が指標とされてきた。しかし、正常な冠血管では冠血管抵抗の約5%のみが太い冠動脈に由来し、太い冠動脈を90%以上狭窄して初めて冠血流量が減少することにより、冠血流量のみで冠動脈の拡張収縮反応を説明づけることはできない。さらに冠血管攣縮は比較的太い冠動脈で発生するため、冠拡張薬は太い冠動脈を直接拡張することが治療上重要である。従って、薬効評価においては冠血流量に加え、太い冠動脈の径の反応も直接に捉えることが必要である。また動物実験では種差の問題も考慮に入れ、複数の動物種で評価することが望ましい。狭心症の病因は複雑であり、病因の一つとして考えられる冠動脈内血栓の研究では、通常冠動脈の狭窄や冠動脈内への銅線コイルの挿入などの方法で血栓を作製している。しかし、多くの研究は犬を使用し、豚を用いた研究はほとんどない。冠動脈攣縮の研究において、豚はヒトと類似した血管攣縮を引き起こすことが知られている。

著者は、狭心症治療薬の奏効機序と考えられる太い冠動脈の拡張作用、冠動脈血栓または冠動脈収縮に対する抑制作用を直接捉えるため、①太い冠動脈の径や冠血流量などの心行動態の連続測定可能な覚醒犬のモデル、②豚冠動脈内血栓モデル、③豚冠動脈収縮モデルを確立した。これらのモデルを用いて臨床上有効なCa拮抗薬ベラパミル、ニカルジピンおよび硝酸薬ニトログリセリン、開発中の冠血管拡張作用を有する徐脈薬E4080、抗血小板薬E5510および血栓溶解薬E6010の治療薬としての作用特性を明らかにした。

第1編 冠循環および全身循環パラメーターの連続測定可能な覚醒犬のモデル

第1章 覚醒犬のモデルの作製

覚醒下太い冠動脈の径や冠血流量などの心行動態に対する薬物の作用を連続的に捉えるため、覚醒犬モデルを作製した。犬を麻酔開胸し、左冠動脈回旋枝の起始部の血管壁に一对の微小超音波クリスタルを、その末梢に血流プローブを装着した。大動脈圧や左室内圧なども測定するため、器具を留置した。薬物を冠動脈内投与するため超音波クリスタルより上流側の冠動脈側枝にカテー

テル (3Fr) を挿入した。全てのラインやワイヤーを首の後方に導出し、閉胸した。術後 10 日以上経過して手術からの犬の回復を待って実験を開始した。

本動物の覚醒状態下、ニトログリセリンの静脈内投与による冠血管径の拡大や 20 秒間の冠動脈の狭窄後の冠血流の反応性充血に伴う冠血管径の拡大、セロトニンの冠動脈内投与による冠血管径の縮小を認めた。このように太い冠動脈の径変化を他の心血行動態の反応と分離して連続的に捉えることが可能なモデルを確立した。

第 2 章 ベラパミルの作用

覚醒犬の心血行動態に対するベラパミル (VP) の作用について静脈内投与により検討した。VP は $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 以上で冠血管径の持続的な拡大、冠血流量および心拍数の増加、大動脈圧の低下および冠血管抵抗の減少を示し、 $30 \mu\text{g}/\text{kg}$ 以上で心収縮力を抑制した。オクルーダーにて VP ($100 \mu\text{g}/\text{kg}$) による冠血流量の増加を抑制した時、太い冠動脈の最大拡張は冠血流量を抑制しない時の 62% になった。この結果は、VP が太い冠動脈を直接的に拡張する作用を有することを示す。

以上より、VP は狭心症治療において太い冠動脈の直接的な拡張作用および降圧と心収縮力の抑制による心筋酸素消費量の減少作用を介して奏効すると考えられる。なお本知見は VP の心血行動態上の作用特性を初めて詳細に明らかにしたものであり、本モデルが冠拡張薬の奏効機序を解析する上で有用であることを示唆する。

第 3 章 ニトログリセリンの作用

覚醒犬の心血行動態に対するニトログリセリン (NG) の作用について検討した。静脈内投与において NG は $0.01 \mu\text{g}/\text{kg}$ で選択的に太い冠動脈を拡張し、 $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 以上で大動脈圧の低下および冠血管抵抗の減少、 $0.3 \mu\text{g}/\text{kg}$ 以上で冠血流量および心拍数の増加を示した。NG による太い冠動脈の拡張作用は冠血流量の制御により影響を受けなかった。また冠動脈内投与において NG は $0.1 \mu\text{g}$ 以上で太い冠動脈を拡張したが、NG と同様に cyclic GMP を増加させる α -ヒト心房性ナトリウム利尿ペプチドと比較すると拡張作用の持続は短かった。

NG は低用量より選択的かつ直接的に太い冠動脈を拡張し、この作用は比較的短いことが明らかとなった。本知見は、NG の狭心症治療薬としての奏効機序の中で、降圧による後負荷軽減よりも太い冠動脈の拡張や冠動脈攣縮の抑制が重要な役割を果たすことを示唆する。

第 4 章 冠血管拡張作用を有する徐脈薬 E4080 の作用

E4080 は洞結節のペースメーカー電流を抑制して徐脈作用を、また K channel の開口作用に

より血管弛緩作用を示す開発中の狭心症治療薬である。覚醒犬および麻酔犬の心血管動態に対する E4080 の作用について静脈内投与により検討した。覚醒犬では E4080 は 0.1 mg/kg 以上で冠血流量を増加し、心拍数を一過性に増加した後持続的に減少した。0.3 mg/kg 以上で大動脈圧を低下し、1 mg/kg で太い冠動脈を拡張した。麻酔犬でも 0.1 mg/kg 以上で大動脈圧の低下、0.3 mg/kg 以上で冠血流量の増加、また心拍数、末梢血管抵抗および心筋酸素消費量の減少を示したが、心電図や心収縮力には影響しなかった。

E4080 は徐脈および降圧に基づく心筋酸素消費量の減少作用を示し、同時に太い冠動脈を含む冠血管を拡張することが明らかとなった。従って、E4080 は狭心症治療薬としての有効性が期待できる。

第 2 編 冠動脈内血栓および冠動脈収縮による豚の心筋虚血モデル

第 1 章 豚の冠動脈内血栓モデルの作製

豚は冠動脈の走行など解剖学的にもまた冠動脈の薬理学的反応性からもヒトと類似している。さらに犬と異なり側副血行路がほとんどなく、動脈硬化を起こしやすいため、冠循環や心筋虚血の研究に適している。今回、通電により豚の冠動脈の内皮細胞を傷害して冠動脈内血栓を作製した。体重約 20kg の豚を麻酔開胸し、左冠動脈回旋枝の血管内に銀線電極を挿入した。電極の挿入部位および通電量を変えることにより、通電の中止後自然形成される非閉塞性または閉塞性の血栓モデルを作製した。①鈍縁枝より上流側の冠動脈内への電極の挿入と 150 μ A の電流による血栓の形成、成長および末梢への飛散に伴う冠血流の減少、途絶および急激な増加という非閉塞性血栓による周期的血流増減現象 (Cyclic Flow Variation : CFV) のモデル、および②鈍縁枝より下流側冠動脈内への電極の挿入と 300 μ A の電流による閉塞性血栓による持続的な血流の途絶のモデル、において冠血流の減少と共に心筋虚血を示す心電図上の ST 上昇および局所心筋短縮率の低下、電極挿入部位の血管における内皮細胞の剥離・損傷および血小板や赤血球などから成る混合血栓を認めた。

これらの知見は不安定狭心症や急性心筋梗塞の臨床的知見と類似し、本モデルが病態モデルとして有用であることを示唆する。

第 2 章 周期的冠動脈血流増減現象に対する抗血小板薬 E5510 の作用

E5510 は cyclooxygenase や phosphodiesterase の酵素阻害作用を有する開発中の抗血小板薬である。CFV を生じた豚の冠動脈内血栓モデルにおける E5510 の作用について静脈内投与により検討した。E5510 は大動脈圧などの心行動態および血小板数には影響せず、低用量 (0.01 mg/kg) より CFV の頻度を減少し、冠血流の低下を回復し、ex vivo 実験におけるコラーゲン

による血小板凝集を抑制した。

E5510 は抗血小板作用により冠動脈内血栓の形成を抑制するため、不安定狭心症などの疾患に対する有効性が期待できる。

第3章 閉塞性冠動脈内血栓に対する血栓溶解薬 E6010 の作用

E6010 は修飾型組織プラスミノゲン アクチベーターで、開発中の血栓溶解薬である。豚の閉塞性冠動脈内血栓に対する E6010 の作用について静脈内単回投与により検討した。プラセボ群（6例）では冠血流の再開通はなかったが、E6010 0.2 および 0.4 mg/kg では各々 6 例中 1 例および 5 例中全例にて再開通を認めた。全ての群において大動脈圧などの心行動態および血漿中の fibrinogen, plasminogen および α_2 -plasmin inhibitor の濃度は有意には変化しなかった。

E6010 は心行動態や血液パラメーターに影響せずに閉塞性冠動脈内血栓を溶解することが明らかとなった。従って、血栓の関与が示唆される急性心筋梗塞や不安定狭心症に対する有効性が期待できる。

第4章 豚冠動脈収縮に対するニカルジピンの作用

血管内皮細胞により産生されるエンドセリン (ET) は冠血管を強く収縮するため、冠動脈攣縮や心筋虚血への関与が示唆されている。ET および Ca アゴニスト Bay K 8644 (BK) の豚の冠動脈内投与による冠血流の減少に対するニカルジピン (NC) の作用について静脈内持続注入により検討した。ET は 0.1 μ g より用量依存的かつ持続的に冠血流を減少し、心筋虚血を示す心電図上の ST 上昇や局所心筋短縮率の減少を示した。一方、BK も 0.1 μ g 以上で冠血流を減少したが、心筋虚血を引き起こさなかった。NC (1 μ g/kg/min) は BK による冠血流の減少を抑制したが、ET による冠血流の減少を有意には抑制しなかった。

このように NC が収縮物質に依存して冠血流の減少を抑制したことは、冠血管攣縮が関与する全ての狭心症患者に対し Ca 拮抗薬が必ずしも有効でないという病態の複雑さと関係すると推察される。

狭心症は、冠動脈の器質的狭窄、攣縮または冠動脈内血栓などが複雑に絡み合って惹起されると考えられる。従って狭心症治療薬は一つの作用機序からだけでなく多方面からの開発が必要であり、そのため各々の薬物の薬理作用特性を明らかにすることは重要である。しかし、実際には新薬ばかりでなく、既存薬の狭心症治療薬としての奏功機序の詳細は必ずしも明らかにされていない。これは薬物の臨床有効性の予測可能な動物実験評価法が、不十分なことによる。

今回著者は、薬効評価に応用できる太い冠動脈の径の連続測定可能な覚醒犬のモデル、豚冠動脈内血栓モデルおよび豚冠動脈収縮モデルを確立した。これらは再現性がよく、薬物の心行動

態への作用を直接的かつ連続的に捉えることができ、生理的またヒトの病態と類似した評価モデルである。本評価法を用いてCa拮抗薬、硝酸薬、徐脈薬、抗血小板薬および血栓溶解薬の作用を検討した結果、それぞれ太い冠動脈の拡張、冠血管の収縮抑制、心筋の酸素消費量の減少または冠動脈内血栓の形成抑制と溶解など狭心症治療薬として有効性が期待できる作用特性を備えていることを明らかにした。

本研究において確立した評価法は、方法論的に限界の多い臨床研究に代わり、狭心症治療薬の奏功機序の解明や新薬の臨床における有効性の予測などの薬効評価、さらには狭心症の発症・進展の成因の解明の研究などに対し有効であると結論づけられる。

審査結果の要旨

本論文は、狭心症治療薬の奏功機序の解明及び新薬の臨床における有効性の予測について動物を用いた実験系に関するものである。即ち、太い冠動脈の径の連続測定可能な覚醒犬のモデル、豚冠動脈内血栓モデルおよび豚冠動脈収縮モデルを確立し、これらモデルを用いて既存または開発中の薬物の狭心症治療薬としての作用特性を明らかにした。その内容は下記の事項にまとめられる。

- (1) 冠動脈の血管壁に微小超音波クリスタルを留置した覚醒犬モデルを作製し、覚醒下における太い冠動脈の拡張収縮反応を他の心行動態の反応と分離して連続的に捉えることが可能である。
- (2) カルシウム拮抗薬ベラパミルは狭心症に対し太い冠動脈の直接的拡張作用および降圧と心筋収縮力の抑制による心筋酸素消費量の減少作用を介して奏功する。
- (3) 硝酸薬ニトログリセリンは狭心症に対し降圧による後負荷軽減作用よりも太い冠動脈の直接的拡張作用や冠動脈攣縮の抑制作用を介して奏功する。
- (4) 冠血管拡張作用を有する徐脈薬 E4080 は徐脈および降圧に基づく心筋酸素消費量の減少作用および太い冠動脈の直接的拡張作用を有することより、狭心症治療薬としての有効性が期待できる。
- (5) 豚の冠動脈内を電気刺激することにより、非閉塞性血栓による冠血流の周期的増減現象のモデルおよび閉塞性血栓による冠血流の持続的途絶のモデルを作製した。両モデルにおける心行動態の虚血性所見や病理学的所見は不安定狭心症や急性心筋梗塞の臨床所見と類似し、病態モデルとしての有用性を示唆した。
- (6) 抗血小板薬 E5510 は血小板凝集抑制作用により冠動脈内血栓の形成を抑制するため、不安定狭心症などの疾患に対する有効性が期待できる。
- (7) 血栓溶解薬 E6010 は静脈内単回投与において閉塞性冠動脈内血栓を溶解することより急性心筋梗塞や不安定狭心症に対する有効性が期待できる。
- (8) カルシウム拮抗薬ニカルジピンはエンドセリンによる冠血流の減少を抑制しないが、Bay K 8644 の作用を抑制するという事実は、冠攣縮が関与する狭心症患者に対しカルシウム拮抗薬が必ずしも有効でないという病態の複雑さと関係すると推察される。

本研究において確立した評価法は、方法論的に限界の多い臨床研究に代わり、薬効評価への応用に加え、狭心症の発症・進展の成因の解明などの研究などに対しても有効であると結論づけられる。

以上の独創性のある新知見は本研究分野において有用な情報を提供したものと評価される。学位論文として価値あるものとする。