

P8-33 薬剤誘発性肝ホスホリピドーシスのin vitro スクリーニング評価

○富澤 香織、山田 弘、堀井 郁夫

ファイザー (株)

Validation of an In vitro assay for detection of drug-induced phospholipidosis

○Kaori TOMIZAWA, Hiroshi YAMADA, Ikuo HORII

Pfizer Japan Inc.

ホスホリピドーシスとは細胞内にリン脂質が過剰に蓄積する現象を指し、創薬研究では薬剤が誘発するホスホリピドーシスがしばしば問題となる。薬剤誘発性ホスホリピドーシスの原因としてホスホリパーゼの活性阻害やリソソーム内にリン脂質と薬剤との結合物が蓄積すること等が挙げられている。ホスホリピドーシスの評価は一般毒性試験の際に肺胞マクロファージや肝臓、腎臓等の組織に細胞内封入体の形成を認めることで判断されることが多く、評価までには時間がかかることも多い。そこで本研究では、薬剤が誘発するホスホリピドーシスを短期間でスクリーニングできるin vitro評価法を検討し、バリデーションを実施した。本評価の方法は蛍光標識リン脂質アナログをプローブとした方法 (Ulrich, et.al, 1991) を改良したものである。雄性5週齢ラットよりコラーゲナーゼで単離した肝細胞を96穴コラーゲンプレートに播種し、前培養後に被験物質と蛍光標識リン脂質アナログを同時に24時間曝露した。曝露後に細胞をリンス、固定し、蛍光顕微鏡にて観察を行った。In vivoでのホスホリピドーシスを予測可能であるかを検討するために、ホスホリピドーシス陽性化合物を含む14化合物で本試験を実施し、全ての陽性化合物で本試験でも陽性の結果が得られた。これらの結果から、本評価法は薬剤候補化合物スクリーニングを目的としたホスホリピドーシス評価試験として有効であることが示唆された。現在、細胞サンプルを自動撮影・画像処理可能なシステムの開発を進めており、さらにスループット性が高まることが期待される。

P8-34 臨床副作用予測ツールとしてのbeam walk testの有用性の評価

○井手上圭¹、国原 峯男²、白井 真紀¹、山田 弘¹、堀井 郁夫³

¹ファイザー (株) 中央研究所 安全性研究統括部 探索毒性病理研究室、²ファイザー (株) 中央研究所 安全性研究統括部 非臨床科学薬事部、³ファイザー (株) 中央研究所 安全性研究統括部

Beam walking test: A tool for detection of clinical side effects

○Keiichi IDEGAMI¹、Mineo KUNIHARA²、Maki SHIRAI¹、Hiroshi YAMADA¹、Ikuo HORII³

¹Investigative Toxicology & Pathology, Worldwide Safety Sciences, Pfizer Global Research & Development, Nagoya Laboratories, Pfizer Inc., ²Non-Clinical Regulatory Sciences, Worldwide Safety Sciences, Pfizer Global Research & Development, Nagoya Laboratories, Pfizer Inc., ³Worldwide Safety Sciences, Pfizer Global Research & Development, Nagoya Laboratories, Pfizer Inc.

目的

Beam walk testは、運動機能の評価系の一つである。Beamを踏み外すことなく駆け抜けるためには高度な協調運動能と平衡感覚が要求されることから、薬物の臨床における「運動失調」や「ふらつき」、「めまい」の予測に役立つものと考えられる。今回、種々の薬物のbeam walkに対する作用を検討し、当該試験系の副作用予測に対する有用性について評価を行った。

方法

床より約90cmの高さに設置した、幅2.5cm×高さ6cm×長さ1.7mの角材の一端に動物が駆け込める程度の入り口を持つ暗箱 (20cm×20cm×高さ30cm) を設けたbeam walking装置を用いた。SD系雄性ラットには2日間訓練を施し、薬物投与前のbeamの渡架時間が10秒以下、かつ踏み外し回数が1回以下の動物を試験に供した。薬物投与後、経時的に渡架時間及び踏み外し回数を、それぞれ30秒、5回をcut-offとして測定した。

結果及び結論

種々の薬物のbeam walkに対する作用を検討したところ、臨床上「運動失調」や「ふらつき」の報告されていない薬物では、渡架時間に影響を及ぼしたものの、踏み外し回数を増加させることはなかった。一方、臨床上これらの副作用が報告されている薬物では、踏み外し回数を用量依存的に増加させ、高用量ではbeamより落下する動物も見られた。

以上、beam walkの試験結果は臨床における「運動失調」や「ふらつき」の有無と一致していた。また、臨床において「眠気」を示す薬物では踏み外し回数に影響が見られなかったことから、本試験系が薬物の協調運動に対する作用の評価に有用であることが示唆された。