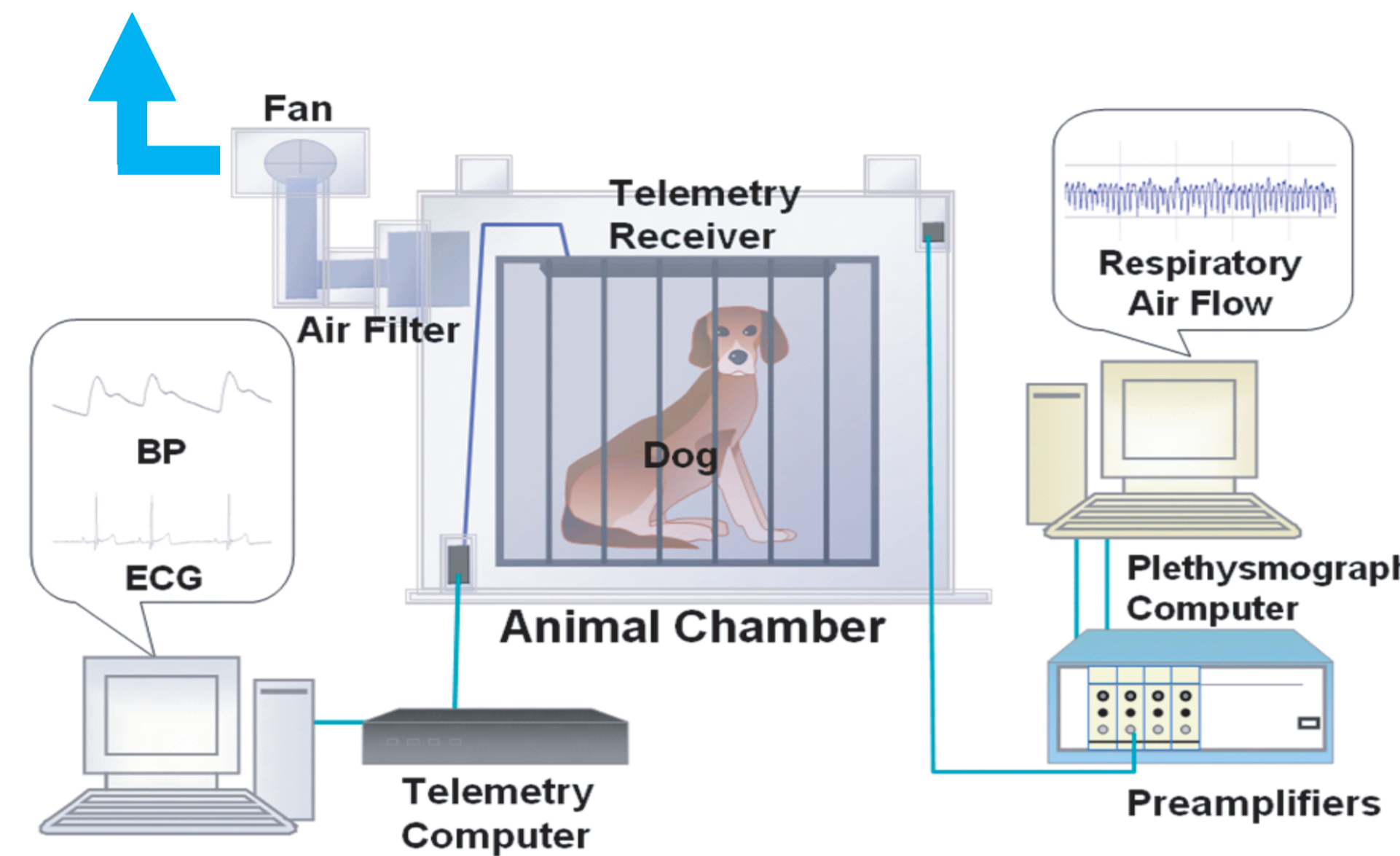


## Introduction

安全性薬理コアバッテリー試験の目的は、生命維持に重要な中枢神経系、心血管系および呼吸系に対する化合物の影響を評価することである。その方法として、大動物における中枢神経系、心血管系および呼吸系に及ぼす化合物の影響を同一個体で同時に評価することが望ましい。しかしながら、技術的な問題から無麻酔無拘束下の大動物において、呼吸機能を長時間にわたり測定することが困難であったが、我々は、イヌの呼吸機能を長時間にわたり測定可能なWBP法を確立した(宮森 他, 第79回 日本薬理学会年会, 横浜)。今回は、このWBP法にTelemetry法と中枢神経系の一般症状および行動観察を併用した総合検査法を用いて、麻薬性鎮痛薬であるモルヒネの中枢神経系、心血管系および呼吸系に対する影響をビーグル犬で検討した。



## Methods

- 飼育環境
    - 温度 (21.8~24.1°C), 湿度 (42~58%)
  - 使用動物
    - 雄性ビーグル犬3頭 (10.58~13.84 kg, 2~3才)
    - テオベンタルナトリウム静脈内投与 (25 mg/kg) による麻酔下でTelemetry送信機 (TL11M2-D70-PCT, Data Sciences International) を腹腔内に植え込み、血圧測定用カテーテルを大動脈を介して腹部大動脈に留置し、心電図測定用リード線はA-B誘導に固定した。動脈採血のためのアクセスポートは、大動脈を介して腹部大動脈に留置し採血部位は背部に固定した。
  - 投与物質
    - モルヒネ (0.1, 0.3, 1, 3 mg/kg, s.c.)
    - 媒体: 生理食塩液 (2 mL/kg)
  - 使用機器
    - 行動観察記録: CCDカメラ, モニター, HDDレコーダー (三菱電気株式会社)
    - 自発運動量測定: SUPERMEX (室町機械株式会社)
    - Telemetry法: Open ART 2.2 (Data Sciences International社), Notocord HEM 3.5 (NOTOCORD社)
    - Whole body plethysmography (WBP)法: BioSystem XA, Ver 2.9.0. (Buxco社)
    - 血液ガス検査: ABL77 (ラジオメーター株式会社)
- 試験および測定項目
- 【中枢神経系】
    - 一般症状観察 (Observation)
      - (項目) 体位姿勢, 痙攣, 筋緊張, 正方向反射, 瞳孔反射, 眼瞼反射, 聴覚検査, 触覚検査, 痛覚検査, 眼の状態, 鼻の状態, 被毛の状態, 粘膜の状態, 涎, その他
    - 行動観察 (Monitoring)
      - (項目) 体位姿勢, 行動, 痙攣, その他
    - 自発運動量 (LMA: Locomotor activity)
      - 体温 (Body temperature)
  - 【心血管系】
    - Telemetry法
      - 血圧 (MBP), 心拍数 (HR),
      - 心電図 (PR interval, QRS duration, QTc interval: Fridericia's formula = QT/RR<sup>1/3</sup>)
  - 【呼吸系】
    - WBP法
      - 呼吸数 (Frequency), 1回換気量 (V<sub>T</sub>: Tidal volume), 分時換気量 (V<sub>M</sub>: Minute volume), Enhanced pause (Penh)
    - 血液ガス検査:
      - pH, 酸素分圧 (PaO<sub>2</sub>), 二酸化炭素分圧 (PaCO<sub>2</sub>), ヘモグロビン酸素飽和度 (SaO<sub>2</sub>)
  - 統計解析
    - 各解析ポイントにおいて、媒体群とモルヒネ投与群との間でDunnnettの多重比較検定を行い、p<0.05を有意とした。
- 

## Results and Discussion

### 【中枢神経系】

Table 1. Effect of morphine on general activity and behavior in dogs.

Item	Saline	Dose			
		Morphine 0.1 mg/kg	Morphine 0.3 mg/kg	Morphine 1 mg/kg	Morphine 3 mg/kg
Abnormal posture	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Behavior					
Decrease in locomotor activity	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3 (1, 2, 4 hr)
Convulsion	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Muscle tone	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Righting reflex	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Pupillary reflex	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Palpebral reflex	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Auditory response	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Touch response	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Pain response	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Eyes	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Nose	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Fur	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Mucosa	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Salivation	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Others	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Abnormal posture	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Behavior					
Decrease in locomotor activity	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3 (AA 10~250 min)
Monitoring					
Convulsion	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Others					
Panting	0/3	0/3	1/3 (AA 46~59 min)	3/3 (AA 8~123 min)	3/3 (AA 8~148 min)
Vomiting	0/3	0/3	0/3	2/3 (AA 5~7 min)	2/3 (AA 3~6 min)

AA: After administration. Denominators represent the number of animals used in this study; numerators represent the number of animals showed signs.

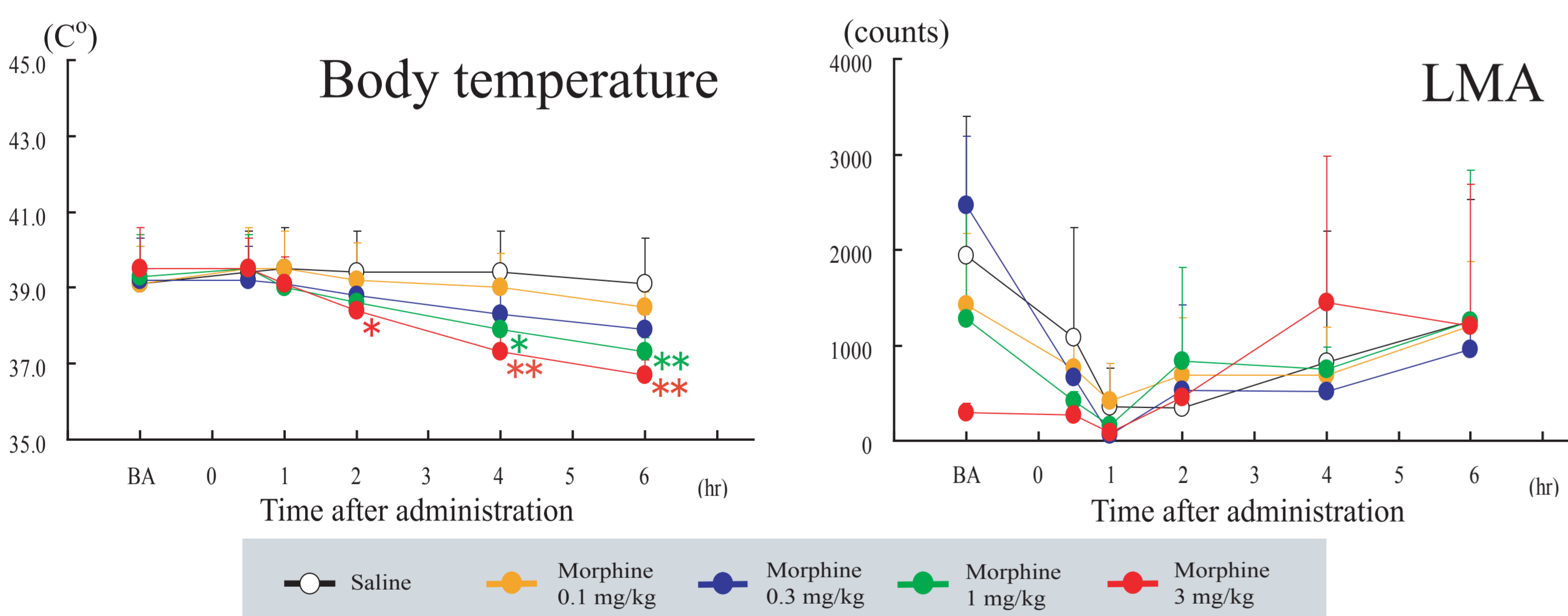


Fig. 1 Effect of morphine on body temperature and locomotor activity in dogs.

Each value represents the mean ± S.D. of 3 dogs.  
BA: Before administration.  
\*: p<0.05, \*\*: p<0.01; Significant difference from control (Dunnnett's test)

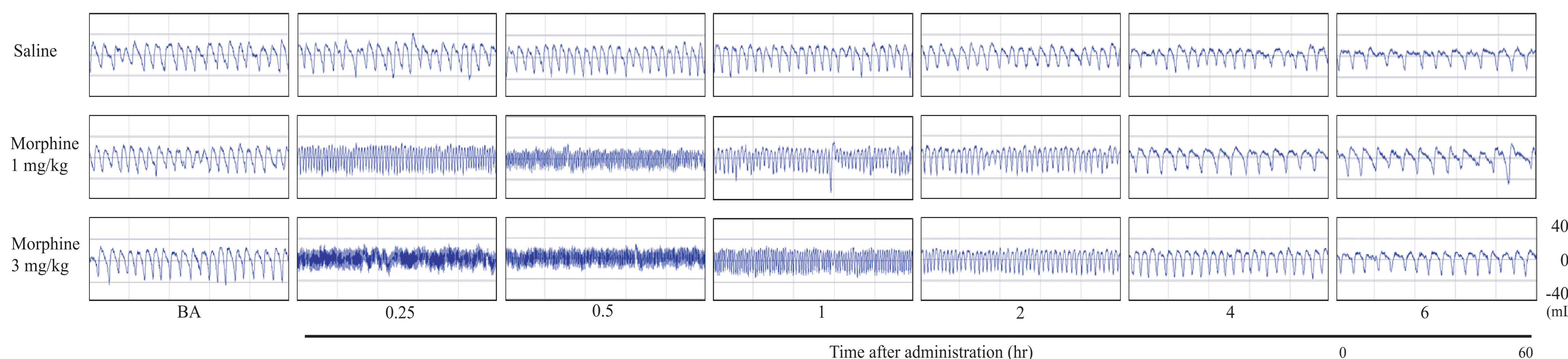


Fig. 3 Change of respiratory flow after treatment with morphine in dog.

BA: Before administration.

### 【呼吸系】

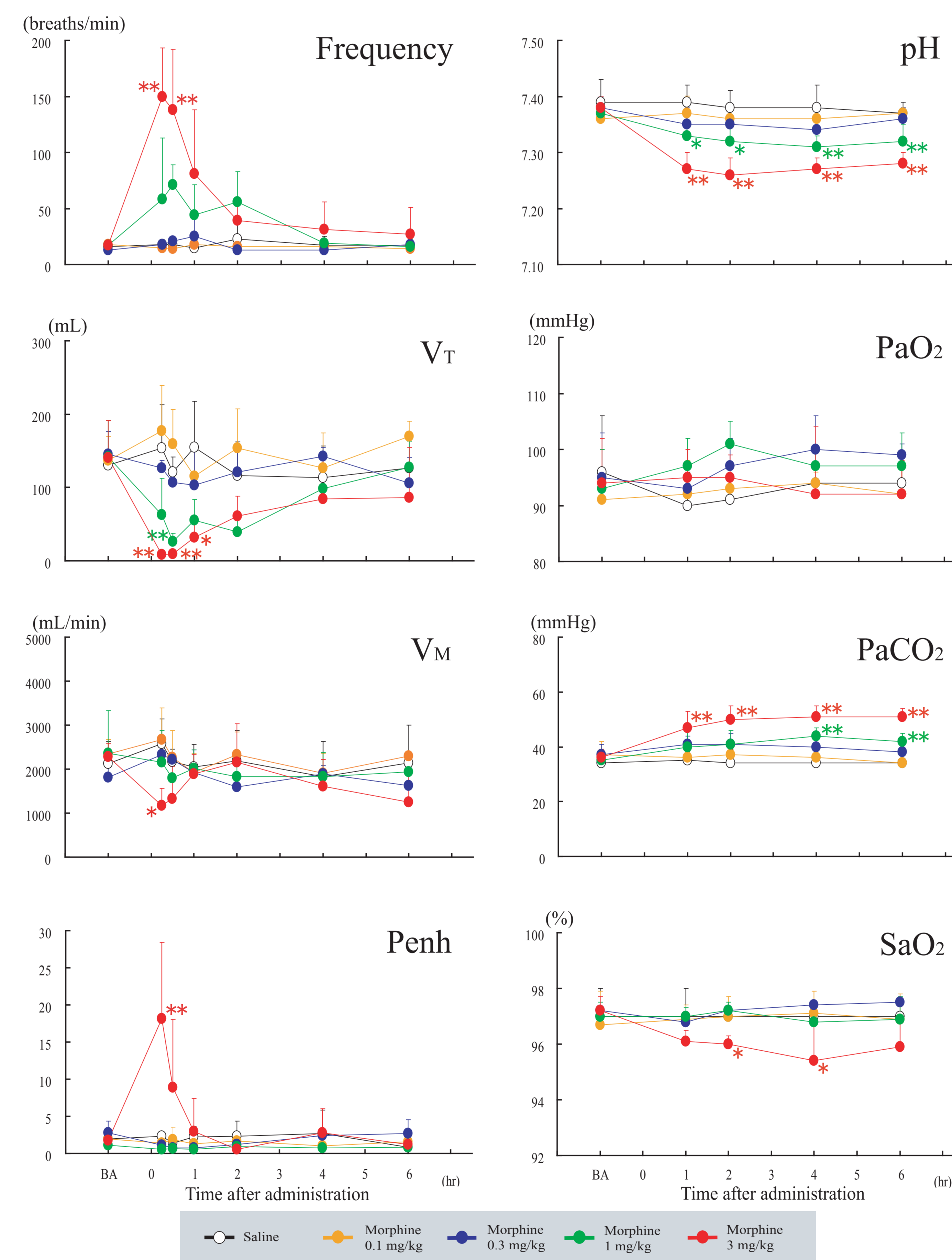


Fig. 2 Effect of morphine on respiratory and arterial blood gas parameters in dogs.

Each value represents the mean ± S.D. of 3 dogs.  
BA: Before administration.  
\*: p<0.05, \*\*: p<0.01; Significant difference from control (Dunnnett's test)

### 【心血管系】

Table 2. Effect of morphine on blood pressure, heart rate and electrocardiogram in dogs.

	BA	Time after administration (hr)					
		0.25	0.5	1	2	4	6
<b>MBP (mmHg)</b>							
Saline	106 ± 13	102 ± 7	98 ± 7	101 ± 8	100 ± 12	99 ± 12	102 ± 8
Morphine 0.1 mg/kg	97 ± 7	102 ± 10	103 ± 9	96 ± 9	100 ± 8	97 ± 7	108 ± 3
Morphine 0.3 mg/kg	109 ± 6	105 ± 4	105 ± 8	100 ± 6	104 ± 12	105 ± 3	104 ± 4
Morphine 1 mg/kg	102 ± 5	111 ± 4	109 ± 4	112 ± 6	116 ± 15	111 ± 4	106 ± 5
Morphine 3 mg/kg	101 ± 8	113 ± 2	114 ± 2*	121 ± 2*	119 ± 2	111 ± 3	117 ± 12
<b>HR (beats/min)</b>							
Saline	74 ± 32	82 ± 20	77 ± 25	72 ± 28	80 ± 41	73 ± 38	80 ± 37
Morphine 0.1 mg/kg	71 ± 20	81 ± 20	81 ± 23	69 ± 19	70 ± 18	62 ± 16	70 ± 14
Morphine 0.3 mg/kg	71 ± 18	84 ± 19	74 ± 17	65 ± 16	62 ± 17	64 ± 13	58 ± 5
Morphine 1 mg/kg	72 ± 24	86 ± 23	83 ± 18	88 ± 24	94 ± 6	77 ± 18	62 ± 4
Morphine 3 mg/kg	75 ± 11	89 ± 13	79 ± 6	65 ± 11	75 ± 8	68 ± 7	68 ± 32
<b>PR interval (msec)</b>							
Saline	122 ± 27	117 ± 22	116 ± 35	124 ± 26	121 ± 19	122 ± 20	116 ± 10
Morphine 0.1 mg/kg	127 ± 20	116 ± 30	118 ± 35	127 ± 24	127 ± 19	131 ± 11	122 ± 17
Morphine 0.3 mg/kg	124 ± 35	115 ± 30	120 ± 30	128 ± 29	130 ± 15	118 ± 17	123 ± 18
Morphine 1 mg/kg	120 ± 32	118 ± 15	119 ± 14	120 ± 12	122 ± 14	128 ± 3	131 ± 17
Morphine 3 mg/kg	120 ± 27	120 ± 8	129 ± 6	127 ± 8	125 ± 1	136 ± 2	135 ± 11
<b>QRS duration (msec)</b>							
Saline	39 ± 2	40 ± 4	40 ± 3	40 ± 3	39 ± 3	40 ± 3	41 ± 2
Morphine 0.1 mg/kg	40 ± 4	39 ± 4	40 ± 4	40 ± 5	40 ± 4	40 ± 3	42 ± 6
Morphine 0.3 mg/kg	40 ± 4	39 ± 3	39 ± 4	40 ± 4	41 ± 3	41 ± 4	41 ± 3
Morphine 1 mg/kg	40 ± 5	39 ± 4	40 ± 4	42 ± 3	43 ± 3	43 ± 3	42 ± 4
Morphine 3 mg/kg	40 ± 4	40 ± 4	42 ± 4	42 ± 4	45 ± 3	44 ± 3	45 ± 4
<b>QTc interval (msec)</b>							
Saline	235 ± 11	238 ± 6	232 ± 11	235 ± 6	232 ± 9	235 ± 10	241 ± 10
Morphine 0.1 mg/kg	243 ± 1	236 ± 7	242 ± 10	240 ± 8	242 ± 5	242 ± 13	247 ± 7
Morphine 0.3 mg/kg	234 ± 6	239 ± 8	238 ± 9	239 ± 14	241 ± 11	246 ± 14	241 ± 9
Morphine 1 mg/kg	232 ± 7	241 ± 15	247 ± 13	254 ± 11	268 ± 11**	268 ± 9*	263 ± 10
Morphine 3 mg/kg	236 ± 8	247 ± 4	251 ± 9	250 ± 14	264 ± 12**	269 ± 14*	266 ± 13*

Each value represents the mean ± S.D. of 3 dogs.  
BA: Before administration.  
\*: p<0.05, \*\*: p<0.01; Significant difference from control (Dunnnett's test)

【中枢神経系】中枢神経系に対する結果をTable 1およびFig. 1に示した。一般症状および行動観察では、用量依存的な浅速呼吸が認められ、0.3 mg/kgでは3例中1例で、1 mg/kg以上では全例で顕著に認められた。また、1 mg/kg以上で嘔吐がみられた (Table 1)。体温においては、用量依存的な低下がみられ、1 mg/kg以上で有意であった (Fig. 1)。自発運動量においては、自発運動量測定装置による測定では有意な変化は認められなかった (Fig. 1)。一般症状および行動観察において3 mg/kgで自発運動の減少が認められた。

【心血管系】心血管系に対する結果をTable 2に示した。血圧に対しては、用量依存的な上昇がみられ、3 mg/kgにおいて有意であった。心電図においては用量依存的なQTc intervalの延長がみられ、1 mg/kg以上で有意であった。心拍数においては、明らかな影響は認められなかった (Table 2)。

【呼吸系】呼吸系に対する結果をFig. 2およびFig. 3に示した。WBP法による呼吸機能測定では、投与後0.25時間をピークとした用量依存的かつ有意な呼吸数の増加 (3 mg/kg)、1回換気量の減少 (1 mg/kg以上)、分時換気量の減少 (3 mg/kg)、Enhanced pauseの上昇 (3 mg/kg) が認められた (Fig. 2)。血液ガス検査では、用量依存的かつ有意なpHの低下 (1 mg/kg以上)、二酸化炭素分圧の上昇 (1 mg/kg以上) およびヘモグロビン酸素飽和度の低下 (3 mg/kg) が認められた (Fig. 2)。呼吸機能への影響を詳細にみると、呼吸数の増加および換気量の減少が認められた後に、血液ガスパラメータが変動する傾向があり、その変動は呼吸機能が回復した後においても持続していた。このことからWBP法が各呼吸パラメータの変化を鋭敏、かつ経時的にとらえられることを示唆しており、血液ガス検査を組み合わせることで、呼吸機能に対する作用をより詳細に評価できると考えられる。

以上のことから、総合検査法は安全性薬理コアバッテリー試験における化合物の評価に有用であることが示唆された。