トレーニングしたテレメトリーサルにおけるハンドリング及びケージ内頻回採血が心血管系パラメータの評価に及ぼす影響

Handling and blood sampling produced no observable effects on cardiovascular parameters in well-trained telemeterized monkeys

○鎌田満稔，島田知季，林良太，大塚博比古，福井英夫
Axcelead Drug Discovery Partners株式会社　非臨床安全性研究

AXCELEAD Drug Discovery Partners

背景及び目的

テレメトリー試験は、評価する化合物の心血管系への作用の有無と血漿中薬物濃度（TK）を併せて評価することがある。しかし、サルでは採血時のハンドリング及び採血操作を含めた外界刺激が心血管系パラメータに影響を及ぼすため、TK測定を別試験として実施することが一般的である。その場合、TK評価及び心血管系評価を行う個体が異なることから、TKと心血管系パラメータの変動との関連を精度良く評価することが難しくなる。また、これらの試験を別途行うため、データ取得にも時間を要してしまう。そこで今回、試験前にケージ内で保定及び採血馴化トレーニングを行うことで、テレメトリー試験へのTK採血組み込み可否について検討した。

材料

使用動物

フィリピン産雄性カニクイザル4頭、使用開始時年齢：5年3ヵ月～6年齢、
使用開始時体重：5．05～5．57 kg

＜テレメトリー送信器の埋め込み手術＞

入荷後8週間、グミの手渡しによるヒト親和性向上及びハンドリングの馴化トレーニングを行い、トレーニング効果スコアが高く、行動量測定で日間差が少なく、拘束下心電図でも不整脈がなく、波形の明瞭な個体のみを選別し、手術に供した。送信器は腹腔内に、血圧カテーテルは右大腿動脈から挿入し、腹部大動脈に留置した。

飼育条件

明暗周期：12時間（7:00点灯、19:00消灯）、金属製ケージに単飼育、
エンリッチメントあり（テレメトリーデータ取得中は撤去）

テレメトリーシステム

送信器/ソフトウエア：TL11M2-D70-PCT又はTL11M3-D70-PCTP／Ponemah Ver.5.00（Data Sciences Internatioanl）

検討1．ケージ内での保定及び採血操作への馴化トレーニング

＜実験方法＞

トレーニング期間：　約2ヵ月
トレーニング頻度：　平日のみ1日2回（午前午後1回ずつ）、2分以内/頭。
トレーニング内容：

Step 1　ケージ内保定トレーニング（約1ヵ月）

① 挟体板を引き寄せ、扉格子の間から腕を出す→② 保定を解除し挟体板を緩める→
③ レーズンを手渡しする。

Step 2　ケージ内採血（針刺し）トレーニング（約1ヵ月）

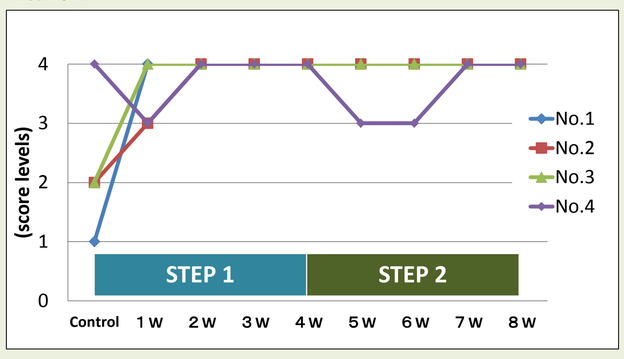
① 挟体板を引き寄せ扉格子の間から腕を出す→② レーズンを手渡しする→③ 針を刺した後、止血する→
④ 保定を解除し挟体板を緩める→⑤ レーズンを手渡しする。

＜評価方法＞

1．トレーニング効果スコア

ケージ内トレーニング効果を確認するため、週1回の頻度でサルの行動を5段階のスコアレベル（0：引き寄せられることを嫌がる，1：捕獲棒でリングに引っかけられることを嫌がる，2：手を出すことを嫌がる，3：針を刺されることを嫌がる，4：針を刺されても嫌がらない）で評価した。

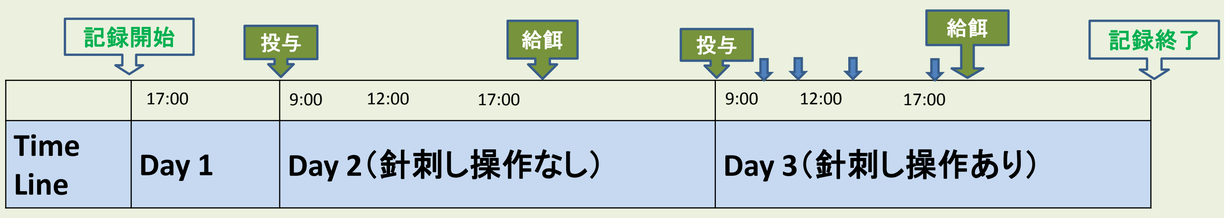
（結果）



2週後には全例最高スコアとなった。その後1例で一過性のスコアダウンがみられたが、トレーニング最終には再び全例最高スコアに到達し、明らかなトレーニング効果を示した。

2．トレーニング前後の血圧及び心拍数比較

下記内容をトレーニング前及びトレーニング終了後に実施した。



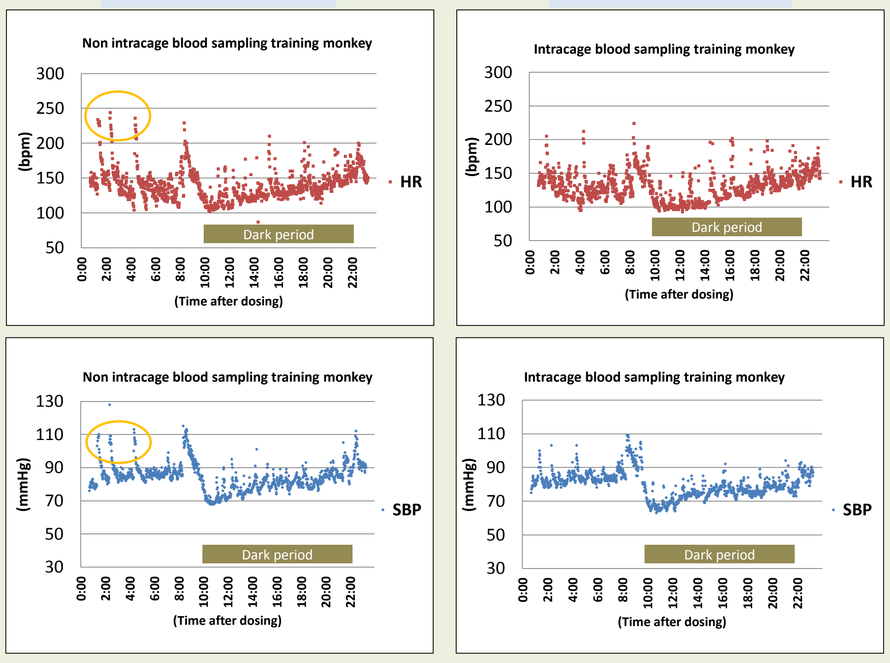
投与：　0．5%(w/v)メチルセルロース溶液（5 mL/kg）を操作前日及び操作日の9時頃
保定・採血（針刺し）操作：　4時点（投与後1．25，2．25，4．25及び8．25時間）
テレメトリー記録：　操作前々日17：00～操作24時間後。解析ポイントは、操作前日及び操作日の投与前、投与1，2，4，8，12，18及び23時間後時点の30分間（前後15分）

①入室による影響

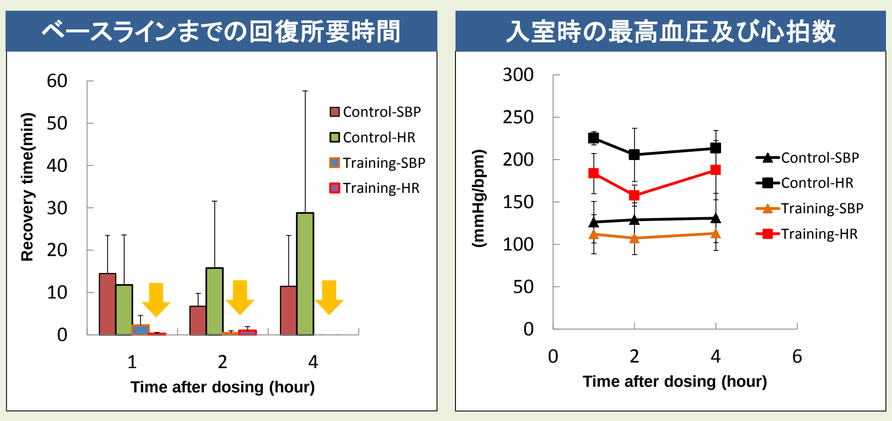
操作3時点（投与1，2及び4時間後）について、退出後のベースラインまでの回復時間及び入室時に最も上昇した血圧及び心拍数をトレーニング前後で比較した。血圧は収縮期血圧（SBP）を評価パラメータとした。
ベースラインは処置前日の同時点の30分間の平均値±5 mmHg（血圧）及び10 bpm（心拍数）とし、退出後に血圧及び心拍数がベースラインに戻るまでの所要時間を評価した。

（結果）

トレーニング前　　トレーニング後



入室時の一過性の血圧及び心拍数の上昇は、トレーニング後、顕著に軽減した。



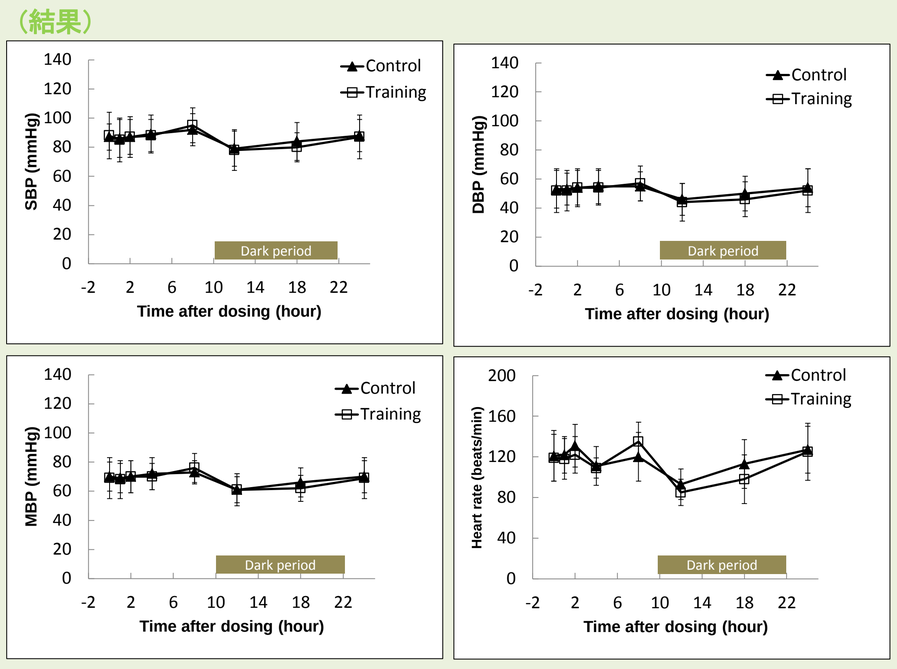
ベースラインに回復するまでの時間が短縮し、トレーニング後は入室時にみられる血圧及び心拍数の上昇の程度が抑えられた。

検討1．ケージ内での保定及び採血操作への馴化トレーニング（つづき）

②統計解析

測定時点毎（投与前時点を除く）に分散分析モデル（処置及び個体を要因とする）を適用し、各操作前日とcontrol（トレーニング前）及びtraining（トレーニング後）の各平均値の差の検討のために対比による群間比較を行った。対比検定は、Holmの方法を用いて多重性の調整を行った。
投与前を除く各測定時点の群の効果の評価については、対比検定の結果を分散分析の処置効果よりも優先した。有意水準は両側5%とした。

（結果）



トレーニング前後の平均血圧及び心拍数に統計学的有意な差なし。

事前の入念な動物選別により、すでにテレメトリー試験により適した高いクオリティーを獲得した動物であった可能性が高い。
→動物選別の重要性を確認

検討2．陽性対照薬投与における心拍数及び血圧の変化

＜実験方法＞

1）使用薬物
①Etilefrine（製品名：エチレフリン塩酸塩錠エチホール錠5 mg，製造元：サノフィ(株)）
投与量：0*，10，30 mg/kg
②Nifedipine（製品名：ニフェジピンCR錠10 mg「NP」，製造元：ニプロ(株)）
投与量：0*，10，30 mg/kg
＊：0．5 %(w/v)メチルセルロース溶液

2）使用動物及び投与方法
検討1の4頭のうち3頭を使用し、3×3のクロスオーバー法により3～4日間隔で9：00頃に投与。

3）テレメトリー記録：投与前日の17：00～操作24時間後。解析ポイントは、投与前、投与1，2，4，8，12，18及び23時間後時点の30分間（前後15分）。

4）血漿中薬物濃度測定：採血ポイントは6ポイント[投与前（初回投与日は採血後廃棄）、投与後1．25，2．25，4．25，8．25時間及び24．25時間]、採血量は各0．2 mL。
Vehicle投与動物は、採血時同様の針刺し操作のみを行った。

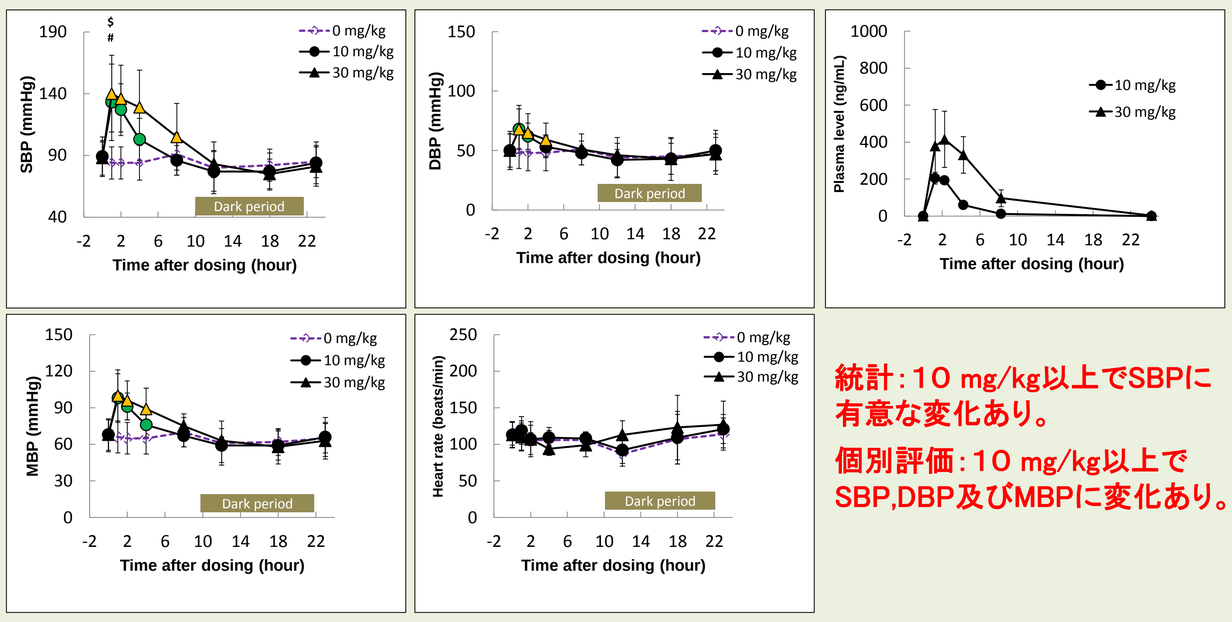
＜評価方法＞

①統計解析
測定時点毎（投与前時点を除く）に分散分析モデル（処置、時期及び個体を要因とする）を適用し、対照群と投薬群の平均値の差の検討のために対比による群間比較を行った。
対比検定は、Holmの方法を用いて多重性の調整を行った。投与前を除く各測定時点の群の効果の評価については、対比検定の結果を分散分析の処置効果よりも優先した。
有意水準は両側5%とした。

②個別評価として、SPS/JSPS/CSPT Joint Meeting 2016で「Japan activity for Improvement of Cardiovascular Evaluation by Telemetry system (J-ICET)_BP/HR: Promising hemodynamic assessment in non-rodents by considering the physiological variables」と題して発表されたサルにおける血圧及び心拍数の生理的変更範囲を元に作成された評価基準（SBP:±11 mmHg，DBP:±10 mmHg，MBP:±10 mmHg，HR:±39 bpm）により、投薬による有意な変化を判断した。

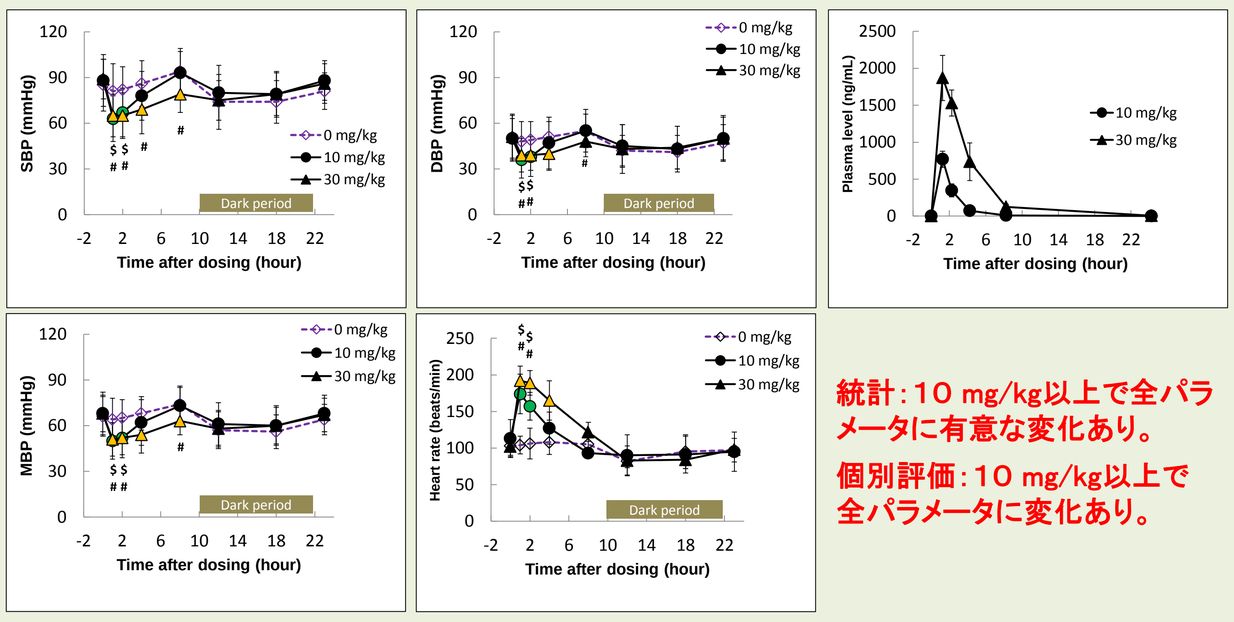
（結果）

Etilefrine



統計：10 mg/kg以上でSBPに有意な変化あり。
個別評価：10 mg/kg以上でSBP,DBP及びMBPに変化あり。

Nifedipine



統計：10 mg/kg以上で全パラメータに有意な変化あり。
個別評価：10 mg/kg以上で全パラメータに変化あり。

#(30 mg/kg),$(10 mg/kg) : Significantly different from the vehicle group (the contrast analysis with crossover ANOVA), p<0.05.
▲（30 mg/kg），● (10 mg/kg)：JSPS criteria over

結論

試験前にケージ内で保定及び採血馴化トレーニングを行うことにより、サルのテレメトリー試験にTK採血を組み込むことは可能であり、個体ごとに血漿中薬物濃度を考慮した精度の高い心血管系評価ができると考えられた。
また、本法は使用動物数及び被験物質量の削減に繋がり、動物愛護、コスト削減及び試験実施の加速化の観点からも有用であると考えられた。

無断転載禁止

演題発表に関連し、開示すべきCOI関係にある企業・組織および団体等はありません。