

博士論文要約

平成5年3月修了 獣医学研究科 共同獣医学専攻

氏名 望月 秀美

論文題目 モルモットの化学メディエーター誘発アレルギー性結膜炎モデルの最適化と標準化に関する研究

(Optimization and standardization of chemical mediator-induced allergic conjunctivitis model in guinea pigs)

アレルギー性結膜炎は、眼科領域における最も一般的な免疫性疾患である。その患者数は未だ世界で増加傾向にあり、アレルギー性結膜炎に対する治療薬の開発ニーズも高まっている。医薬品開発には莫大な時間と資源が必要だが、その成功確率は極めて低く、年々減少傾向にある。これを改善するためには有効性(薬効)と安全性(毒性)の観点から候補化合物のドロップアウトを防ぐ必要がある。薬効評価に関しては開発の初期段階から適切な動物種及び系統を選択し、適切な病態モデル及び薬効評価方法を確立して評価することが非常に重要である。

アレルギー性結膜炎の治療薬開発のための病態モデルはいくつか知られているが、結膜炎誘発物質を点眼して結膜炎症状を誘発させる化学メディエーター誘発モデルは、実験操作が簡便で開発初期のスクリーニングモデルとして有用と考えられる。このモデルで主に用いられるモルモットは取扱いが容易なだけでなくヒスタミン感受性が高くヒトとも類似していることから、開発初期の薬効を評価するための動物として適切な種と考えられている。一方で、このモデルのための結膜炎誘発物質の濃度や点眼量といった誘発条件や、薬効評価で結膜炎症状の観察に用いられる結膜炎スコアの基準は統一されておらず、このモデルを用いた薬効評価には精度の高さや信頼性に問題がある。そこで、本研究ではヒスタミンとヒスタミン H₄ 受容体作動薬である 4-メチルヒスタミン (4MeHA) の2つの化学メディエーターにより結膜炎症状を誘発する病態モデルを用いて、確実に結膜炎症状を引き起こし薬効評価が可能な誘発条件の検証、並びに精度が高く信頼性のある薬効評価方法の確立を試みた。

第1章では、ヒスタミンによる結膜炎誘発モデルについて検討した。既存モデルの条件でモデルの作製を試みたが、十分な結膜炎症状は発現せず、薬効評価のためにはヒスタミンの投与量は 2000 ng/ μ L (12.5 μ L/eye) まで増加させる必要があった。さらに作製した結膜炎モデルが薬効評価モデルとして適切かどうかを、市販の抗ヒスタミン薬を用いた薬効評価試験で確認した。その結果、ヒスタミンの投与量を増加させた条件で薬効に適した結膜炎症状が確認でき、さらに抗ヒスタミン薬の薬効も捉えることができた。評価方法については、医薬品の安全性試験において眼の急性毒性(刺激性)を調べる目的で標準化されている Draize の基準を結膜炎スコアに採用した。その結果、従来の方法と比較して曖昧性が排除され、より客観性の高い評価ができた。この基準は毒性試験だけでなく、薬効試験でも活用できる可能性が示された。

第2章では、ヒスタミン H₄ 受容体拮抗薬の評価のためのモデルとして、4MeHA による誘発モデルについて同様に検討した。4MeHA を用いた病態モデルはマウスで報告があるが、ヒスタミン H₄ 受容体のヒスタミン親和性には種差があり、マウスよりもモルモットの方がヒトにより近い結合親和性を示すことが知られている。そこで、マウス結膜炎モデルを参考にモルモットでの誘発条件を検討し、次いで作製した結膜炎モデルが薬効評価モデルとして適切かどうかを、ヒスタミン H₄ 受容体拮抗薬及びヒスタ

ミン H₁ 拮抗薬を用いて確認した。その結果、4MeHA は 81000 ng/μL (5000 nmol/12.5 μL/eye) の投与量でモルモットに点眼することで、結膜及び虹彩の充血が確認できた。しかし、マウス結膜炎モデルで見られるような浮腫は認められず、血管透過性の亢進や引っ掻き行動の増加は確認できなかった。マウスとモルモットでは、ヒスタミンの H₄ 受容体との結合親和性だけでなく、4MeHA に対する生体反応に違いがあるものと考えられた。一方で、4MeHA の点眼によって認められた結膜及び虹彩の充血は、ヒスタミン H₄ 受容体拮抗薬で特異的に抑制され、薬効評価が可能であった。モルモットを用いた 4MeHA 誘発モデルは、血管透過性の亢進や引っ掻き行動の増加がないことから、アレルギー性結膜炎に対する薬効の網羅的な評価には不向きであるが、開発初期における簡易的なスクリーニングモデルとして活用できる可能性が考えられた。結膜炎スコアの評価基準は、第 1 章と同様に医薬品の毒性試験で標準化されている Draize 及び McDonald-Shadduck の基準を採用することで曖昧性を排除した。McDonald-Shadduck の基準は Draize の基準よりも部位ごとに詳細な観察が可能であり、今回のモルモットのモデルの特徴である虹彩の変化をより適切に捉えることができた。

以上、いずれの病態モデルも結膜炎誘発物質の濃度や点眼量といった誘発条件を事前に確認することで薬効評価に適切なモデルとすることができた。既報の研究論文の情報をもとにモデルの作製方法を改変する際は、材料や方法をより詳細に記録し公表することが、後のモデルの再現性の向上のためには重要と考えられた。さらに、国際的なガイドライン化や標準化がなされている毒性試験の評価基準を病態モデルの症状観察に取り入れることで、精度の高い薬効試験が可能で薬効評価方法の標準化に繋がるものと考えられた。本論文で示したヒスタミン誘発結膜炎モデル及び 4MeHA 誘発結膜炎モデルが、信頼性及び再現性の高い標準化されたアレルギー性結膜炎の薬効評価モデルとして活用されることが期待される。