

1. 序論

安全性薬理試験においてモルモット摘出乳頭筋標本を用いた*in vitro* APD試験は、薬剤のQT延長作用を評価するための手法として広く用いられている。*in vitro* APD試験法は、複数のチャネル作用を同時に活動電位波形として観察することが出来る有用な手法であり、心電図上のQT延長を引き起こすことが知られているほとんどの薬物の作用を検知することが出来る。しかしながらQT延長の指標となるAPDの延長作用の検出が困難な薬物の存在も指摘されている。そこで我々は*in vivo*試験と*in vitro* APD試験の両方の特性が反映される*ex vivo* APD試験法により、QT延長を有する代表的な薬物のAPDの延長及び短縮作用について多岐にわたる検討を行なった。

2. in vitro APD試験法

- ・ 標本: 4~6週齢の雄性モルモット(Std:Hartley)にエーテル麻酔を行い、放血後に右心室乳頭筋を摘出し標本を作製した。
- ・ 刺激条件: 閾値の2倍の電圧及びパルス幅1 msecの刺激を1 Hzの頻度で標本に与えた。
- ・ 槽内温度及び灌流速度: 標本槽 (容量:20 mL)の槽内温度は37.0°C±1.0°Cとし、5 mL/minの流速でTyrode液を灌流した。
- ・ 適用方法及び解析: 活動電位の測定は微小電極法で行った。適用前値の測定後に各薬物を適用し、適用後30分値の活動電位について活動電位解析ソフトにより解析した。

3. in vitro APD試験結果

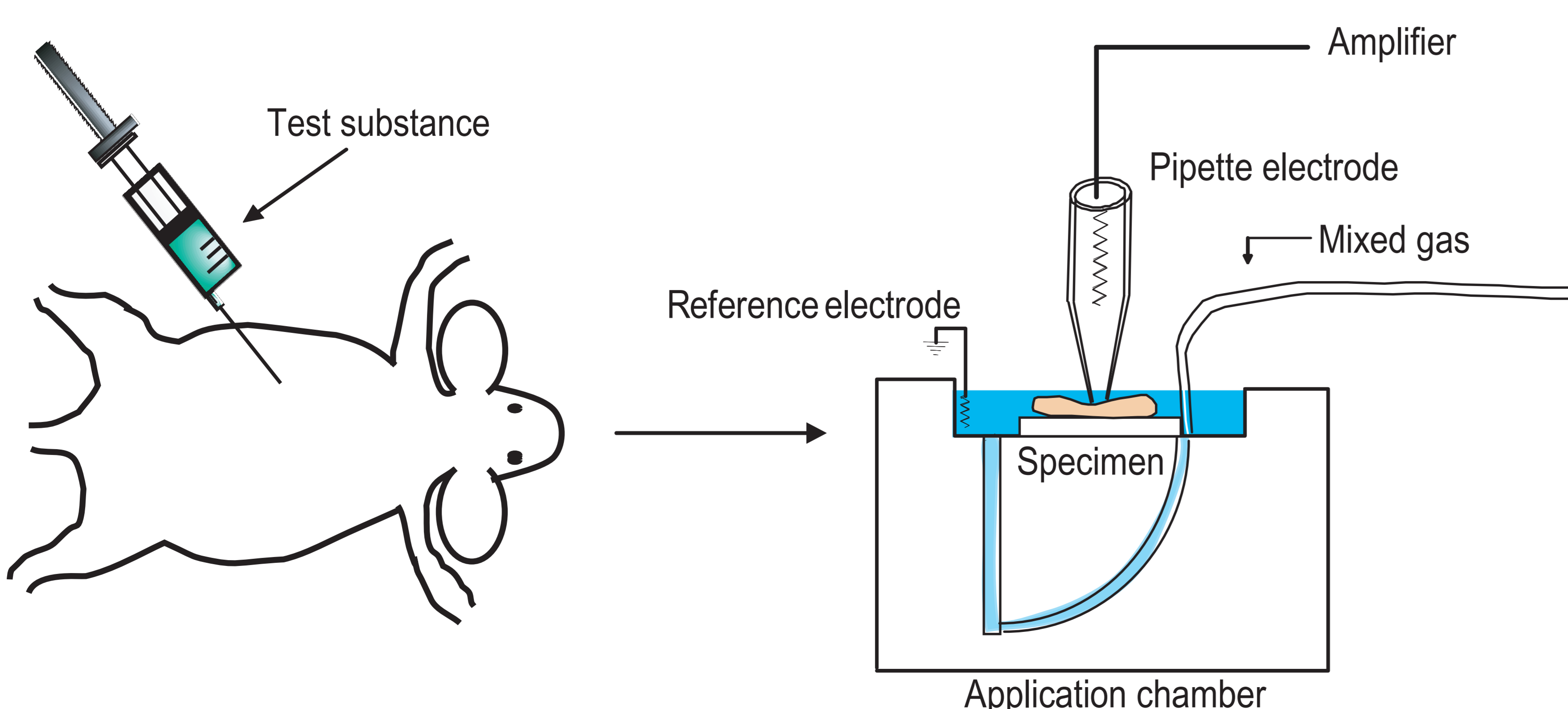
Table 1. Effects of Test Substances on Action-Potential Durations in *in vitro* APD Assay Using Isolated Guinea Pig Ventricular Papillary Muscles

Test substance	Concentration (μmol/L)	APD ₃₀ (msec)	APD ₆₀ (msec)	APD ₉₀ (msec)	APD ₉₀ (Δ%)
Dimethylsulfoxide	0.1 vol%	137.6 ± 3.0	176.6 ± 6.3	194.3 ± 9.4	0.9 ± 1.7
	0.1	138.3 ± 7.4	179.2 ± 9.9	197.1 ± 9.6	-0.1 ± 0.8
Terfenadine	1	136.9 ± 6.8	180.3 ± 10.3	198.7 ± 10.4	0.7 ± 1.1
	10	134.4 ± 6.7	177.9 ± 8.7	197.0 ± 8.5	-0.1 ± 1.8
dl-Sotalol	1	128.6 ± 7.2	169.0 ± 8.8	190.0 ± 9.1	0.9 ± 1.8
	3	135.1 ± 8.5	179.5 ± 8.8	202.0 ± 8.8	7.3 ± 1.8
	10	139.5 ± 9.6	187.0 ± 8.4	211.1 ± 8.4	12.1 ± 2.6
E-4031	30	148.8 ± 13.1	204.9 ± 12.4	232.2 ± 13.5	23.2 ± 2.3
	0.001	130.3 ± 17.3	171.0 ± 17.8	189.5 ± 14.6	1.7 ± 2.3
	0.01	134.2 ± 15.6	181.3 ± 17.7	201.8 ± 13.6	8.4 ± 1.6
	0.03	134.6 ± 15.0	190.2 ± 19.9	212.9 ± 14.6	14.3 ± 3.2
Quinidine	0.1	141.9 ± 14.7	210.2 ± 18.6	237.1 ± 10.9	27.5 ± 4.6
	3	126.0 ± 5.7	168.4 ± 9.6	189.3 ± 10.5	11.1 ± 2.0
	10	143.0 ± 7.2	184.5 ± 6.8	205.3 ± 5.2	10.6 ± 3.5
	30	110.4 ± 1.3	147.0 ± 6.1	172.6 ± 9.6	5.0 ± 3.7
	100	108.2 ± 16.4	148.3 ± 20.4	176.4 ± 22.2	-7.2 ± 8.8

APD₃₀, APD₆₀, and APD₉₀ represent action-potential duration that the membrane of papillary muscle repolarizes to 30%, 60%, and 90%, respectively. Values represent the mean ± S.D. (n=3 or 4)

4. ex vivo APD試験法

- ・ 投与方法: 4~6週齢の雄性モルモット(Std:Hartley)に1 mL/kgの投与容量の薬物を腹腔内に投与した。
- ・ 標本: 薬物の腹腔内投与30分後に*in vitro* APD試験法と同様に乳頭筋標本を摘出し標本を作製した。
- ・ 槽内温度及び灌流方法: 温度は37.0°C±0.1°Cに設定し、槽内灌流とした。
- ・ 活動電位の解析: 標本にガラス微小電極を刺入し、標本作製から、1時間後の活動電位について解析した。
- ・ その他の条件は*in vitro* APD試験法と同様に設定した。



5. ex vivo APD試験法における活動電位波形

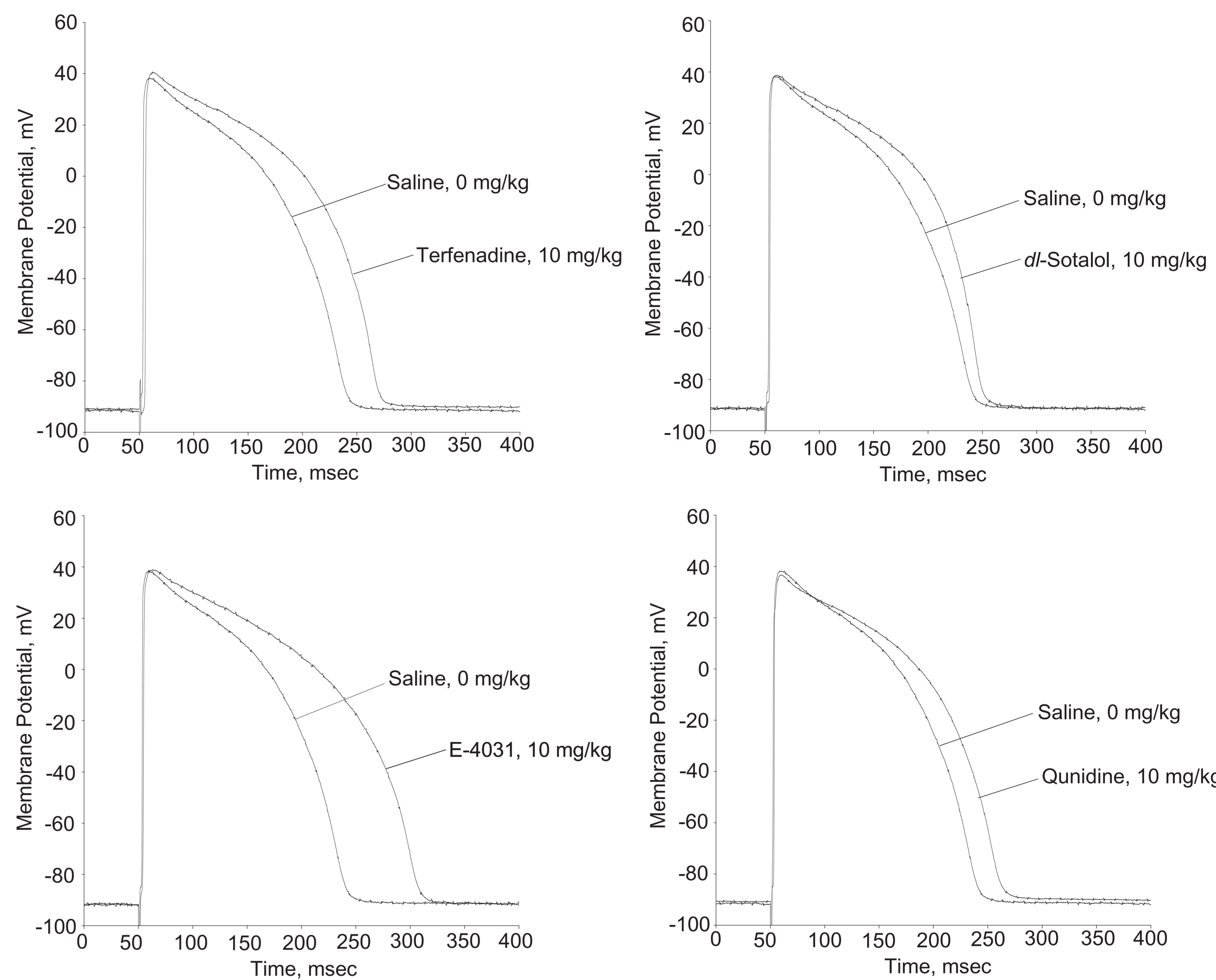


Figure 1. Action-potentials in isolated guinea pig ventricular papillary muscles treated with saline or test substance. Action potentials were evoked by applying a single pulse (voltage: 2 times higher than the threshold, duration: 1 millisecond, frequency: 1 Hz). Action-potential records in saline and respective test substance are superimposed.

6. ex vivo APD試験結果

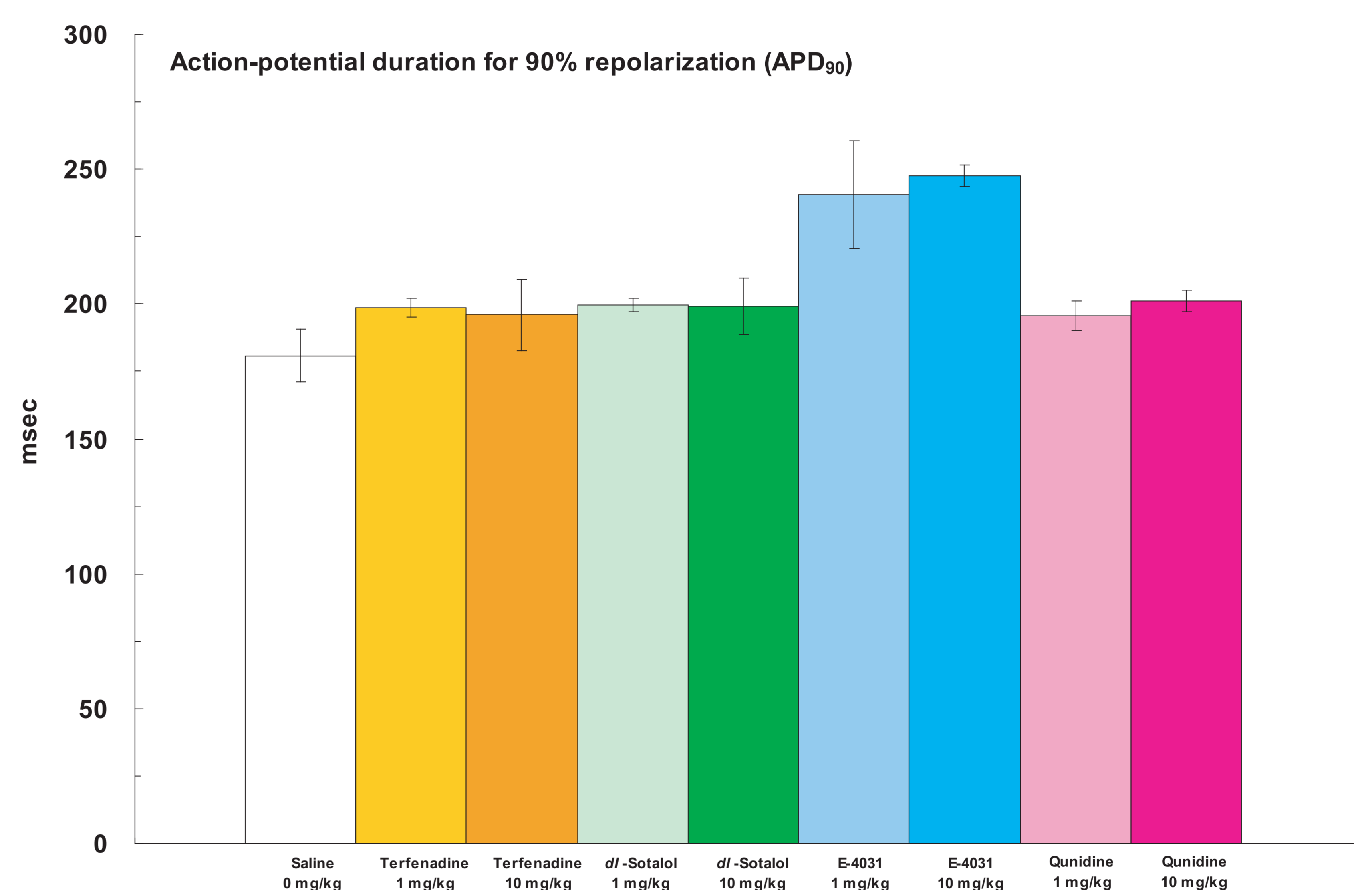


Figure 2. Effects of saline and test substances on action-potential duration in isolated guinea pig ventricular papillary muscles. Each column represents the mean ± S.D.(n=3).

Table 2. Effects of Test Substances on Action-Potential Durations in *ex vivo* APD Assay Using Isolated Guinea Pig Ventricular Papillary Muscles

Test substance	Concentration (mg/kg, ip)	APD ₃₀ (msec)	APD ₆₀ (msec)	APD ₉₀ (msec)	APD ₉₀ (Δ%)
Saline	0	116.5 ± 13.9	160.1 ± 11.4	180.9 ± 9.7	—
Terfenadine	1	138.3 ± 9.0	178.8 ± 5.4	198.8 ± 3.4	9.9
	10	128.2 ± 15.5	173.5 ± 15.3	196.1 ± 13.2	8.4
dl-Sotalol	1	140.8 ± 4.6	180.4 ± 2.0	199.6 ± 2.4	10.3
	10	143.0 ± 14.0	182.3 ± 11.4	199.2 ± 10.6	10.1
E-4031	1	152.4 ± 12.7	215.9 ± 21.2	240.6 ± 20.0	33.0
	10	161.7 ± 5.5	223.9 ± 1.9	247.6 ± 3.9	36.9
Quinidine	1	138.7 ± 7.4	177.9 ± 4.2	195.5 ± 5.5	8.1
	10	133.5 ± 6.2	178.6 ± 3.5	201.1 ± 4.0	11.2

APD₃₀, APD₆₀, and APD₉₀ represent action-potential duration that the membrane of papillary muscle repolarizes to 30%, 60%, and 90%, respectively. Values represent the mean ± S.D. (n=3)

7. 結論

今回、Terfenadine、dl-Sotalol、E-4031及びQuinidineについて*ex vivo* APD試験法による薬物作用の評価検討を行った。その結果、生理食塩液と比較してそれぞれの薬物の活動電位持続時間に延長作用の傾向が認められた。特にE-4031では、明らかな活動電位持続時間の延長作用が認められた。さらに*in vitro* APD試験では延長作用が検出しにくいTerfenadineにおいても*ex vivo* APD試験法では約10%の延長が認められた。以上のことから、*ex vivo* APD試験法は*in vitro* APD試験法では十分に評価を行なうことが出来ない薬物のQT延長作用を検出する有用な方法のひとつであることが明らかとなった。