

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 赤羽根 僚太

肺高血圧症 (PH) は肺動脈圧 (PAP) の上昇を特徴とする進行性の疾患で、小動物では特にイヌに多発している。イヌでは、PH は僧帽弁閉鎖不全症や慢性呼吸器疾患に続発することが多い。いずれにせよ PH は右心不全を合併し、肺循環を障害し、さらに肺組織に壊滅的なダメージを与えるため予後は不良である。ヒトでは、PH は右心カテーテル検査 (RHC) による PAP の直接的な測定に基づいて確定診断されている。これに対して、動物では全身麻酔のリスク、必要機材、費用および合併症といった理由により、現実的には RHC の実施は不可能であることから、イヌの PH は心エコー図検査から推定した PAP に基づき診断されている。しかし、この PAP の推定値は不正確な場合が少なくなく、無視できない変動を伴うことが報告されている。近年、右室および肺動脈といった右心系に焦点を当てた心エコー図検査パラメータが提唱されており、PAP 上昇に関連した病態評価に役立つと期待されている。しかし、これらパラメータと観血的に測定した PAP の相関性を調査した研究は、動物では極めて少ない。

ホスホジエステラーゼ (PDE) -V 阻害作用を発揮するシルデナフィルは、PDE-V による環状グアノシンリン酸の不活性化を阻止することで肺血管を拡張させる。このためヒトと同様、この薬剤は PH のイヌにも広く投与されている。この薬剤は心臓病治療薬の中では高額であるため、コストと効果のバランスがとれた投与計画が重要になる。この計画策定に不可欠なシルデナフィルの薬物動態および薬力学はイヌでは十分に調査されていない。

以上の状況に鑑み本研究では、近年 PH のイヌで提唱されている右心系心エコー図検査パラメータと観血的な PAP の相関性を調査し、多いシルデナフィルの薬物動態および薬力学的特徴を、慢性塞栓性肺高血圧 (CEPH) モデル犬を用いて調査した。

### 第2章 慢性塞栓性肺高血圧症モデル犬での右心エコー図検査パラメータおよび観血的な肺動脈圧測定値の関連性の評価

本章では、PH モデル作製前後での右心系心エコー図検査パラメータおよび RHC で測定した PAP の相関性を調査した。臨床的に健康な 5 頭のイヌの肺動脈内に直径 100-300  $\mu\text{m}$  のマイクロスフェアを複数回注入することで CEPH モデルを作製した。心エコー図検査をモデル作製前後で実施し、右心系の心エコー図検査パラメータを測定した。

その結果、体重で標準化した拡張期右室内径 (RVIDdn)、肺動脈/大動脈内径比

(PA/Ao), 肺動脈血流の加速時間/駆出時間比 (AT/ET), そして体重で標準化した三尖弁輪収縮期移動距離 (TAPSEn) が収縮期および平均肺動脈圧 (sPAP および mPAP) と有意に相関した. いっぽう, PA/Ao のみが拡張期肺動脈圧 (dPAP) と有意に相関した. 重回帰分析では, AT/ET および RVIDdn が sPAP に独立して影響し, そして PA/Ao および RVIDdn が mPAP に独立して影響する因子であることが確認できた. 加えて, AT/ET および PA/Ao は高い感度および特異度で CEPH を予測できることが判明した. それに対して, 従来から臨床現場で広く測定されている三尖弁逆流 (TR) および肺動脈弁逆流 (PR) 血流速度は, 観血的に測定した PAP と有意に関連しなかった.

以上の結果から, TR または PR が存在しなくとも, 上述の右心系心エコー図検査パラメータにより PH を精度よく予測でき, PH に関連した右心系の変化を評価できると考えられた.

### 第3章 臨床的に健康なイヌに単回経口投与したシルデナフィルの薬物動態：食事の影響および用量比例性の評価

イヌでのシルデナフィルの薬物動態に関する報告は非常に少なく, 投与量および投薬頻度を決定するための基本的情報はほとんどないのが現状である. そこで本章では, 臨床的に健康なイヌにシルデナフィルを経口投与した後の薬物動態特性を調査し, 加えて食事の影響および用量比例性を評価した. 6頭のイヌを用いたクロスオーバー法により, シルデナフィルの薬物動態に対する食事の影響を調査した. 加えて, 5頭のイヌを用いたクロスオーバー法により, 1, 2 および 4 mg/kg のシルデナフィルの用量比例性を評価した. 血漿中シルデナフィル濃度は高速液体クロマトグラフィー法により測定し, モーメント解析により薬物動態を評価した.

結果として, シルデナフィルの最高血漿中濃度到達時間 (Tmax) はおよそ 1-2 時間だった. 最高血漿中濃度 (Cmax) および無限時間まで外挿した濃度-時間曲線下面積 (AUCinf) は, 空腹時に比べ食後にそれぞれ 42 および 20 % 低下した. 空腹時と食後とでは半減期 (t1/2) はそれぞれ 2.8 および 3.2 時間で, 有意差は認められなかった. またパワーモデル解析により, 1, 2 および 4 mg/kg の用量の範囲で Cmax および AUCinf の用量非比例性の増加が確認された.

以上の結果から, シルデナフィルを食事の 1-2 時間前, つまり空腹時に投与することで, 食事によるシルデナフィルの吸収低下を抑え, より高い血中濃度を達成できると考えられた. また, 本章で初めて認められた用量非比例性は, イヌでのシルデナフィルの主要代謝臓器である肝臓での代謝飽和に起因すると考えられた. 本章で得られた以上の所見は, PH のイヌで生じ得るシルデナフィルの薬物動態変化を検出するとともに, この薬剤の投与量および投与頻度を決定する上での基礎的な情報となると思われた.

#### 第4章 慢性塞栓性肺高血圧症モデル犬に単回経口投与したシルデナフィルの薬物動態

シルデナフィルはイヌのPHの代表的治療薬だが、自然発症したPH罹患犬ではこの薬剤の薬物動態に関する情報は非常に限られており、詳細は依然として解明されていない。

そこで本章では、CEPHモデル犬を用いてシルデナフィルの薬物動態を評価し、第3章で得られた結果と比較した。CEPHモデルは、臨床的に健康な4頭のイヌを用い、第2章と同じ方法で作成した。これらのモデル犬を用いたクロスオーバー法により、絶食下にて1、2および4 mg/kgのシルデナフィルを投与し、投与後の薬物動態を評価した。なお、血漿中シルデナフィル濃度の測定法および薬物動態の解析法は第2章と同様とした。

その結果、CEPHモデル作製前後で心拍出量の有意な低下が見られ、薬物動態解析ではC<sub>max</sub>およびAUC<sub>inf</sub>が用量に比例して増加した。各用量間でT<sub>max</sub>に有意差は認められなかったが、1 mg/kg投与時と比較して4 mg/kg投与後にt<sub>1/2</sub>および平均滞留時間(MRT)が軽度だが有意に延長した。

以上の結果から、本研究でのCEPHモデル犬では、健康犬で認められたシルデナフィルの用量非比例性が消失し、用量比例性にC<sub>max</sub>およびAUC<sub>inf</sub>が増加することが解った。また、このCEPHモデルでは心拍出量が有意に低下したことから、心疾患のヒトで指摘されている消化管血流量の低下に起因するシルデナフィルの吸収障害が起きたため、C<sub>max</sub>およびAUC<sub>inf</sub>が予想よりも上昇しなかったと考えられた。また、4 mg/kgのシルデナフィルの投与後にt<sub>1/2</sub>およびMRTは有意に延長したが、健康犬から得られた値とほぼ同様であることから、これらの延長は臨床的には重視する必要性はないことが判明した。

#### 第5章 慢性塞栓性肺高血圧症モデル犬の血行動態に対するシルデナフィルの短期的効果の評価

既に指摘したように動物医療の現場では、RHCを実施することは不可能である。このため、PHのイヌの肺および全身の血行動態に対する様々な用量のシルデナフィルの影響を観血的、かつ定量的に評価した研究は極めて乏しい。したがって本章では、CEPHモデルの血行動態に対するシルデナフィルの効果をRHCにより定量的に評価した。4頭のCEPHモデル犬は第2章と同じ手法で作成し、このモデル犬に1、2または4 mg/kgいずれかの用量のシルデナフィルを無作為に1週間経口投与し、投与前後の各血行動態パラメータを比較した。少なくとも1週間のウォッシュアウト期間後、残りの用量を無作為に経口投与し、すべてのイヌに上述した3種類の用量すべてを投与するまで続けた。

その結果、2および4 mg/kgで投与したシルデナフィルは、投与前と比較してsPAPを有意に低下させた。加えて、すべての用量のシルデナフィルが、投与前と比

較して mPAP および dPAP を有意に低下させた。加えて、4 mg/kg で投与したシルデナフィルは、1 mg/kg 投与後と比較してすべての PAP を有意に低下させた。また、シルデナフィルは、全身動脈圧および全身血管抵抗を変化させることなく、肺血管抵抗を有意に低下させた。肺動脈楔入圧、右房圧および心拍出量はいかなる用量でも変化しなかった。

以上の結果から、シルデナフィルは PH のイヌの肺動脈を選択的に拡張させ、用量依存性に PAP を低下させることが判明した。1 mg/kg で PAP は有意に低下したことから、PH のイヌでは 1 mg/kg から投薬を開始し、必要に応じて 2 および 4 mg/kg へと増量することで効果を增強できると思われた。

以上のように、本論文は近年提唱されている右心系心エコー図検査パラメータは、PH の診断および重症度評価に有用であること、PH の治療に頻用されているシルデナフィルは食事の 1-2 時間前（つまり空腹時）に投与するとより高い血漿中濃度を達成できること、そして経口投与後のシルデナフィルは用量依存性に PAP を低下させることを解明しており、これらの知見は学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（獣医学）の学位論文として十分な価値を有するものと認め、合格と判定した。