

第22回 日本毒科学会学術年会
第4回 日本毒科学会サテライトシンポジウム

薬物の副作用と毒性試験

— 遅発性毒性を中心に —

平成7年7月17日(月)

シェーンバッハ・サボー

1995 東京

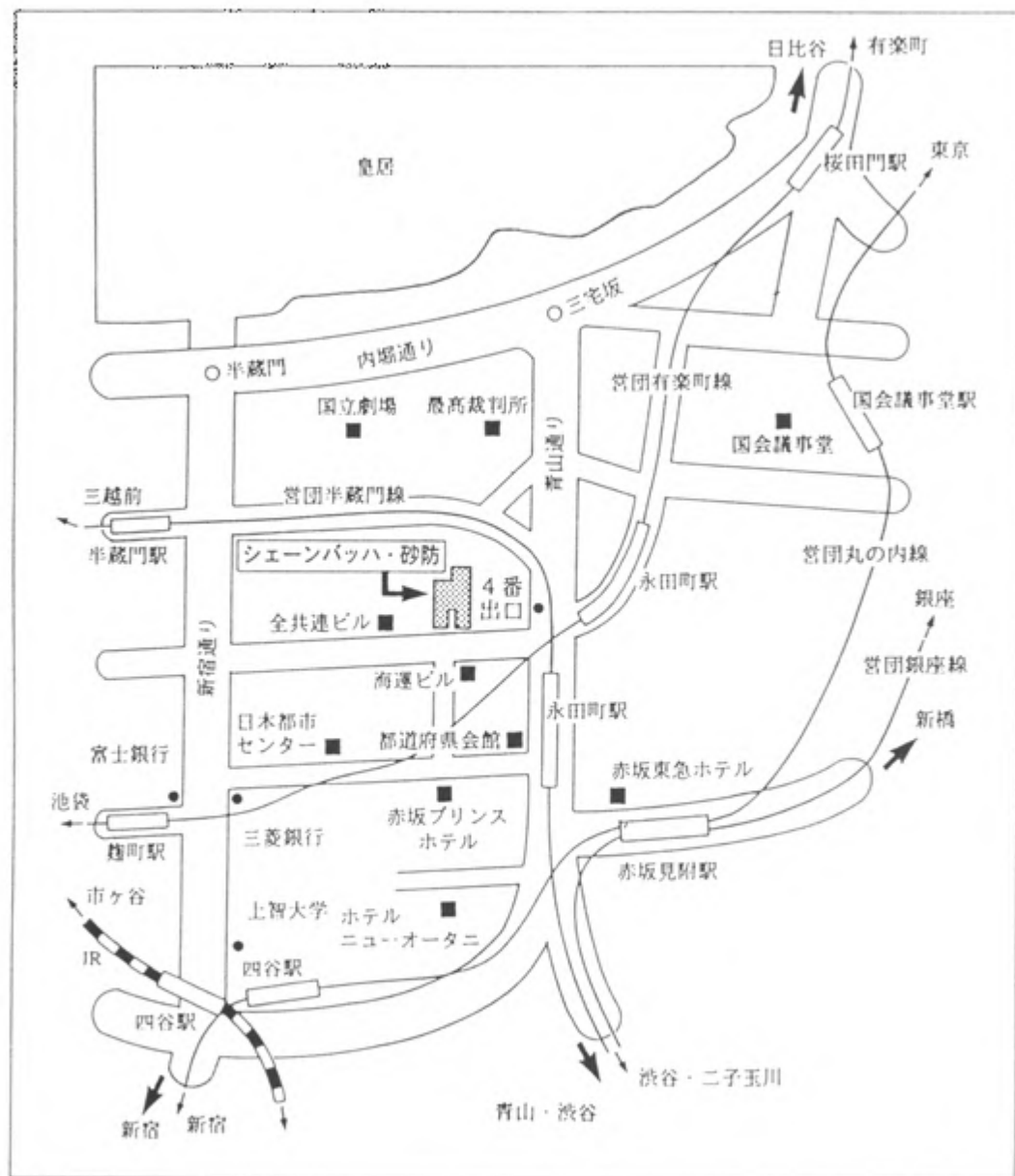
第22回日本毒科学会学術年会
第4回日本毒科学会サテライトシンポジウム

薬物の副作用と毒性試験 —遅発性毒性を中心に—

平成7年7月17日（月）
シェーンバッハ・サボー

第22回日本毒科学会学術年会
第4回サテライトシンポジウムオーガナイザー事務局
帝京大学医学部薬理学教室
〒173 板橋区加賀2-11-1
電話：03-3964-1211 内線2248
FAX：03-3964-0602

会場案内図



◆交通のご案内

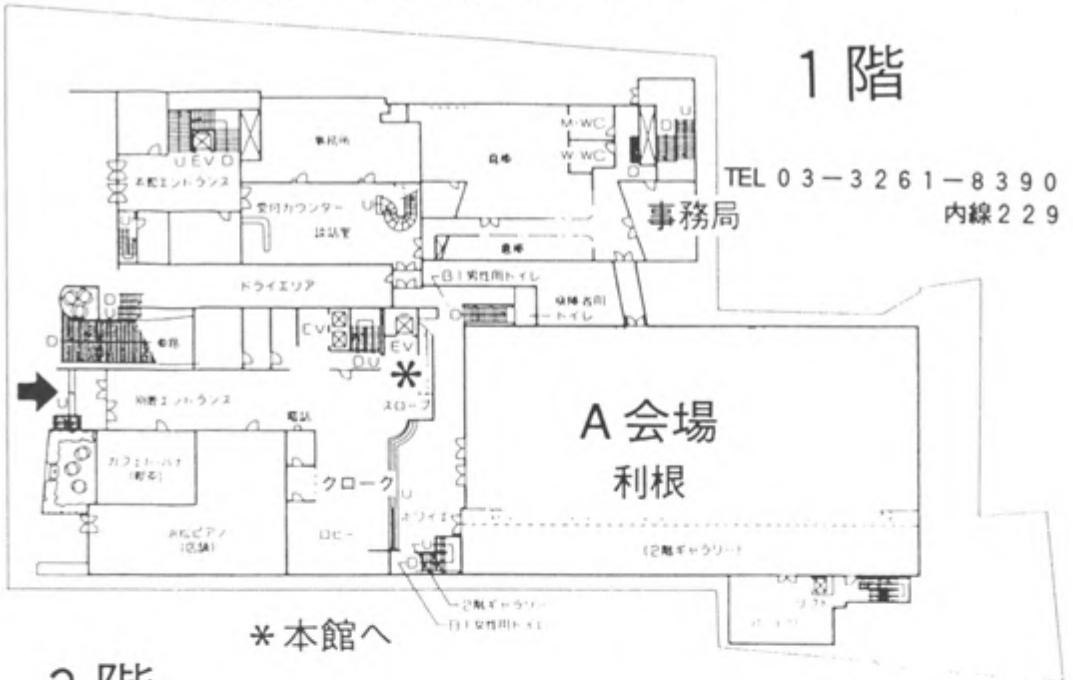
地下鉄<有楽町線><半蔵門線>永田町駅・4番出口より徒歩1分

地下鉄<銀座線><丸の内線>赤坂見附駅より徒歩5分

地下鉄<有楽町線>麴町駅より徒歩10分

JR<中央線><総武線>四谷駅より徒歩20分

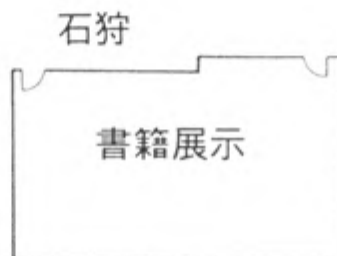
シェンバツハ・サボー



3 階



2 階 (本館)



第1部 シンポジウム 9:00～11:10

「遅発性毒性の問題点」

座長：藤井儔子（帝京大・医・薬理）

柳田知司（前臨床医学研究所）

9:00 1. 遅発性毒性の問題の展望：序にかえて

藤井儔子（帝京大・医・薬理）

9:20 2. 副作用の臨床像と毒性試験所見

柳田知司（前臨床医学研）

9:40 3. ウイルス性肝炎治療薬の遅発性毒性

飯野四郎（聖マリ医大・難治研センター）

10:00 4. 環境物質とアレルギー性結膜炎

宮田幹夫（北里大・医・眼科）

10:20 5. 放射能による遅発性障害

丹羽太貫（広島大・原爆放射能医学研）

10:40 質疑応答

11:10 休憩

第2部 教育講演 11:15～12:15

座長：福田英臣（日大・薬・薬理）

毒性試験法の国際的動向—OECD、ICHなどの動きを中心に

黒川 雄二（国立衛試・安全性センター・毒性）

第3部 パネルディスカッション 13:15～16:00

主題：「動物試験からヒトの遅発性副作用をどこまで予測できるか」

司会： 柳田知司（前臨床医学研究所）
藤井儔子（帝京大・医・薬理）

- 話題： 1. 遅発性副作用検索のための各種動物試験法
2. 動物試験からヒトでの遅発性副作用をどこまで予測できるか
3. インターフェロンによる精神科的副作用
4. 遅発性副作用の臨床事例と問題点（医薬全般について）
5. 動物試験からヒトでの遅発性副作用をどこまで予測できるか

パネリスト： 安東 潔 （前臨床医学研）

今井田 克己 （名古屋市大・医・第一病理）

横山 章光 （立川共済病院・神経科）

浜 六郎 （阪南中央病院・内科）

松澤 利明 （山之内製薬・創薬安全研）

第1部

シンポジウム

1. 遅発性毒性の問題の展望：序にかえて

藤井 儔子

帝京大学医学部・薬理

近年の分子レベルの病態解明により、開発される薬物も特異性が高く、かつ強力なものが増加した。医療におけるその恩恵は大きく、難病といわれた病気の治療も可能となった反面、長期に薬物治療を受けつつ社会生活を送る者も少なくない。しかし、ここに大きな問題が残される。それは長期投与により、予測しえなかった副作用の発現である。新薬開発時の前臨床試験において動物試験では発見しえなかった好ましくない作用の発現である。特に生物の発生分化の過程で作用をもつ、あるいは非常に特異的作用をもつ生理活性物質は、なお未知の生理活性を有する可能性のために、一般薬理作用および毒性を従来の方法で十分検討しても、予測しえない副作用が発現することがありうる。

今回のサテライトシンポジウムの主題として、予測、判定の難しさでのをしぼって討議されてこなかった遅発性毒性（副作用）を取り上げた。今後の創薬と医療における、より重要な課題と考える。あらためて考えると毒性と副作用の概念を定義することは意外に難しい。臨床では、毒性という語の与える印象からもかなり不可逆性の副作用であっても、毒性という語を用いることは少ない。抗癌薬は基本的にDNA合成阻害をして細胞増殖抑制を主作用とするのであるから、正常の細胞分裂を繰り返している組織、たとえば骨髄、消化管、皮膚に現われる副作用は毒作用発現とみなしうる。毒性が強くても使用される薬物のよい例はシスプラチンで、腎毒性が強いために、抗癌作用はすぐれていても開発後ながく臨床応用されなかったが現在では腎毒性と消化管毒性を予防する方法が確立されて、広く使用されているわけで、毒性と副作用の厳密な定義づけはなかなか難しい。一般には、動物試験では、毒性発現という表現を使用するが、同じ作用の発現も臨床では副作用と説明する場合が多い。近年本学会でも話題としている Toxicokinetics の概念、定義のむずかしさに通じる。

次に遅発性毒性（副作用）の意味である。遅発性副作用は薬物投与を繰り返しているうちに発現する副作用と考える場合が一般であろう。ここでは1回の投与でも、何らかの機能異常が遅れて発現しうる可能性も考えたいとの意図が含まれる。特に細胞分化発育の盛んな胎児期における薬物への暴露は動物実験では、1回暴露でもその危険性を示唆する成績を得ていることによる。

1993年の千葉における第20回日本毒科学会学術年会において今回の第22回学術年会の会長を仰せつかった頃はインターフェロンなどを含みサイトカイン類の臨床応用が行われ出して間もない頃であり、数は少ないが副作用が報告されるようになった。同年9月に第14回日本臨床薬理学会において「よりよき第1相臨床試験をめざして」と題したワークショップが開催された。演者の1人として“病態解明の進歩に伴う前臨床試験における問題点”の中で臨床応用が進みだしたインターフェロンにもふれ、フォローアップ・データが増えるにつれ前臨床試験では予測していない副作用が注目されていることにふれた。その後インターフェロンに関しては次第に副作用の種類と頻度が増加し、しかも、その機序の不明なものが多い。そこで、今回は臨床応用の最も多いウイルス性肝炎治療時の遅発性毒性を取り上げた。また、ベンゾジアゼピン誘導体は、薬物を開発した際には予測しえなかった副作用が、使用中止後、しかも、さまざまな期間において発現することが明らかとなっている。臨床使用頻度が高いだけに、専門領域における現状を知りたいと考え、ここに取り上げていただいた。

遅発性毒性は視野を広げれば環境化学物質すべての影響も含むことになる。時間の関係で環境物質として農薬に関連する領域から、環境物質とアレルギー性結膜炎についてお願いした。第1部の最後に講演される“放射線による遅発性障害”は弱い放射能に暴露されても、生体側の要因などにより遺伝的不安定性が引き起こされ発癌頻度をあげることを多面的解析から示される。遅発性毒性の大きな領域に含まれる化学発癌の機序との相違を知る上でも、また、環境の影響と薬物毒性の複合毒性ともいえる領域は将来の毒科学で取り上げるべき重要な領域であり、これに多くの示唆を与えるものと考えて講演をお願いした。

この主題によるシンポジウムを企画してから、時期を一にするようにして薬物併用による重大な副作用症例が続けて報告された。先に述べた放射能との複合効果のごとく、多剤併用が医師のみならず、患者にも当然と受けとめられている今の日本において、薬物毒性に関する視野を広げる一助になればと考えている。毒科学 Toxicological Sciences を掲げる本学会の役割は薬物の安全かつ適正な使用のために、研究し評価し情報を与えることが中心である。それを反映したところに創薬の発展もある。今回のシンポジウムにおいては、遅発性副作用を如何に防ぎ薬物を有効に使用できるかの結論を得ることが直接的な重要課題である。第3部のパネルディスカッションにおいて、どのような答えが得られるか、十分な討議が行われることを望んでいる。

柳田 知 司

(株)前臨床医学研究所

ヒトにおける薬物の効果（効果は effect の意味で有害効果を含む）を動物の成績からどう予測するかという問題は古くて新しい問題である。この予測には、動物とヒトとの相違を考慮することが基本であるが、この相違としては、1) 薬物動態の相違、2) 薬物の作用に対する感受性の相違、3) 臓器の機能的および形態的相違、4) 体格の相違、などの種差および 5) 投薬条件の相違、6) 生活環境の相違、7) 病態の相違、などが挙げられている。これらの相違は常に一定ではなく個々の薬物によって異なり、ときには同系の化合物でも全く異なる場合があり、予測を困難にしている。

副作用（有害効果の意味）となると、この予測はさらに困難となる。その理由は、副作用には必ず起るとは限らないものが多いからである。例えば 1,000人に1人の割合で起る副作用は、動物でも同じ確立で起るとすれば 1,000匹の動物を使ってわずか 1匹にしかみられない所見となり、これが 100匹の動物で観察できるチャンスは 10回実験して 1回しかないという計算になる。こうなると多分その所見は偶発的な変化とみなされてしまうであろう（もっとも実際には、動物では実験条件をヒトの場合より苛酷に設定でき、また、感受性の高い動物種を選択できるのでもし起るとすれば確立はこれよりずっと大きくなると考えられる）。とくに遅発性副作用（通常より遅れて発現する副作用）となるとその発現機序は一層複雑で、動物で観察できる可能性はますます低くなる。

このような認識のもとに、ヒトにみられる遅発性副作用がどこまで動物試験から予測できるかをヒトでの事例と動物での試験成績との関連性から考えてみたい。

まず、ヒトでの遅発性副作用は動物ではどのような試験でどのような変化として捉えられるかについて考えてみる。遅発性副作用の多くは、もし動物で捉えることができるのであれば、いわゆる毒性試験と呼ばれる試験によって捉えることができるが、かならずしも毒性試験のみで捉え得るとは限らず一般薬理試験、薬効薬理試験、薬物動態試験、または、その他の特殊な試験によってのみ捉え得ると思われる副作用も少なくない。例えば、いくつかの中樞作用薬で知られている痴呆や幻覚などはその一つということができよう。また、キノフォルムのように薬物動態試験と毒性試験の組合せからヒトでの遅発性副作用が確認できたケースもある。

この反対に、動物試験では遅発性毒性の一つと考えられる変化がみら

れても、ヒトには該当しない false positive の場合もしばしばあり、動物のみにみられる種特異的变化か否かの判断を要することがヒトでの予測を大変難しくしている。例えば、イヌの毒性試験では特定の種特異的病変が起ることが知られているが、薬物によっては反復投与期間中にイヌでのみ奇妙な行動あるいはアルカリフォスファターゼの上昇がみられることがしばしばある。しかし、これらの薬物についてヒトではこれに関連するような副作用の発現は知られていない。また、サルはアフロクアロンやチザニジンなどの筋弛緩薬を好んで自己投与するが、これらの薬物についてヒトでの依存事例は報告されていない。

動物試験成績からヒトでの遅発性副作用を予測する場合に、動物でみられた所見と同一の変化がヒトでもみられる可能性のほかに、動物でみられた所見の発現機序からヒトでは異質な副作用として発現する可能性も考慮する必要がある。一般に薬物の副作用は、薬効を発現する主作用が強くなるために起る場合と、主作用以外の作用（本来の意味の副作用）に基づく場合がある。例えば降圧薬の起立性貧血や全身麻酔薬による呼吸麻痺などは前者で、多くの副作用は後者である。また、一つの薬物では起らないが二つ以上の薬物の組合せで起る相互作用によるものがある。さらに、そのいずれでもなく、薬物の物理化学的性状に基づく副作用もある。しかし、遅発性副作用の場合には、サイトカインなどの例を除けば、主作用の延長によることは稀であり大部分は主作用以外の作用に基づくものが多い。中でも最も頻度が高いのは薬物の抗原性に基づく薬物アレルギーによる副作用であろう。

遅発性副作用と知られている病変の主なものは、中枢神経系ではうつ状態、痴呆、幻覚などの精神障害、および運動失調や痙攣などの運動障害である。精神障害は動物試験からの予測は、特殊な試験で捉えられる場合もあるが一般に困難なものが多い。アレルギーに基づく副作用には血液障害、肝炎、自己免疫性疾患などさまざまな障害があるが、このような病変を直接動物試験で捉えるのは困難な場合が多い。動物で比較的再現が容易な副作用は腎障害や骨障害（ただしカルシウム代謝障害として）であろう。われわれの経験でも、ケトプロフェンなどのNSAIDやゲンタマイシンなどのアミノ配糖体抗生物質の腎毒性は、ラット、イヌ、サルの間にあまり種差なく認められ、また、ゲンタマイシンでは用量的にも病変の種類からみてもヒトの場合に比較的近い毒性の発現が認められた。アミノ配糖体抗生物質では聴覚器毒性もよく知られているが、これも動物での検出が比較的容易であった。

インターフェロンなどのサイトカインでは各種の遅発性副作用が発現することが知られているが、動物試験ではいろいろな変化がみられるため、どこからの変化が遅発性副作用に関連するかを見定めることが非常に難しい。今後このようなケースについて両者の関連性を明らかにして行くことが、動物試験からの予測性の向上にとって重要と考えられる。

飯野四郎

聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター

はじめに

遅発性毒性ということは長期に薬物が使用されるということが前提であり、ウイルス肝炎として対象となるのはB型およびC型慢性肝炎ということになる（一部の肝硬変も含まれる）。

そこで対象となる薬物として、B型およびC型慢性肝炎に使用されるものに、インターフェロン（IFN）、グリチルリチン製剤、B型慢性肝炎のみに使用されたものとして、アデニン・アラビノシド（Ara-A）、ラミブジン（Lamivudine）、FIAUなどがある。

ここではこれら薬物の副作用について紹介したい。

1 IFN

IFNには投与された人のほとんどすべてにみられる一般的な副作用と、頻度は低いものの重要な副作用（特殊な副作用）がある。これらについて概略を述べる。

（1）一般的な副作用

表1 インターフェロン投与に伴う副作用

通常の副作用	インフルエンザ様症状 発熱・悪寒・(戦慄)・頭痛・筋肉痛・関節痛・全身倦怠感・食欲低下・ 悪心・嘔心・下痢・体重減少 脱毛（主として IFN- α ） 蛋白尿（主として IFN- β ） 白血球（好中球）減少・血小板減少			
	免疫異常	中枢神経系	循環器系	IFN 抗体の出現
重要な副作用	間質性肺炎	躁うつ病	心筋症	(組換え型 IFN- α)
	甲状腺異常(亢進・低下)	精神分裂病	不整脈	
	自己免疫性肝炎	痴呆	ショック	
	溶血性貧血	脳炎様症状	腎不全	
	SLE	意識消失発作	心筋梗塞	
	慢性関節リウマチ	多発性神経炎	脳梗塞	
	血管炎	視力障害		
	乾癬	聴力障害		
	糖尿病	知覚異常		
		眼底出血		

表1に示したような一般的な副作用がみられる。

インフルエンザ様症状は初期にみられるもので投与を続けると軽減し、遅発性毒性には相当しないものである。

脱毛はIFN- α 投与時に投与開始から1～2カ月を経て、数カ月間持続するがほぼ完全に回復する。

蛋白尿はIFN- β でみられることが多く、投与量が多くなったり、投与期間が長くなると、その頻度、その程度は増強されるが、IFNの投与を中止すると速やかに消失する。

白血球数および血小板数の減少は通常は投与中のみにみられ、特殊な例を除いて問題とはならない（自己抗体出現例）。

（２）特殊な副作用

1992年に厚生省難治性の肝炎調査研究班で行った調査結果を表2に示した。

これら副作用を整理すると、〔1〕中枢および末梢神経系に対するもの、〔2〕免疫系に対するもの、〔3〕血管に対するもの、になる。

表2 厚生省難治性の肝炎調査研究班によるインターフェロン副作用調査

副作用	発症例数 (%)
精神症状（躁うつ病、分裂病、痴呆など）	113 (1.28)
神経症状（意識消失、知覚異常、顔面麻痺など）	18 (0.20*)
間質性肺炎	16 (0.18*)
甲状腺機能異常（機能亢進、低下など）	75 (0.85)
自己免疫疾患（慢性関節リウマチ、自己免疫性肝炎など）	22 (0.25)
糖尿病あるいはその悪化	23 (0.26*)
心血管系疾患（ショック、不整脈など）	11 (0.12)
腎障害（ネフローゼ症候群、急性腎不全など）	6 (0.07)
眼疾患（眼底出血、眼痛など）	30 (0.34*)
感染症（肺炎、ヘルペス、膀胱炎など）	7 (0.08)
皮膚症状（発疹など）	13 (0.15)
その他	2 (0.02)
調査症例	8810

*：実際の発現頻度はこの数値より高い。

〔1〕として最も重要で頻度が高いのはうつ症状である。素因がある場合に問題となると思われる。その他、躁状態、分裂様症状、錯乱、痙攣、意識障害、末梢神経障害など多彩なものがある。副作用発現早期にIFNを中止すれば改善、回復する。

〔2〕については、生命に関係するものとして間質性肺炎、頻度が比較的高いものとして甲状腺機能異常がある。稀ではあるが自己免疫疾患とされているほとんどすべてのものがみられる。IFNの投与中止で改善、治癒する。

〔3〕については、眼底変化、冠血管障害、腎障害などがあると思われる。

2 グリチルリチン製剤

副作用として偽アルドステロン症がある。血圧の上昇と低K血症である。静注治療中に、同剤の経口投与、さらに小柴胡湯など甘草を含む漢方薬などを重複して使用した場合に、低K血症に関連した筋融解がみられることがある。

3 Ara-A

Ara-Aはadenosineの立体異性体である。adenosineと拮抗することによってB型肝炎

炎ウイルス（HBV）のDNAポリメラーゼの作用を阻害してHBVの増殖を強く抑制する。

表3にその副作用を示した。

表3 Ara-A投与109例でみた副作用

副作用の種類	程 度		計
	軽 度	中程度	
消化器系症状(食欲不振, 吐気, 嘔吐, 下痢)	19(15)	7(6)	26(21)
倦 怠 感	10(8)	0(0)	10(8)
末梢神経系症状(神経痛様疼痛, 筋肉痛, 下肢のしびれ)	7(6)	2(2)	9(7)
痒痒症, 皮疹	4(3)	2(2)	6(5)
頭 痛	4(3)	0(0)	4(3)
め ま い	3(2)	0(0)	3(2)
体 重 減 少	2(2)	0(0)	2(2)
注射部位痛	0(0)	1(1)	1(1)
血小板減少による出血傾向	0(0)	1(1)	1(1)
脱 毛	0(0)	1(1)	1(1)
鼻 血	1(1)	0(0)	1(1)

MJD-1721 投与期間中の副作用発症例数 38 症例
(30.9%) () 内%

有効な薬物である。長期投与を続けた場合に、体質が関係すると考えられるが、スモンに類似した末梢神経障害が時に認められ、長期間障害が持続することがあることから、未だ薬物として使用することが許可されていない。

副作用には人種差があり、欧米人では起こりやすく日本人では起こりにくい。

将来、B型肝炎例で肝移植を考えるようになれば、移植前にウイルスを極力減少させるためには欠くことのできない薬物である。

4 Lamivudine

現在開発中の薬物であり、十分には検討されていない。Ara-Aと類似の効果がみられる。副作用としては頭痛、眠気など軽微である。

5 FIAU

3、4と同様に核酸誘導体である。米国で投与開始から70日を過ぎた時点で7例に肝不全が突然発症し、全例が死亡あるいは肝移植を必要とした。ミトコンドリアのDNAポリメラーゼを障害したとされており、また、体細胞DNA中に取り込まれていたと言われている。

これら薬物の副作用について症例を示して具体的に紹介したい。

環境化学物質とアレルギー性結膜炎

北里大学医学部眼科

宮田幹夫

1. はじめに

有機リン殺虫剤の慢性毒性の臨床例から始まり、実験的に視神経の変性、網膜の変性、近視の発生などの証明を重ねてきた。そしてその実験経過でどこまで微量の有機リン殺虫剤が生体に影響を与え得るかというのが大きな一つのテーマとなってきた。光刺激により引き起こされる網膜の活動電位（網膜電気図）への有機リン殺虫剤の最小有効量がラットでは $5\mu\text{g}/\text{kg}$ の一回投与で十分であることを知ったときにはあまりにも微量で影響が生じるのに大いに驚いたものであった。

ところで最近のアレルギー性疾患の増加は異常としか言いようがなく、厚生省の報告では34%を越えようとしている。アレルギー性結膜炎の一種である春期のスギ花粉症患者の多発も異常な状態である。すでにベーチェット病の発作が農作業により繰り返す誘発されることは報告されており、また農作業でアレルギーが悪化する患者の症例に遭遇するにおよび、環境化学物質とアレルギーとの関わりを明らかにする必要が生じてきた。そのためにモルモットの実験的スギ花粉症におよぼす数種類の生活環境化学物質の影響を検討し、健康な環境維持のための日常生活内の化学物質の安全量の水準が従来からの概念からと相当の違いがある点についての問題を提起させて頂きたい。

2. 実験方法

投与化学物質には有機リン殺虫剤の trichlorfon、fenitrothion、有機塩素系化合物の paraquat dichloride、p-dichlorobenzene、trihalo-methane を用いた。ハートレイ系雄モルモットに前もって調整した抗スギ花粉血清 1ml を静脈注射し、スギ花粉に対する受動免疫を与えた。有機リン殺虫剤、paraquat では受動免疫 8 日目に 1 回投与、trihalomethane では受動免疫 8 日目から飲料水から自由摂取、p-dichlorobenzene では 9 日目から曝露した。各化合物とも 10 倍希釈の濃度で投与した。受動免疫後 10 日目に 1% Evansblue 生理的食塩水溶液 1ml を静脈注射した。静脈注射後直ちに蛋白質量で $0.7\mu\text{g}/\text{ml}$ 含むスギ花粉生理的食塩水ホモジネイトを 0.05ml づつ両眼に点眼した。30 分後ネンブタール ($50\text{mg}/\text{kg}$) 投与の深麻酔下で心臓よ

り放血、致死せしめ、その後球結膜と瞼結膜を剖出した。剖出結膜は1眼づつ 0.5% 硫酸ナトリウム水溶液とアセトン混合液 (3:7) 1ml で48時間浸漬して Evans blue を抽出した。抽出色素量は波長 620nm で吸光度を測定し、その吸光度をそのアレルギー性結膜炎の強度とした (図1)。

なお対照として、スギ花粉点眼は行ったが、化学物質の投与をしなかったもの、および上記の各濃度の化学物質は投与したがスギ花粉の点眼をしなかったものを対照とした。

残留効果についても同様な方法で検討した。各化合物とも実験で得られた結果の最も増悪反応の強かった量で行った。すなわち trichlorfon では 3×10^{-3} mg/kg、paraquat dichloride では 1×10^{-4} mg/kg、p-dichlorobenzene では 32ppb、trihalomethane では 1ppm の投与を1回行い、そのアレルギー性結膜炎の増悪作用の残留効果をみた。

3. 実験結果

アレルギー性結膜炎の増悪作用は trichlorfon では 3×10^{-5} mg/kg という極めて微量一回投与から認められ、 3×10^{-3} mg/kg で最も強く、それ以上の濃度の投与ではむしろやや低くなる釣り鐘型を示した (図2)。なお trichlorfon のみでは結膜血管の漏出増強作用は示さなかった。いわゆる低毒性有機リンと称される fenitrothion の投与でも結果はほぼ同様であった。

paraquat dichloride の投与では、 1×10^{-4} mg/kg の投与量で有意に強くなり、 1×10^{-4} mg/kg の濃度で最も強く、やはり釣り鐘型を示した。

空気中の p-dichlorobenzene では 3.2ppb の濃度で増悪が認められ、高濃度ではむしろ増悪作用が弱まるという同様の傾向が認められた。

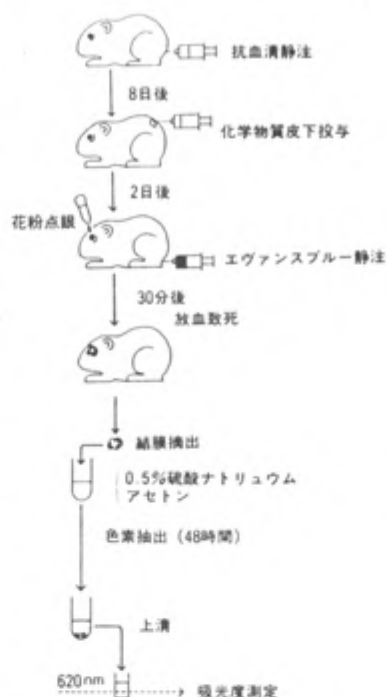


図1：実験的スギ花粉症への化学物質の影響
実験模式図

飲料水中の trihalomethane では 0.1ppm から増悪作用が認められ、1,000ppmと高濃度になると増悪作用はまったく認められなくなっていた。

trichlorfon 3×10^{-3} mg/kgの一回投与（図3）、paraquat dichlorid 1×10^{-4} mg/kg の一回投与後の残留効果の実験では、時間と共にその増悪作用は減弱したものの、2週間でもなお対照に比べ有意に高い値を示した。空气中 32ppb の濃度の p-dichlorobenzene 曝露、および 飲料水中 trihalomethane 濃度 1ppm では投与後8日目までは有意の増悪作用を認めたが、2週間後では対照と差を認めなかった。

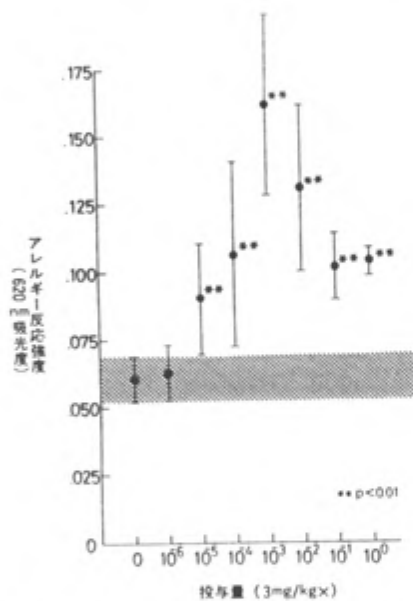


図2：Trichlorfon の投与量と実験的花粉症の強度。斜線の範囲はtrichlorfonを負荷していない対照値の範囲。

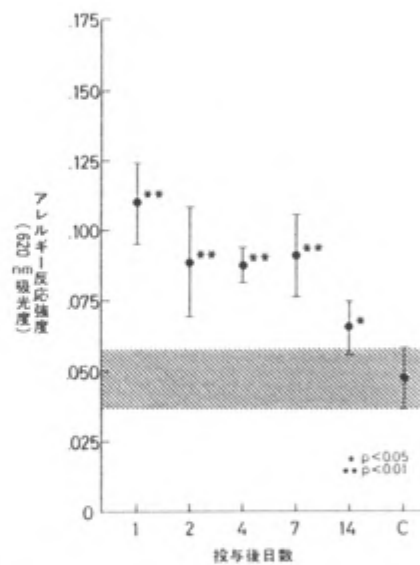


図3：Trichlorfon 3×10^{-3} mg 一回投与の実験的花粉症への残留効果。Cはtrichlorfonを負荷していない対照。

4. おわりに

環境化学物質とスギ花粉症では、自動車の通行量が多い地域でスギ花粉症の発症率が高いこと、そしてその効果はディーゼル車の排気微粒子によるアジュバント作用によっていることが報告されている。スギ花粉症は典型的な I 型アレルギー反応である。このアレルギー反応には肥満細胞に依るところが大きい、この細胞は acetylcholine r

ceptor を持っている。従って低濃度の有機リン系殺虫剤がこの receptor に作用した cholinergic な状態では、肥満細胞は活性化された状態になっておりヒスタミンなどの化学伝達物質を放出しやすくなっていると考えられた。また、肥満細胞表面の IgE からの信号の伝達に serine esterase に属する複数の酵素が介在している。これらの酵素は高濃度の diiso-propylphosphofluoridate (DFP) や他の有機リン系殺虫剤で阻害され、また phospholipase も阻害されることが知られている。このためヒスタミンなどの伝達物質の放出が、大量の有機リン系殺虫剤の投与群で却って反応が弱くなったと考えられた。しかしこれまでにその他の化合物でも同様な結果が、すなわち大量投与でむしろ増悪作用がすべて弱められるという結果が得られている。むしろ単純に、従来からの中毒量で生体の正常な反応性が保てなくなったときにはむしろ正常なアレルギー反応が起こりにくくなっていると考ええるべきではなかろうか。

いずれにしろ、実験的アレルギー性結膜炎を増悪させる上記化合物とその濃度はわれわれが常時曝されている濃度である。またタバコの煙、およびある種の人工食品色素による実験的スギ花粉症に対する増悪作用では累積効果が認められている。慢性毒性の基礎として、極微量の化学物質がすでに生体に影響力を持っているのは明らかである。今回は実験的スギ花粉症を対象にした系を中心に述べた。しかし、アレルギーのみでなく、臨床的には最近が高断熱・高気密住宅の開発に伴い、新居に入居した結果から室内大気汚染による化学物質過敏症と考えられる自律神経失調を示す患者が多発してきている。免疫系と自律神経系は連動しているが、生体は予想以上に極微量の環境化学物質に鋭敏に反応し、かつ心身の恒常性維持のために苦勞をしているようである。

放射線による遅発性障害

丹羽太貫

広島大学原医研・分子病理

1. 放射線による遅発性障害としての発がん

放射線による遅発性障害のなかで、最も重要なものは発がんである。照射された動物の生涯飼育における死因の解析から、放射線による寿命短縮の原因は、発がん作用にあることが示されている。放射線発がんの機構は未だに明らかではないが、個体レベルあるいは細胞レベルにおいて放射線で誘発されるがん、あるいは細胞がん化の特徴から、これが単純な突然変異誘発作用によるものではない可能性が明らかになりつつある。

2. 放射線発がんの潜伏期

放射線発がんの第1の特徴は、その潜伏期にある。動物実験における化学発がんやウイルス発がんでは、投与後一定の潜伏期でがんを発症する。これに対して放射線発がんでは、照射後一定の潜伏期で発症するのは白血病のみで、固型腫瘍はその動物個体がいわゆる癌年齢になってから発症する。広島・長崎の被爆者でも同様で、被爆による固型腫瘍の発症には潜伏期の短縮は認められていない。

Armitage と Doll により提唱されたがん化の多段階説は、分子レベルでも証明されている。ある発がん物質が、DNA 損傷による突然変異を特定のがん遺伝子やがん抑制遺伝子に誘発して、がんを発症させるのなら、すなわち 1 hit を与えることによりがん化に寄与するのなら、これらの物質により発がんの潜伏期の短縮が期待できる。放射線による固型腫瘍の誘発では潜伏期の短縮は見られないので、放射線の作用は単に 1 hit を与えるものではない可能性がある。

3. 放射線で誘発されるがんの種類の特徴

放射線でマウスに誘発される固型腫瘍は、特定の種類のものではなく、その系統の自然発がんで見られる種類が、より高い頻度で発症する傾向にある。すなわち、放射線は自然発がんの傾向を促進させる作用をもつ。ヒトにおいても同様の傾向が見られ、被爆者に見られるがんの相対リスクのがんの種類による変動は、絶対リスクの変動幅よりも小さい。

4. 放射線発がんにおけるイニシエーションの頻度

放射線の発がん作用で興味深いのは、実験のデザインに大きく依存するものの、照射を受けた細胞でのイニシエーションの頻度が非

常に高い点にある。1 Gy 程度の線量を照射した乳腺上皮細胞を、宿主の脂肪組織に移植して生じるがんを調べた実験や、培養線維芽細胞株での照射によるトランスフォーメーションの実験から、がん化の細胞当たりのイニシエーションは $10^{-1} \sim 10^{-2}$ の高い頻度である。また、野村大成などにより示された経世代発がんでは、照射により生殖細胞に生じた何らかの遺伝的変化が次世代のがんの原因であると考えられるが、親マウスに 1 Gy 程度の線量を与える程度で、子マウスでは 10^{-1} に及ぶ発がん頻度の上昇を見る。これらの高い頻度は、通常の突然変異で説明し得ないものである。

5. 放射線で誘発されるミニサテライト配列の生殖細胞突然変異

我々は、野村により示された経世代発がんの頻度の高さに注目し、このような高い頻度の生殖細胞突然変異を示す遺伝子として、マウスのミニサテライト配列に注目し、放射線の影響を解析した。マウスのミニサテライト配列のなかで、新潟大学の木南博士によりクローニングされた Pc-1 遺伝子座は、自然生殖細胞突然変異率が大変高いことで知られている。この遺伝子座は GGGCA 反復配列よりなり、もともとマウス系統間および個体間での差が大きい。

実験は、C3H/HeN 雄マウスを照射して、その後さまざまな期間において C57BL/6N 雌マウスと交配して F1 マウスを得た。この場合、照射直後の交配では放射線の精子に対する影響を、照射後 2~3 週間の交配では精細胞に対する影響を、照射後 10~11 週の交配では精原細胞に対する影響を見ることになる。生まれた子マウスの尾より DNA を抽出して、HaeIII で消化した後 Southern 法で解析した。突然変異個体の判定は、一腹の子マウスについて両親との比較で行った。子マウスで見られた突然変異のほとんどは、反復数の変化による allele の長さが異なるタイプのものであった。

Pc-1 遺伝子座の生殖細胞突然変異誘発に関する線量効果関係を、図に示す。Pc-1 遺伝子座における生殖細胞突然変異は、非照射群においてもたいへん高く、雄雌由来の allele の双方でいずれも 10% 前後の頻度であった。雄親の精細胞期の照射が最も効果的であり、雄由来 allele の突然変異率は、1 Gy で 22%、2 Gy で 28% と上昇し、3 Gy ではプラトーとなった。精子期と精原細胞期の照射は、これに比べて効果が少なかった。しかしながら、精子期照射では、統計的に有意ではないものの、子マウスの雌由来 allele の突然変異率も上昇する傾向が見られた。

今回得られた生殖細胞突然変異率上昇は、精細胞期に対する 1 Gy の照射で 10% にも及ぶ。一方、1 Gy の線量で期待しうる DNA 損傷は、3,000 kb に 1 個である。Pc-1 遺伝子座の大きさは 3 kb であるので、期待される突然変異率は 10^{-3} となる。これより明ら

かであるが、今回観察された Pc-1 遺伝子座の突然変異は、放射線 DNA 損傷が直接誘導したものとは考えられない。すなわち、放射線は細胞に遺伝的不安定性を誘導し、これにより 2 次的に突然変異が誘導されたものと考えざるを得ない。

6. がん化にともなうミニサテライト配列の不安定性

Pc-1 遺伝子座の突然変異率は、マウスの体細胞では大変低い。しかしながら、この配列はがん化に伴って非常に不安定になることが明らかになった。とりわけ c-myc 遺伝子の増幅をもつ肉腫では、この配列の不安定性が高い上、そのような肉腫ではしばしば K-ras 遺伝子の点突然変異が認められる。これらは、がん細胞では遺伝子の安定性を保つ機構が破綻しており、その結果 Pc-1、c-myc、K-ras などの遺伝子にさまざまな変異が生じたものと考えられる。

7. 放射線発がん機構に関する考察

今回得られたミニサテライト遺伝子座における放射線誘発生殖細胞突然変異の頻度は、野村が報告した経世代発がんの頻度と同じレベルである。同様に、前記 4 項で述べた放射線発がんにおける高い頻度のイニシエーションは、放射線の直接の作用によるものではあり得ない。すなわち、放射線発がんのイニシエーションの頻度の高さは、放射線が細胞に遺伝的不安定性を誘導して、その結果頻度が上昇した自然突然変異が原因となって、がんが生じることを示唆している。この仮定に立てば、放射線が自然に起こるがんの頻度を均等に上昇させる、という現象も説明できる。また、潜伏期が癌年齢に一致していることの説明も可能である。

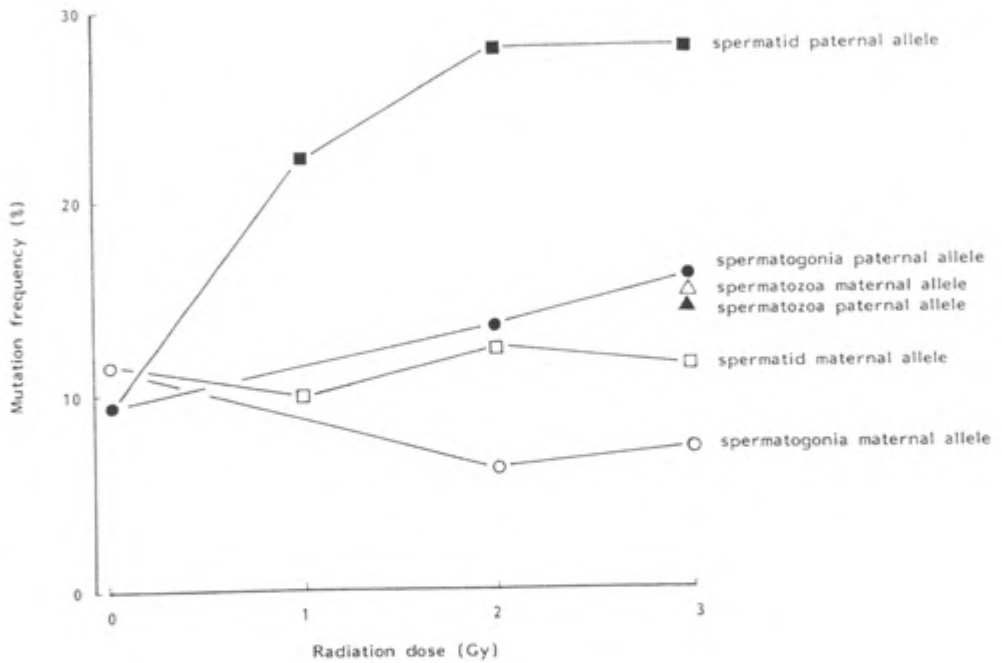
放射線に限らず、がん原物質による発がんでは、DNA 損傷が特定の遺伝子に特定の突然変異を誘発することがその原因である、との考えがこれまで一般的であった。しかしながら、細胞や個体は放射線に対して受動的な存在ではなく、照射の刺激により能動的にさまざまな反応をするという放射線応答現象が明らかになりつつある。今回の我々の研究の意味は、放射線が遺伝的不安定性の誘導を通じて、間接的に突然変異を誘発する可能性を示した点にある。そして、今後はこのような能動的過程を考慮に入れたがん化の機構についての解明がなされなくてはならないものと思われる。

発表論文

1. S. Sadamoto, S. Suzuki, K. Kamiya, R. Kominami, K. Dohi and O. Niwa, Radiation induction of germline mutation at a hypervariable minisatellite locus. *Int. J. Rad. Biol.* 65, 549-557, 1994.

2. Y-J. Fan, Z-W. Wang, S. Sadamoto, Y. Ninomiya, N. Kotomura, K. Kamiya, K. Dohi, R. Kominami and O. Niwa, Dose response of radiation induction of germline mutation at a hypervariable mouse minisatellite locus. *Int. J. Rad. Biol.*, in press.

図1 Pc-1 遺伝子座における放射線誘発生殖細胞突然変異の線量効関係



第2部

教 育 講 演

黒川雄二

国立衛生試験所 安全性生物試験研究センター

OECD(Organization for Economic Cooperation and Development)では、化学物質のヒトへの有害性を評価するための化学品プログラムを1977年の理事会勧告で採択した。OECD加盟国の政府、産業界、学会からの専門家によるグループが、物理化学的性状、環境中での分解性・蓄積性、短期毒性、長期毒性、遺伝毒性、生態毒性の6分野について設けられてガイドラインの作成を開始した。これらのガイドライン(OECD Guideline for Testing of Chemicals)は、化学物質の安全性を評価するために必要な試験データの精度を高め、国際的な受け入れが可能となる共通の基盤を提供することを目的としている。1981年に最初の51のガイドラインが確定し、その後新規の追加及び改訂が行われて、1992年には総計80のガイドラインが設定されている。これらの追加・改訂作業のためには各ガイドラインに関して専門家からなるNational Co-ordinators Meeting(以前は、Updating Panel)が開かれており、その間には加盟各国に対してコメントが求められている。

動物を用いる試験ガイドラインとしては以下の23が作成されているが、その内407, 418, 419, 421, 422の5つについて改訂作業が進行中である。その他新規として、急性毒性、経皮吸収、神経毒性ガイドラインが検討されている。

Short Term Toxicology

- 401 Acute Oral Toxicity
- 402 Acute Dermal Toxicity
- 403 Acute Inhalation Toxicity
- 404 Acute Dermal Irritation/Corrosion
- 405 Acute Eye Irritation/Corrosion
- 406 Skin Sensitisation
- 407 Repeated Dose Oral Toxicity-Rodent:28-day or 14-day Study
- 408 Subchronic Oral Toxicity-Rodent:90-day Study
- 409 Subchronic Oral Toxicity-Non-rodent:90-day Study
- 410 Repeated Dose Dermal Toxicity:21/28-day Study
- 411 Subchronic Dermal Toxicity:90-day Study
- 412 Repeated Dose Inhalation Toxicity:28-day or 14-day Study
- 413 Subchronic Inhalation Toxicity:90-day Study

- 414 Teratogenicity
- 415 One-Generation Reproduction Toxicity Study
- 416 Two-Generation Reproduction Toxicity Study
- 417 Toxicokinetics
- 418 Acute Delayed Neurotoxicity of Organophosphorus Substances
- 419 Subchronic Delayed Neurotoxicity of Organophosphorus Substances:90-day Study
- 420 Acute Oral Toxicity-Fixed Dose Method
- Long Term Toxicology
- 451 Carcinogenicity Studies
- 452 Chronic Toxicity Studies
- 453 Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity Studies

一方、遺伝毒性に関する試験ガイドラインは15が確立しているが、その内7つは改訂中であり、新規が2つある。

ICH(International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 医薬品承認ハモナイゼーション国際会議)は、医薬品開発の促進を目的として、3極(欧州、米国、日本)からなる1991年の第1回国際会議(ICH1)から開始された。具体的には、3極の規制当局(EU, FDA, MH W)及び製薬企業(EPPIA, PhRMA, JPMA)の6-Packで構成される専門家会議(EWG)が、品質(Quality)、安全性(Safety)、有効性(Efficacy)及び境界領域(Multidisciplinary)の4部門について設けられている。ICH1以後、ICH2(1993)を経てICH3(1995)で終了予定であるが、その間にEWGが計8回開かれて活発な討議がなされている。

各種ガイドラインの検討は、先ず予備段階で専門家によるTopicの提案があり、そのガイドラインの目的、意義、方法などを盛り込んだConcept paperを作成し、Steering Committee(SC)での承認を得た後に正式に検討作業が開始され、Step 1からStep 5に至って完了する。Step 1では、EWGが招集され最初のdraftが作成される。このdraftがEWGのsign offによって認められると、3極の規制当局に送られ各極内での協議手続きにかける。即ち、このStep 1 draftに対するコメントが製薬企業に対して求められる通常6ヶ月間がStep 2である。Step 3では、3極の規制当局で集められたコメントを他の規制当局と通常3ヶ月以内に交換し、draftを修正した後EWGの討議にかける。EWGで合意に達すると、Step 4として3極規制当局によりsign offがなされSCの承認を経てあらためて3極規制当局に勧告される。Step 5ではその勧告案を各国の行政措置のもとにガイドラインに取り込む作業がなされ、次いで公表される。

安全性の分野は、S1からS6に分類されており、具体的には以下の11のガイドライン作成作業が進められている。

S1 発がん性試験

S1A Conditions which require carcinogenicity studies for pharmaceuticals (どのような場合に実施するべきか)

S1B Species for carcinogenicity studies (げっし類2種を用いることについて)

S1C Dose selection for carcinogenicity studies of therapeutic agents (用量設定の方法)

S2 遺伝毒性試験

S2A Genotoxicity: Specific aspects of regulatory tests (特定項目の試験に関するガイダンス作成)

S2B Genotoxicity: Standard battery tests (最小限必要な試験の組み合わせの検討)

S3 トキシコキネティクス

S3A Toxicokinetics: A guidance for assessing systemic exposure in toxicology studies (反復投与組織分布試験ガイダンス作成)

S3B Pharmacokinetics: Guidance for repeated dose tissue distribution studies (反復投与薬物動態試験ガイダンス作成)

S4 単回及び反復投与毒性試験法; Single and repeat dose toxicity testing

S5 生殖発生毒性試験

S5A Detection of toxicity to reproduction for medicinal products (生殖発生毒性試験ガイドライン作成)

S5B Reproductive toxicity; Male fertility study (雄授精能評価法)

S6 バイオ医薬品の安全性評価; Safety studies on biotech products

その他に安全性に関わる分野として以下の4つのガイドラインがある。

M3 非臨床試験と臨床試験開始のタイミング; Timing of preclinical studies in relation to clinical trials

Q3A 原薬中不純物の安全性評価; Impurities in new drug substances

Q3B 製剤中不純物の安全性評価; Impurities in dosage forms:

Q3C 残留溶媒の安全性評価; Impurities: Residual solvents

以上、OECD及びICHのガイドラインの作成過程について概略しそれらを列記した。その中で演者が直接に関連してきたものについて、その作成過程に生じた諸々の毒性学的問題について言及する予定である。

第3部

パネルディスカッション

パネルディスカッション「動物試験からヒトの遅発性副作用を
どこまで予測できるか」の司会にあたって

柳田 知司
(株)前臨床医学研究所

藤井会長からの委嘱により表題のとおりのパネルディスカッションの司会を担当させていただく。その企画は、会長と協議の結果 5名のパネリストによる討論形式とし、五つの話題を一つずつ取り上げ、まず担当の先生に話題提供をお願いし、続いてその話題について会場の参加者を含む全員で討論し、これを五つの話題について逐次すすめ、最後に総合討論を行うという進行とした。薬物を医薬品に限定したのは、対象物質が広範すぎると問題の焦点がぼけるおそれがあることと、ヒトに投与されることを前提とした医薬品において遅発性副作用の予測は最も必要に迫られた問題と考えられることによる。遅発性副作用は臨床的立場からの用語であり、これを動物での毒性試験の立場からみれば遅発性毒性と呼ぶことができよう。そこで本セッションでは両語を同義語とみなして討論を進めたい。

このパネルディスカッションの前半では、現在どのような問題を抱えているか、という点に的を絞って討論を進める予定である。

最初の話題は、遅発性副作用を動物試験の結果から予測することの総論的話題として、この方面の問題についてわが国で最もご経験が豊富で造詣が深い山之内製薬創薬安全性研究所の松澤利明先生に、予測の問題点について話題を提供していただく。ここでは、癌原性の問題、ヒトで観察された副作用と前臨床試験成績との関連性の問題、現行の前臨床試験の方法論的問題点等が紹介される。つづいての討論によりこれらの話題について現在どのような問題が存在するかをさらに広く探りたい。

二つ目の話題は、遅発性副作用に関する医薬全般の臨床事例について阪南中央病院の浜六郎先生に話題を提供していただく。先生は薬物の副作用に関する問題にご造詣の深い臨床医で、薬物治療研究会や日本臨床薬理学会でのご活躍は夙に広く知られている。先生は医薬品の副作用問題について膨大な資料をお持ちであるが、今回はその中から、遅発性毒性と考えられる阪南中央病院での事例、厚生省副作用情報から抜粋した事例、および遅発性毒性が薬害問題となった事例を紹介され、さらにこれらの事例と動物試験成績との関連性について触れられる。討論ではこれらの事例が、果たして遅発性毒性によるかという点や、動物試験成績からの予測の可否について議論していただきたい。

三つ目の話題はサイトカイン類である。サイトカイン類は抗精神病薬と並んで遅発性副作用を有する医薬の典型的なものの一つと考えられるので、これについて立川共済病院の横山章光先生にインターフェロンに

よる遅発性副作用の臨床事例、その発現機序、および臨床的予測法についてお話いただく。討論では、果たして動物試験でこのような遅発性毒性の予測が可能か否か、および臨床的予測法を参考に動物試験に導入できる試験法の可能性などの点を検討したい。

四つ目の話題は、形態学的病変を伴う遅発性毒性について名古屋市立大学の今井田克己先生に話題を提供していただく。動物での毒性試験においては遅発性毒性を見いだすのに形態学的変化の検索は重要な手段とされているが、先生は国立衛生試験所におられた頃から長年医薬品の遅発性毒性に関する病理学的研究を手懸けてこられており、今回はキナクリンとクロフィブレードの腫瘍発生に関する遅発性毒性とその早期検出の問題をご紹介いただく。討論では、この早期検出法を発癌性の予測に導入することの実際の問題点、およびこのほかにも導入が考慮さるべき試験法の有無などについて話し合いたい。

最後の話題は、遅発性副作用検索のための各種動物試験法について前臨床医学研究所の安東潔先生にお話いただく。ここでは、現在、毒性試験とされている試験以外の動物試験による検索法を、ハロペリドールおよびメタンフェタミンの遅発性毒性検索の実験例を中心に紹介していただく。今日、向精神薬の作用や副作用の発現機序は、動物の学習行動や神経薬理学的方法を用いることによりかなり詳しく解明されつつある。また、抗不安薬の認知機能障害などの例にもみられるごとく、医薬品の中樞性の遅発性副作用の問題は今後ますます増大すると考えられる。よって討論では、その種の遅発性副作用の検出には毒性試験として現在行われている試験以外にどのような試験があり得るかを考えてみたい。

パネルディスカッションの後半では、ここまでの討論を踏まえて再びパネリストの先生方にお出まし願ひ、それでは遅発性副作用の予測性を向上させるためには今後の動物試験をどのように改善して行くべきかを論じていただく。その上で、それらについてフロアーからもいろいろなご意見やご提言を出していただき、最終的には、遅発性副作用の予測性向上のための方向づけに関する本パネルディスカッションの合意点をみつけたいと考えている。実のあるパネルディスカッションとなるよう、パネリストの先生方およびご参加者各位のご協力をよろしく願ひする次第である。

医薬品の遅発性副作用予測の問題点

松澤 利明

山之内製薬(株)創薬安全性研究所

1. 遅発性毒性の予測は可能か

今回のサテライトシンポジウムでは、薬物の副作用と毒性、特に遅発性毒性を中心にトピックが展開される。薬物の毒性や副作用の発現には、局所性と全身性(local and systemic effects)、可逆性と不可逆性(reversible and irreversible effects)、即発性と遅発性(immediate and delayed effects)等のいくつかのスペクトラムがある。単回投与で急性的に発現する毒性(一般薬理作用を含む)の検出は比較的簡便であるが、それでも種差の壁は厚く、かつ高く、ヒトでの副作用の発現を予測することは困難である。それが遅発性毒性ともなれば動物試験で検出することが困難であるばかりでなくヒトでの遅発性副作用を予測する事がさらに困難となる。既にシンポジウム第1部において諸先生方から、種々の薬物について副作用や毒性の特徴が紹介された。演者は遅発性副作用の予測の困難性について紹介する。

多数の人々に悪影響を及ぼし、日本で社会問題となった化合物には、カドミウム(cadmium)によるイタイイタイ病(kidney and bone disease)、メチル水銀(methylmercury)による水俣病(中枢毒性)、キノフォルム(clioquinol)によるスモン病(subacute myelo-optic neuropathy)、サリドマイド(thalidomide)による胎児奇形(phocomelia)、ポリ塩化ビフェニール(polychlorinated biphenyl)による皮膚病(skin disease, general weakness)等がよく知られている。発病してから原因が明らかになるまでかなりの歳月を要した(1)。このような事件は、疫学的発想によって毒性物質が特定された後、動物実験で解明された場合もある。

免疫毒性、肺毒性、骨髄毒性、中枢毒性および癌原性等は、遅発性毒性として捉えられる場面が多い。これらのいくつかの毒性は、第1部で紹介されたが、話題にならなかった遅発性毒性は、Proceedingに追記したい。

動物およびヒトで癌原性が明らかにされている化合物は約20種類と云われている(2)。医薬品では合成女性ホルモンあるいは類薬の投与でのみ報告されている。医薬品では動物実験で腫瘍発現頻度の増加があってもnon-genotoxicなものは、患者に対するリスクよりベネフィットが明らかに優位である場合に限り使用が許可され、数10種の医薬品は臨床適用されている(3)。

代謝物に強い毒性のある化合物にはacetaminophenのhepatic necrosis, cycasinのcancer and hepatic necrosisが, furosemideのhepatic, renal necrosis, 5-fluorouracilのintramyelinic edemaなど多数がある(1)。ヒトと動物で代謝物生成に違いがあり, 動物で毒性が発現されない場合はヒトにおける遅発性副作用を検出する事が困難である。

1987~1991年の5年間に厚生省が承認した新規有効成分の139医薬品について, 日本製薬工業協会基礎研究部会がアンケート調査を実施した。反復投与毒性の468試験とヒト臨床副作用の発現頻度を調べた(4)。その結果は表1に示すごとくである。動物でみられた毒性とヒト副作用の関連性を示す所見は少なかった。

また, 1987~1992年に厚生省が承認した新規有効成分のうち文献・情報入手が可能な104薬剤について一般薬理作用と臨床副作用の発現頻度の傾向を調べた(5)。表2に示すごとく一致率50%以上は中枢神経系, 循環器系, 消化器系に限られた。さらに副作用の表現型は同じでも作用機序が異なるため, この解明が望まれる(表3)。作用機序が違う副作用を区別するためには類似薬を集め, 作用機序を狭めた上で解析する事が有用な方法の1つと考えられる。

このように, 動物実験からヒトにおける遅発性副作用を予測する事は困難である。

2. 予測性を向上させるための毒性試験の在り方

- 1). 動物毒性学の究極の価値はヒトで起こる可能性のある副作用を予見し, 特徴づける事への合理的アプローチにそれが寄与する事にある。毒性学的特徴づけは薬物の薬理作用を注意深く, かつ厳正に評価した上で行わねばならない。この薬理学的プロフィールは治療上可能性のある臓器系に及ぼす作用のみでなく, その他の系への作用をも含まねばならない。すなわち, 発現部位と病態の特異性を明確にする事である。
- 2). 有害な薬理作用あるいは悪化作用の特徴づけは, ある一定の毒性学的局面における重要さを左右する事が有り得るので, 用量-作用関係, 作用の持続, 残存効果, および, 出来れば毒性の発現の作用機序を決定する事が望ましい。
- 3). 薬物の特徴づけをするために, 適切な吸収, 排泄および代謝試験, あるいは, 薬物代謝酵素の種差を検討する必要がある。発現部位における薬物動態は更に重要である。
- 4). 薬物の毒性試験に一般的に利用できる実験用哺乳動物はげっ歯類, ウサギ, 食肉類, 霊長類である。しかし, 系統発生的に, あるいは発生的にヒトに近いと云うことが, 毒性学的あるいは代謝の相似性を必ずしも保証しない。また, 若齢と老齢による毒性の感受性に差がある。

5). 新薬の毒性は化学構造的あるいは薬理学的類薬の毒性に必ずしも類似しないことを認識しなければならない。すべての薬物は新しく、そして別個のものとして研究されなければならない。

6). ヒトへの外挿に際しての留意すべき点は、代謝に定性的および定量的な種差が存在する事、薬理作用に対する感受性に種差がある事、治療効果を証明する事の出来る動物種で毒性研究を行うのが困難な場合がある事などがある。

7). 偽陽性(false positive)や偽陰性(false negative)を見極めるためには、いろいろな局面での適切な陰性対照の所見と異常所見の背景データベースの構築が必要である。

予測あるいは外挿が困難な要因を解析し、少しずつ排除することが肝要である。

3. 予測を向上するための現実的な対応

前提として、薬効薬理試験において用量反応性がある事、作用部位における親和性が高く、かつ特異性がある事、薬物動態が検討されている事、およびその再現性が確認されている試験物質であれば毒性試験のデザインが的確に立案できる。

既に、ICH（医薬品の開発・申請に関する手続きの日・欧・米3極の国際調和）で取り上げられた動物における反復投与毒性試験の長期投与期間は6カ月と12カ月で毒性所見の発現に差のないとされている。したがって、投与期間を長くすれば検出率が上がるわけでもない(6)。勿論、癌原性試験のように遅発性毒性（発癌性）の有無を検出する場合には、潜在性腫瘍の発現する18カ月間以上の投与が必要な場合もある。

一般薬理と急性毒性試験を機能毒性面から捉えて、表4に示す検査・観察項目の検出につとめる。反復投与毒性試験と副作用では、表5に示す偽陽性と偽陰性の検査・観察項目について毒性試験と医療技術の両面から特異性と信頼性を向上させる事にある。

引用文献

- 1). Ed by Lu, FC "Basic Toxicology" Taylor & Francis, PA, USA (1991)
- 2). Scales MDC et al. Averse Drug React Toxicol Rev (1992)
- 3). 49th PDR (1995)
- 4). 日本製薬工業協会 基礎研 資料 6 5 (1994)
- 5). 日本製薬工業協会 基礎研 資料 6 4 (1994)
- 6). ICH-1 資料 (1991)

表1 新薬の毒性所見と副作用の発現頻度（アンケート調査）

	毒性所見発現頻度			副作用発現頻度
	ラット	イヌ	サル	ヒト
一般症状				
神経系	40.2	52.9	34.4	11.5
循環器系	1.3	3.4	0	3.6
消化器系	13.4	27.0	12.5	15.8
皮膚・毛系	20.1	18.4	9.4	3.6
泌尿器系	2.5	1.7	0	2.2
その他	18.0	20.1	3.1	6.5
死亡	25.5	21.8	18.8	0
体重の異常	64.4	41.4	28.1	0.7
摂餌・摂水の異常	56.9	35.6	21.9	0
眼の異常	2.1	6.3	3.1	0
血圧の異常	1.3	3.4	0	0.7
心電図の異常	0.4	12.1	0	0.7
尿の異常	41.8	28.2	15.6	0.7
赤血球系の異常	38.9	29.3	25.0	7.2
白血球・網内系の異常	23.4	14.9	15.6	8.6
血小板・凝固系の異常	16.7	16.1	12.5	7.9
GOT, GPT, GGTP, ビリルビン	24.3	21.3	21.9	12.2
ALP, LDH, 脂質, 蛋白質	48.5	36.8	25.0	2.2
BUN, クレアチニン, 電解質	30.5	21.3	18.8	2.2
その他/血液・生化学	17.6	8.6	9.4	1.4
総試験数	246	179	39	

日本製薬工業協会 基礎研 資料6 5 (1994)

表2 一致率が50%以上の一般薬理作用と副作用

一般薬理作用	ヒト副作用
自発運動	頭痛／頭重感
痙攣作用	紅潮／熱感
腸管輸送能	食欲不振
胃内容排泄能	食欲不振
胃液分泌	悪心／嘔吐
膵液分泌	食欲不振
胃・十二指腸粘膜障害	浮腫
胃・十二指腸障害	胃痛／腹痛

日本製薬工業協会 基礎研 資料64(1994)

表3 副作用はその原因が単一とは限らない

中枢神経系を介した	食欲不振
消化管系の運動抑制を介した	食欲不振
消化管系の運動亢進	下痢／軟便
腸管内水分の吸収抑制	下痢／軟便
腸管内細菌叢の乱れ	下痢／軟便
中枢神経系を介した	めまい／ふらつき
血圧下降を介した	めまい／ふらつき

日本製薬工業協会 基礎研 資料64(1994)

表4 予測が比較的可能な一般薬理作用とヒト副作用

一般薬理作用	副作用
比較的予測可能	
血管拡張作用	頭痛／頭重感，紅潮／熱感
血圧下降	めまい／ふらつき，倦怠感／脱力感
中枢神経系	食欲不振
消化管運動の亢進・抑制	下痢／軟便・便秘
自発脳波	眠気
心拍数の増加	動悸／心悸亢進
発熱	アレルギー性の変化
尿・電解質排泄抑制	浮腫
予測困難	
中枢神経系を介する作用	頭痛／頭重感，倦怠感／脱力感， 紅潮／熱感

日本製薬工業協会 基礎研 資料6 4 (1994)

表5 毒性試験各項目の臨床副作用との関連性

検査項目	動物種	備考
血液学的検査		
白血球数	ラット，イヌ	偽陰性 偽陽性
血液化学検査		
GOT	イヌ	偽陰性
GPT	イヌ	偽陰性
ALP	ラット	偽陰性
LDH	ラット	偽陰性
UN	イヌ	偽陰性
クレアチニン	ラット	偽陰性
尿検査		
蛋白	イヌ	偽陽性

日本製薬工業協会 基礎研 資料6 5 (1994)

遅発性副作用の臨床事例と問題点（医薬全般について）

浜 六郎
阪南中央病院 内科

はじめに

薬物の「遅発性毒性」の中には、種々の概念のものが含まれる。時間的にはごく短時間でも、アナフィラキシー型ショックが薬剤投与1時間後に発症した場合には「遅発性」であるが、腎障害が1日後に発症しても急性腎障害である。したがって「遅発性」を単に絶対的な時間だけで判断することは困難である。一方、クロロキンによる網膜症の場合のように、1年間以上投与してはじめて発症してくるような毒性は、ふつう「慢性毒性」という用語が使用されているが、向精神薬の慢性毒性の一つ tardive dyskinesia は「遅発性」が用いられている。したがって、一般に「慢性毒性」と呼ばれる例についても、広い意味で「遅発性毒性」の中に含めて検討した方がよいと思われる。

今回の各発言者のテーマを見ると、インターフェロンなどサイトカイン、向精神薬あるいは放射能などによる遅発性障害の他に環境物質とアレルギー性結膜炎などもあがっている。インターフェロンなどサイトカインは、治療後相当期間経ても種々の影響を及ぼしてくるので、これは遅発性毒性の典型例であろう。向精神薬の場合は、使用後1~2週間以内に生じる錐体外路症状とは異なり、減量あるいは中止すると増強する dyskinesia が向精神薬を何年も使用後に生じる。この tardive dyskinesia は遅発性ジスキネジアと訳されているように遅発性毒性の典型例であろう。また、環境物質によってアレルギー反応が生じ易くなることから観察されているが、そのような環境物質に代わり得るような薬物であれば、遅発性毒性を有する可能性があるということになる。

筆者に与えられたテーマは、医薬品全般の遅発性副作用（毒性）ということなので、上記典型例以外の薬剤について「慢性毒性」も含めてできるだけ広く集めてみた。

1. 調査方法

まず、1) 当院で収集された副作用事例から、筆者の判断で比較的遅い反応と思える症例を抜き出し、その薬剤投与されてから発症までのおよその時間を記載した。ついて、2) 厚生省副作用情報で報告された副作用例から遅発性の副作用事例と考えられる例を抜き出し、3) 日本で遅発性毒性（慢性毒性）が問題となった薬害、4) 世界で遅発性毒性（慢性毒性）が問題となった事例について検討した。また、これが動物試験で予測可能であったかどうかについて検討を加えた。

2. 結果

1) 当院で収集された副作用事例から、比較的遅い反応と思える症例および、その薬剤が投与されてから発症までのおよその時間を表1に示した。

2) 厚生省副作用情報で報告された副作用例のうち、遅発性の副作用事例と考えられる例を表2に示した。

3) 日本で遅発性毒性（慢性毒性）が問題となった薬害について表3に示した。

4) 世界で遅発性毒性（慢性毒性）が問題となった事例について表4に示した。

3. 考察

1) 遅発性毒性の定義（分類）について

遅発性毒性と思える例は表1~4に示すように多岐にわたるために、これを一言で定義することは非常に困難である。そこで、遅発毒性と言えそうな反応について、その特徴別に表5に分類した。

2) 遅発毒性の動物試験による予測性について

遅発毒性の動物試験による予測性について表6にまとめて示した。用量依存性のある多くの慢性毒性については動物試験で再現性が高く、予測は可能である。ただし、動物試験に際しては、発現の条件の意味が重要になる場合も多い。アレルギー反応についての予測は、困難なことが多いと思われる。また、長期臨床試験や大規模疫学調査でしか証明されないような遅発性毒性は、動物試験での予測が困難なものも多いと思われるが、類似薬の毒性や慢性毒性試験で証明されたものや予測が比較的容易と思われるものもある。

このような観点から最近発売された疾患修飾性抗リウマチ薬について検討したところ、動物試験結果やその薬剤の性質から、問題の可能性のある薬剤があったので紹介する。

表1 当院の医薬品副作用モニタリングシステムで収集された遅発性副作用の事例(1)

		発症までの 時間、期間	動物 試験	臨床 試験	長期 試験	疫学 調査	臨床 観察
1)低浸透圧造影剤	I型アレルギー様過敏反応	1時間～3日		+			+
2)インターフェロン 網膜剥離		終了後数カ月					+
非活動性肝炎から活動性肝炎への進展		"			+		+
ジンマシン、皮膚炎の遷延		"					+
うつ病		開始後数カ月～					+
甲状腺機能亢進症		開始後数カ月			+		+
3)抗癌剤全身投与	放射線肺臓炎の顕在化	照射終了数カ月後	+				+
4)ジソピラミド	Torsades de Pointes	不整脈消失数日後	+		+		+
5)トリアゾラム	身体依存、精神障害	3ヵ月～1年			+		+
6)F U系抗癌剤	肝性脳症	6ヵ月					+
7)イソニアジド	肝炎	1ヵ月					+
リファンピシン	肝炎	1ヵ月					+
8)リファンピシン	血小板減少	6ヵ月					+
9)シンナリジン	パーキンソン症候群	1ヵ月					+
スルピリド	パーキンソン症候群	1～4ヵ月					+
メトクロプラミド	パーキンソン症候群	数日～2週					+
カゼリンスルピド	筋緊張異常(肩こり)	2ヵ月					+
セルカト、ドグマール、プリンペリン etc	乳汁分泌	数日～数ヵ月					+
10)ドンペリドン	うつ病	2.5ヵ月					+
レセルピン	うつ病	3週～7ヵ月					+
11)アルダクトンA	女性型乳房	数ヵ月					+
12)インスリンアナログ	低血糖持続後、痴呆+パーキンソン	数ヵ月					+
13)抗パーキンソン剤(種々)							
L-DOPA/Carbidopa	痴呆、精神錯乱、昏迷	数日～2年					+
Amantadine	精神錯乱、幻覚	数日～数ヵ月					+
trihexyphenidyl	幻覚、妄想、昏迷	20日					+
droxidopa	幻覚	5ヵ月					+
L-DOPA/Carbidopa	溶血性貧血	2ヵ月					+
14)ニフェジピン	歯肉腫脹	数年以上					+
フェニトイン	歯肉腫脹	数年以上					+
15)NSAIDs種々	胃潰瘍(出血性、穿孔性)	2週～2年			+		+
ポンタール	血小板減少性紫斑病、下血	2週間			+		+
バキソ(ピロキカム)	食道潰瘍	2週間					+

表1 当院の医薬品副作用モニタリングシステムで収集された遅発性副作用の事例(2)

		発症までの 時間, 期間	動 物 試 験	臨 床 試 験	長 期 試 験	疫 学 調 査	臨 床 観 察
16)NSAIDs	腎障害, 腎不全	数日~数年					+
17)ステロイド 剤+NSAIDs	下部消化管出血	2~3年	+				+
18)ステロイドの遅発性副作用(毒性)							+
	感染症不顕化: 肝膿瘍, 敗血症, 胆嚢炎	3ヵ月~1年	+				+
	副腎不全, 離脱症候群	20年間	+				+
	大腿骨頭壊死	数年間					+
	精神症状	1ヵ月					+
	筋力低下	1ヵ月	+				+
	血糖上昇	7~12日	+				+
19)ステロイド軟膏による遅発性副作用(毒性)							
	ステロイド 皮膚炎= 成人アトピー皮膚炎,	数年					+
	離脱症候群	数年	+				+
	(白内障)	15年)					+
20)トラニラスト	出血性膀胱炎+胆汁鬱滞性肝炎	1ヵ月	+				+
21)ヒスタミン H ₂ 拮抗薬	血液障害	2~40日		+		+	+
	シメチジン	肝炎	1ヵ月				+
22)ST合剤	汎血球減少症	10日	+				+
23)アストモリジンM	SJS	数日					+
	メチルメチル, コスミン	TEN or SJS					+
24)塩酸モルヒネ	幻覚	10日					+
25)ラニドピド(ジタリス)	7日	7日	+				+
26)ケフラール	汎血球減少症, 肝炎	6ヵ月					+
	血清病様反応	4日					+
	アフリキシ-ショック	13日					+
	うっ血性心不全	5~10日					+
27)テノーミン		2ヵ月					+
28)メルカゾール	脱毛	数ヵ月					+
28)チエナム	痙攣, 筋攣縮	7~12日	+				+
	幻覚	5日					+
	痴呆症状	数日					+
30)オンコピン	末梢神経障害	2ヵ月	+				+
31)サイクロセリン	脱力, ふらつき	1週	+				+
32)ACE阻害剤	腎機能障害	2ヵ月					+
33)フトラフル	DLE	40日					+
	狭心症発作の誘発	2週	+				+
34)フルイトラン	血糖上昇	2~6ヵ月	+				+
	ニフェジピン	血糖上昇	+				+
35)メフェナム酸	溶血性貧血	2~11ヵ月					+
	汎血球減少症(末梢性)	1年2ヵ月					+
36)プレオマイシン	肺線維症	1年2ヵ月	+				+
37)FOY	顆粒球減少, 血小板減少	2.5ヵ月					+
38)フロセミド	血栓性静脈炎	1ヵ月					+
39)ノアルテン	血栓性静脈炎	1週					+
40)クリノリル	急性膵炎	4ヵ月					+
41)エシドライ	心室性不整脈	3ヵ月					+
42)セレネース	胆汁うっ滞性肝炎	数年					+
43)エンドキササン	胆汁うっ滞性肝炎	6週					+
44)イントラリキ+イオミロン	DIC(消化管出血)	3ヵ月					+
45)ボナー+ラビド	溶血性貧血	11日					+
46)ネオフィリン+ビラマイソ	眩暈, 意識消失, 痙攣	1週					+
47)Ara-C大量療法	小児に痴呆症状	4日	+				+
		1ヵ月					+

表2 厚生省副作用情報に記載された遅発性副作用

薬剤	遅発性副作用
1) グルココルチコイド	突発性非感染性骨壊死
2) F77系, Ca拮抗薬, β ブロッカー	高血糖
3) 高カロリー輸液中	アシドーシス
4) ベンゾジアゼピン	依存
5) カルバマゼピン	聴覚障害
6) フェニトイン	骨代謝への影響
7) クロロキン	視覚障害
8) ペンタゾシン	依存
9) レボドパ	高浸透圧性非ケトン性糖尿病昏睡
10) 精神神経用剤	眼障害
11) 精神神経用剤	遅発性ジスキネジア
12) ホバンテン酸カルシウム	痙攣, 肝障害, 代謝性アシドーシス
13) メタゾラミド	T E N, S J S
14) フラジオマイシン	難聴
15) 抗不整脈薬	催不整脈作用
16) スピロノラクトン	原形質内封入体の出現
17) 塩酸ヒドララジン	肝障害
18) β 遮断薬	後腹膜後遺症
19) ニフェジピン	歯肉肥厚
20) コレステロール低下剤	横紋筋融解
21) アルプロスタルジル	骨膜肥厚
22) フルナリジン	錐体外路症状
23) シチコリン	眼症状, 肝障害
24) 男性ホルモン剤	肝腫瘍
25) ダンスロン (ソルベン)	発癌性
26) プロペラ	脳血栓
27) ジエチルスチルベストロール	心臓障害
28) L-トリプトファン	E M S
29) ヘスバンダー (ヒドロキシエチルデンプン)	蓄積性
30) トラネキサム酸	色覚異常
31) グリチルリチン酸	偽アルドステロン症
32) チオプロニン	肝障害
33) デスフェラル	眼障害
34) デスフェラル	ムコール菌症
35) ビグアナイド剤	乳酸アシドーシス
36) オステン (イリリボソ)	消化性潰瘍
37) 加群アール, フラアール	白質脳症
38) フトラフル	狭心症, 心臓毒性
39) プレオマイシン, ベレオマイシン	肺線維症
40) ピシバニール	遅発性ショック (数時間~数日後)
41) リドーラ	再生不良性貧血 (1年後)
42) シオゾール	間質性肺炎
43) トラニラスト	膀胱炎症状
44) 小柴胡湯	間質性肺炎
45) チエナム	痙攣, 意識障害
46) 抗生物質	偽膜性大腸炎
47) グリセオフルビン	S L E 症状
48) イソニアジド	ネフローゼ症候
49) チアンフェニコール	末梢神経障害
50) インターフェロン	自己免疫疾患種々, 眼底出血
	間質性肺炎, うつ病, 自殺企図
51) メトロニダゾール	末梢神経障害
52) 低浸透圧性造影剤	遅発性ショック

表3 日本で問題となった遅発性副作用（毒性）の例

		発症までの 時間、期間	動物 試験	臨床 試験	長期 試験	疫学 調査	臨床 観察
1)キノホルム	SMON	1～数ヵ月	+				+
2)DH剤（コラルジル）	全身性脂質症	数ヵ月	+				+
3)クロロキン	網膜症	1年以上	+				+
4)筋肉注射（種々）	筋短縮症	数年	+				+
5)血液凝固製剤	HIV感染症	数年					+
6)輸血、血液製剤	C型肝炎	1～数ヵ月	+				+
7)スキシブゾン	発癌		+				
8)ホバンテン酸	代謝性アシドーシス	数ヵ月	+				+
9)5炭糖含有輸液	代謝性アシドーシス	週	+	+			+
10)シアニダノール	溶血性貧血						+
11)マロチラート	重症肝障害、貧血		+				+
12)ソリブジン	FU薬の毒性増強	10～20日	+				+
13)プロパルマコム(セロソソ)	劇症肝炎						+
14)トドララジン	劇症肝炎						+
15)インターフェロン	遅発毒性（肝、自己免疫、うつ、末梢神経障害、間質性肺炎、ぶどう膜炎、網膜症、脳症等）						+

表4 世界的に話題となった遅発性の副作用（毒性）

			動物 試験	臨床 試験	長期 試験	疫学 調査	臨床 観察
1)トリパノール 等旧タイプ	コレステロール 低下剤	肝障害、副腎不全など	+	+			+
2)トルブタミド		心血管疾患死亡率増加	+		+		
3)ピグアナイド剤（フェソルミン 等）		アシドーシス死亡増加	+		+		+
4)結合型エストロゲン		癌死亡率の増加	+		+		
5)ジエチルstilbestrol（DES）		次世代女兒の腫瘍				+	
6)カロフィラート等	コレステロール低下剤	死亡増（癌、事故、不整脈）			+		
7)プロブコール		心室頻拍	+	+			
8)抗不整脈薬		不整脈死亡率の増加	±		+		+
9)胃癌治療切除手術後の抗癌剤		死亡増、減？					
10)抗癌剤による二次性発癌			+			+	
11)プラクトロール	眼粘膜皮膚症候群、硬化性腹膜炎						+
12)ベノキサプロフェン	肝障害		+				+
13)抗不安薬	交通事故死の増加					+	
14)成長ホルモン	Creutzfeldt Jacob 病					+	
15)成長ホルモン	白血病					+	

表5 遅発性毒性の可能性のある副作用（害反応、毒性）の分類

- 1) 通常は比較的短時間で発現する反応に類似した反応が遅く発現
(低浸透圧性造影剤での遅発性ショック, 向精神薬での遅発性ジスキネジア)
- 2) 慢性毒性として発現した薬害 (キノホルム, コロキソ, ホバンテ酸, DH剤, ソリブジンなど)
- 3) 現在市販薬による慢性毒性
(NSAIDsで腎障害や潰瘍, エソプロロル, 抗癌剤による心肺神経毒性, スマイ難聴など)
- 4) 投与終了後しばらくして発症
(インターフェロン, 抗癌剤による放射線障害顕在化, 筋肉注射による筋短縮症)
- 5) 投与目的の症状が軽快後に再燃する: 逆説的な副作用
(抗不整脈薬で不整脈: Torsades de Pointes, 抗不安薬で不安, 睡眠薬で不眠, 抗アレルギー薬でアレルギー, 脳代謝賦活薬でパーキンソン, 抗うつ薬でうつ病, 抗炎症薬で感染重症化, ステロイド外用薬で皮膚炎悪化, 肝臓病用薬で劇症肝炎, 抗菌剤で偽膜性大腸炎や耐性菌感染症, 頭痛薬で頭痛, 抗痙攣薬で痙攣誘発, 抗パーキンソン病薬で不随意運動, ヘパリンによる血栓症増悪など)
- 6) 潜伏期の長い感染症の発症 (HIV, C型肝炎, Creutzfeldt Jacob 病)
- 7) 遅延型 (IV型) アレルギー反応 (種々), II~IV型アレルギー反応 (種々)
- 8) 大規模長期臨床試験で証明される有害性
(血糖降下薬, コレステロール低下薬, 抗不整脈薬などで死亡率増加)
- 9) 疫学調査によってはじめて判明 (抗不安薬と交通事故, 経口避妊薬の影響など)
- 10) 次世代への影響 (ジエチルstilbestロール, 子ガソなど)
- 11) 脂肪組織に蓄積した薬剤の血中への大量移行に伴う中毒症状の発現
(向精神薬やプロブコールで不整脈から突然死)
- 12) 長期投与後, 相互作用で毒性が増強 (ソリブジンでFU系抗癌薬毒性増強)

表6 遅発毒性の動物試験による予測性について

- 1) 多くの遅発性毒性は動物試験で再現可 (用量依存型毒性)
クロロキン, キノホルム, DH剤, 筋短縮症, スキシブゾン, ホバンテ酸, 5炭糖, マロチラート, ソリブジン, トリパラノール, トルブタミド, フェンホルミン, エストロゲン, プロブコール, ベノキサプロフェン, ジソピラミド, 抗癌剤など
- 2) 動物試験に際しては, 発現の条件の吟味が重要になる場合も多い
キノホルム (吸収), 筋短縮症 (組織障害性, 幼若), プロブコール (肥満)
ソリブジン (FU系抗癌薬との併用), H拮抗薬 (肝障害, 腎障害, 骨髄移行性)
ST合剤 (高齢者, 葉酸欠乏状態), DES (次世代での発病, 寿命)
- 3) 遅発性アレルギー反応については動物試験は困難なことが多い
低浸透圧性造影剤, アレルギー性凡血球減少症, 無顆粒球症 (種々)
- 4) 長期臨床試験や大規模疫学調査でしか証明されない遅発性毒性は,
動物試験での予測が困難なもの, 可能なものが混在
可能なもの: トルブタミド, 結合型エストロゲン (発癌), クロフィブラート
ジソピラミド (慢性毒性試験で心筋の線維化あり)
プロブコール (心室頻拍, 突然死)
困難なもの: DES, 胃癌治療切除後の抗癌剤による補助化学療法功罪
抗不安薬 (交通事故死)

横山章光

立川共済病院 神経科

インターフェロン（以下、IFN）は細胞由来の生理活性蛋白（サイトカイン）の一つであり、1950年代にウイルス増殖抑制物質として発見されたあと、細胞増殖抑制作用や免疫機能調整作用など、その多面的特性が明らかとなり、最初は抗腫瘍薬として造血管腫瘍や腎癌の治療に、そしてB型肝炎の治療に用いられていたが、本邦で1992年にC型慢性活動性肝炎に対しても健康保険の適応が追加されて以来、その使用頻度は急増した。

それとともに副作用の報告も急増し、IFN使用后初期症状としてのインフルエンザ様症状（発熱、全身倦怠感、頭痛、関節痛、四肢筋肉痛、背部痛）、中期症状としての全身症状（微熱、全身倦怠感・易疲労感、体重減少）・消化器症状（食欲不振、嘔気、下痢）・皮膚症状（発疹）、後期症状としての脱毛、自己免疫異常などが確認され⁵⁾、現在は間質性肺炎、甲状腺機能異常、心筋症、網膜症なども注目されている。

臨床場面ではIFNを使用する内科医を最も悩ませていたのが精神症状であった。1994年の3月に厚生省によりIFN使用の際のうつ症状による自殺企図が報告され、その中には死亡例も数多く見られた。

今回はIFN治療の概略、精神症状が出現した臨床事例を2つ挙げ、本邦の副作用としての精神症状の特徴を示し、それが予測可能であるかどうか、我々の研究とともに、現在までの報告から論じてみたい。

1. IFN治療の概略

現在C型慢性活動性肝炎に対して適応となっているIFNは、天然型 α 、遺伝子組替え型 $\alpha-2a$ 、遺伝子組替え型 $\alpha-2b$ 、天然型 β である。IFN α は2～4週連日投与の後、週3回22～24週投与、IFN β は6週連日投与の行われることが多い。IFNの種類により有効性には大差がないものと考えられており、著効例は30～40%であるという。基本的にはIFN α は筋注、 β は静脈内投与（点滴静注）であること、組替え型はIFN抗体ができやすく天然型にはできにくい、組替え型は天然型に比し安価であるということの2点を考慮してIFNの種類が選択される場合が多い。IFN投与の有効性を規定する因子としてはHCV-RNA量、HCV遺伝子型など多くの因子があり、至適投与法ははまだ決定されていない。

2. 精神症状が出現した症例¹⁾¹⁾

A) うつ状態を呈した例

38歳、女性、教員。IFNを開始する3か月前に離婚を経験し、不眠のため1か月間近医で睡眠薬の投与を受けたことがある。

1992年7月に検診でC型肝炎が見つかり、8月に入院、生検にて慢性活動性肝

炎と診断。IFN α -2a (9MU) を2週間連続投与後、退院し週3回の投与を行っていた。IFN治療の開始直後に不安感、悪寒、食欲不振、頭痛、顔面発赤、胃部不快感を訴えていたが、消化薬の内服で改善した。

9/1より復帰したが、9月の終わりからうつ状態が出現し、勤務は続けていたが能率が上がらず、このままでは生徒や同僚に迷惑をかけるのでどうしたらよいか分からないと心配し、10/4に精神科を受診。受診時、表情も暗く抑鬱的であり、疲労感、不眠、食欲不振などを訴え、抑うつ気分や精神運動抑制、罪責感などを認め、当時中等度以上のうつ状態であった。頭部CTスキャン、脳波検査では異常なかった。

患者はIFNの継続は強く希望するも、職場を休めないという理由で入院の勧めは受け入れないため、とりあえずIFNは継続したまま抗うつ薬による薬物療法を開始した。1週間後も症状の改善は見られないため、再度休職を勧めた。休職した結果、翌週の受診時にはうつ状態は著明に改善しており、服薬も中止していた。

11月初めより復職し、IFNは予定通り1993年2月まで投与されたが、その後は精神的な問題が生じることはなかった。

小括) 本例はIFNの開始約2か月後よりうつ状態が出現し、精神症状は3週間持続した。IFNは継続されていたが、薬物療法および休養により精神症状は軽快した。本例は離婚を経験し、職場復帰に対する焦りもあり、心理的要因も無視できない。

B) せん妄状態を呈した例

57歳、女性、主婦。精神科疾患の既往はない。

1991年11月、上腹部痛のため近医を受診し、C型肝炎を発見された。検査後1992年5月よりIFN α -2bを2週間連続投与後、近医にて週3回投与を開始。

11月頃より食欲不振、体重減少が始まり、12/21からは全く不眠となった。12/24より焦燥、不穏などの精神症状が出現し「娘が来ている。隠れている」などと口走った。12/26に某精神病院を受診。初診時やや夢幻様の錯乱状態であったがはっきりした幻聴などは認めず、意識変容を疑わせる精神症状を呈していた。

入院後1週間は37度台の発熱が見られたが、精神症状が寛解状態となったため1993年1/23に退院した。退院後再び37度台の発熱があり、それに引き続いてせん妄様の幻覚妄想状態が出現した。意識障害の程度に比して異常体験が強く、易刺激的、拒絶的であった。抗精神病薬を投与し、2/15にはほぼ寛解状態となった。

小括) 本例の特徴は、IFNを約6か月投与後に精神症状が出現し、2か月間近く持続したことである。精神症状に先行して発熱が見られた。意識変容疑わせる精神症状で、幻覚妄想もみられた。

3. 精神科的副作用の特徴

1) 性・年齢

男女差、年齢に差はみられない。

2) 精神症状

2/3以上がうつ状態である。

その他、幻覚妄想状態、錯乱状態、せん妄状態、不安焦燥状態、睡眠障害など多彩な症状が報告されている。

3) IFNの種類

α 、 $\alpha-2a$ 、 $\alpha-2b$ 、 β すべての種類のIFNで精神症状は出現しうる。

4) 精神症状発現までのIFNの総投与量

個人差が極めて大きく、30MU以下でも出現し、300MUを越えてからでも出現する。高投与量の方が重篤な精神障害(幻覚妄想、せん妄、痙攣、昏睡)などの報告が多い。

5) 精神症状発現までの期間

IFN開始後1週間以内が20%、2週間以内が40%、1か月以内が60%、3か月以内が90%程度であるが、投与中どの時期でも出現しうる。

6) 精神科的既往歴

IFNを受けたいがために精神科的既往歴、家族歴を隠しているケースも多いため正確な数字は分からないが、報告例の中では精神症状が出現した中の30%近くがうつ病、アルコール依存症、分裂病などの既往が存在した。

しかし分裂病患者に投与してなんら問題がなかった症例も報告されている。⁶⁾

7) 精神症状発現後のIFN療法について

2/3は投与中止されているが、うつ状態や不安状態などが存在しても最後までIFN療法を継続した例もある。

8) 精神症状の予後

うつ状態出現でIFNを中止した場合、2週間以内に1/2は軽快し、3か月以内にはほぼ全例が軽快している。幻覚妄想状態やせん妄状態の場合は中止後は多くの場合1か月以内に軽快するが、一部は中止後も長期間持続する。

9) 精神症状の頻度

治験段階では1.6%と低かったが、厳密な評価法を取るに伴い次第に上昇し、精神科医による治療または中断を必要とした例は8.5%程度あり、精神科的介入までは必要としない例まで含めると、精神症状の頻度は20~30%にも上る。

10) 検査所見

脳波では全般性の徐波化の傾向、ことに前頭葉領域の徐波の出現が多い。ほとんどの例はIFN減量により改善し、中止により数日~2週間で所見は改善し、可逆性である。また、脳波異常は臨床症状が認められない場合にも見られる。

髄液所見は正常で、頭部CTスキャンで異常が見られることはない。

3. 発現機序

IFNによる副作用としての精神症状の発現機序はまだ明らかになっていないものの、多因子が複雑に関係しているのではないかと考え始められている。因子は大きく2つに分けて考えられる。

① IFNの神経系に対する直接、および間接作用

IFNは分子量が大きく、血液-脳関門(BBB)は通過しないが、血中IFN濃度の高い症例でその数%が髄液中に移行することが観察された。BBBのな

い部位から浸透して神経系に作用すると考えられ、その部位として脳室周囲器官（終板器官＝OVL Tなど）が考えられている。IFNが直接神経系に作用することによって、発熱、食欲中枢の抑制、徐波睡眠を引き起こす。マウスではモルフィン様の鎮痛、カタレプシーを起こす³⁾。IFNは実験的に神経興奮性を有することも認められ、パーキンソン様症状、アカシジアなどの出現から、ドーパミン伝達系へも抑制的に作用する可能性も指摘されている⁸⁾。

さらにサイトカインが各種内分泌ホルモン、神経伝達物質などの液性因子を介して免疫系、神経系、内分泌系の3系統において情報伝達と機能調節上密接で複雑なネットワークを形成していることも明らかになってきた。つまり直接的な中枢神経系への作用に加えて、大量のIFN投与はそれらを介した二次的な作用を伴う。

精神症状の出現に関与しうるIFNの二次的作用として、①他のサイトカインの産生促進（インフルエンザ精神病は抑うつ症状が多い）、②IFNがACTH類似の構造と作用を有することによる神経内分泌系の変化、特にコルチゾール濃度の上昇（Cushing 症候群の精神症状は抑うつ症状が多い）、③IFNがオピオイド受容体の活性化を促すこと（ノルアドレナリンの放出が抑制される）、などがあげられる⁴⁾。

② 個体側の諸要因

・肝障害の存在

一般に慢性肝炎があるときには、精神的負担や身体的過労によって不適応状態になりやすいと言われている。

・既往歴、遺伝的負因

現在IFN治療の慎重投与の適応として、精神神経疾患や自己免疫性疾患の既往が上げられている。確かに精神科的既往歴のある症例に精神症状が出現した報告は多い。また、以前にステロイドで妄想状態になり、IFNで不眠、抑うつ、自殺企図、被害妄想などが出現した例の報告もあり⁹⁾、自己免疫性疾患はその病態を悪化させるのみならず、神経・免疫・内分泌系のネットワークを介した精神症状を惹起する脆弱性もありうる。

また、頭部画像診断上の異常が、IFNのneurotoxicity のリスクファクターになることも言われている¹⁾。

・性格傾向

IFNによる抑うつ発現の危険因子として外向的性格傾向が弱いという報告があり⁷⁾、また責任感が強く几帳面で執着器質などメランコリー親和性の病前性格が精神症状の発現に関与したと考えられる報告もある。我々の研究でもDRPという質問票を用いて、抑うつ状態を認めた症例の病前性格は正常群と比較して、抑うつ親和性が強いという結果を得た²⁾。

・心理社会的ストレス

IFN投与前後の背景として「働き盛りの人が」「将来肝硬変・肝臓になるかもしれないという説明のもとで」「現在症状がほとんどないC型肝炎の治療を」「1/3しか効かないと言われるIFNで」「入院も含め半年にもわたって継続

して行い」「発熱や倦怠感、食欲不振などの副作用が出現する」。これらはストレス状態を惹起し、精神症状の出現に関与すると考えられる。またIFN療法前もしくは最中に別のストレスが存在した報告（離婚、失恋、転勤、医療不信など）もある。それらの受け止め方は社会的立場や性格傾向による個体差が当然ありえる。

おわりに～予測は可能か

このようにIFNによる精神症状の発現機序は多因子が関与しているものと考えられ、その予測は臨床上難しい。

発現機序から考えると、神経・免疫・内分泌疾患の有無・既往・遺伝負因や性格傾向を知ることが必要であり、各種血液検査の他に脳波、頭部MRI・CT、心理検査が有用である。投与中には高投与量になるに従って、また相対的に高濃度となる低体重や衰弱にも留意が必要である。さらに投与前中後の患者個々の心理社会的ストレスにも目を向ける必要があり、インフォームド・コンセントや家族や回りの協力が大切である。

参考文献

- 1) Adams, F., Fernandez, F., Mavlight, G: Interferon-induced organic mental disorders associated with unsuspected pre-existing neurologic abnormalities. *J. Neurooncol*, 6:355, 1988.
- 2) 青木孝之, 横山章光, 保坂隆, 他: 慢性C型肝炎に対するインターフェロン投与患者の精神症状. *J GHP* 7:1995.
- 3) De Sarro GB, Masuda Y, Asciotii C, et al: Behavioural and ECoG spectrum changes induced by intracerebral infusion of interferons and interleukin 2 in rats are antagonized by naloxone. *Neuropharmacology* 29:167 1990.
- 4) Meyers CA, Scheivbel RS, Forman AD: Persistent neurotoxicity of systemically of systemically administered interferon-alpha. *Neurology* 41: 672, 1991.
- 5) 三宅和彦, 横山喜恵, 宮本直樹, 他: インターフェロンの副作用. *肝胆脾* 24:575, 1992.
- 6) 小川雅美, 山寺博史, 黒田肇: C型肝炎を合併した精神分裂病患者におけるインターフェロン療法. *臨床精神医学* 22:1469, 1993
- 7) 大坪天平, 宮岡等, 上島国利, 他: C型慢性活動性肝炎患者のインターフェロン療法中にみられる抑うつに関するprospective 研究. *精神医学* 36:768, 1994.
- 8) 笹野友寿, 渡辺昌祐: 免疫調整剤と精神障害. *臨床精神医学* 22:1705, 1993.
- 9) 近沢秀人, 藤山重俊, 伊津野清徳, 他: インターフェロン投与中精神症状を呈したC型慢性肝炎の2例. *肝臓* 33:44, 1992.
- 10) 横山章光, 高木洲一郎, 仲村洋, 他: インターフェロンによるC型慢性肝炎の治療中にみられる精神症状. *日本医事新報* No. 3638:43, 1984.

パネルディスカッション

「動物試験からヒトでの遅発性副作用をどこまで予測できるか」

遅発性副作用の臨床事例と問題点

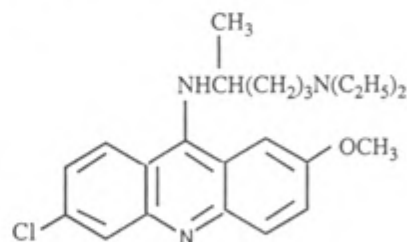
形態学的病変を伴う遅発性毒性

今井田克己

名古屋市立大学医学部第一病理

「遅発性毒性」の定義は何か？毒性学の辞書によれば「遅発毒性は、化学物質を生体に単回投与後、ある時間の経過後に現れる作用。たとえば、化学物質の発癌作用とか遅発性の神経毒性がよく知られている」とある。従って、化学物質の投与直後に少なくとも毒性作用の兆候を示す変化がなく、さらにその投与が原因となって、一定の時間を経た後で、毒性作用が現れることと考えられる。しかし、毒性が現れる前段階で少なくとも何らかの病変は進行しているはずで、ただそれが我々に認識できないだけかもしれない。最初にあげた辞書の定義によれば化学発癌物質による発癌も遅発性毒性の一つと考えられる。とすれば、発癌にいたる前段階、すなわち前癌病変は「形態学的病変を伴う遅発性毒性」の1つの例といえる。そこでラット肝の前癌病変である胎盤型Glutathione S transferase (GST-P) 陽性細胞巢はその典型例である。しかし、その前癌病変の発生も化学物質の投与後、ある程度時間を経過したから出現する病変であるのでさらにその出現前に何らかの変化が（形態学的変化を伴わないかもしれないが）起こっているはずである。今回は細胞質内に何らかの形態学的変化をひき起こす化合物に焦点を絞り、2、3の実験データを紹介する。ひとつは薬物誘発性脂質症の原因となるQuinacrineであり、もうひとつはperoxisomal proliferatorであるClofibrateによる変化を検討したい。

薬物誘発性脂質症を誘発する化合物は主に第3級アミンを有する親水性部分と、芳香環などの疎水性部分をともに有する化学構造をしており、親水性と疎水性の両方の性質を有する陽イオン性薬物ということで amphiphilic cationic drug と呼ばれている。そのひとつがQuinacrineである（図）。Quinacrineは合成抗マラリア治療剤として開発されたが、体外への排泄が極めて遅く、肝、脾臓、膵などに強い親和性を示し、脂質症を誘発することが明らかにされた。そこで、その標的臓器である肝と膵を中心にその脂質症誘発の確認と、それぞれの発癌過程においていかに修飾作用を示すかを中心に次の2つの実験を行った。



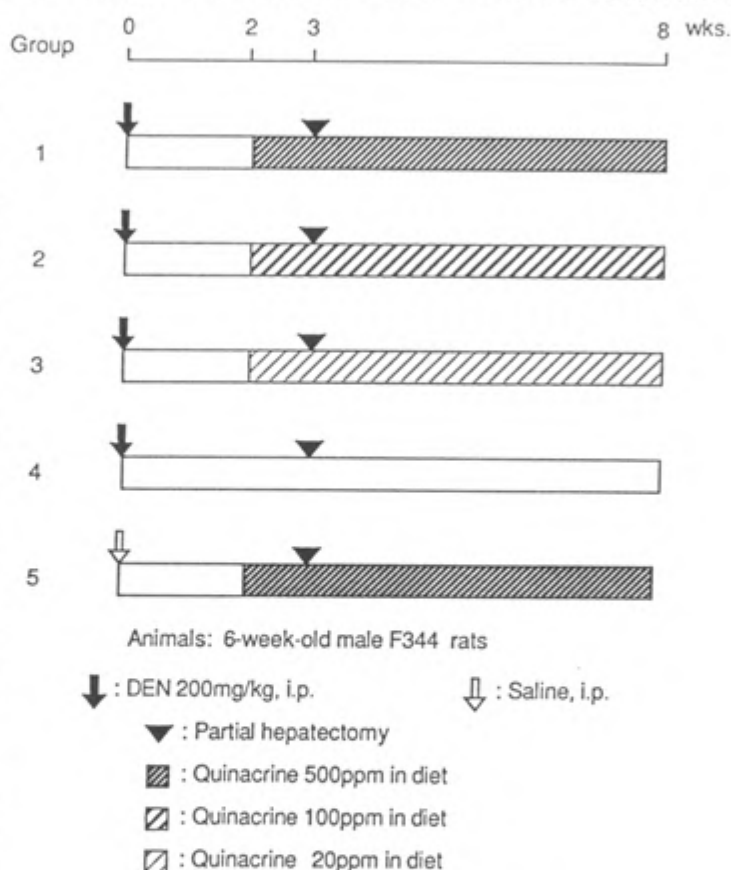
Chemical Structure of Quinacrine

実験 1

ラットを用いた肝中期発癌性試験法を用いたQuinacrineの修飾作用

実験には6週齢のF344雄ラットを用い、5群に分けた。1から4群は diethylnitrosamine (DEN) 200 mg/kgをi.p.投与し、その2週後より500, 100, 20, 0 ppmのQuinacrineを基礎飼料中に混じて6週間経口投与した。5群はDENの溶媒である生食をi.p.投与後、500 ppmのQuinacrineを投与した。全ての動物は実験開始後

3週目に3分の2の肝部分切除を施行した。実験は8週間で終了し、実験終了時に各動物の体重と肝重量を測定後、肝を摘出し、一部は電子顕微鏡観察用に採取するとともに、そのホルマリン固定後、肝の各葉から一定の部位を切り出し後、GST-Pの抗体を用いて、免疫組織学的に染色を行なった。肝の全体の面積、GST-P陽性細胞巢の面積および個数を画像処理装置を用いて計測し、肝の単位面積あたりの個数(No./cm²)および面積(mm²/cm²)を算出し、各群の値を統計学的に比較検討した。

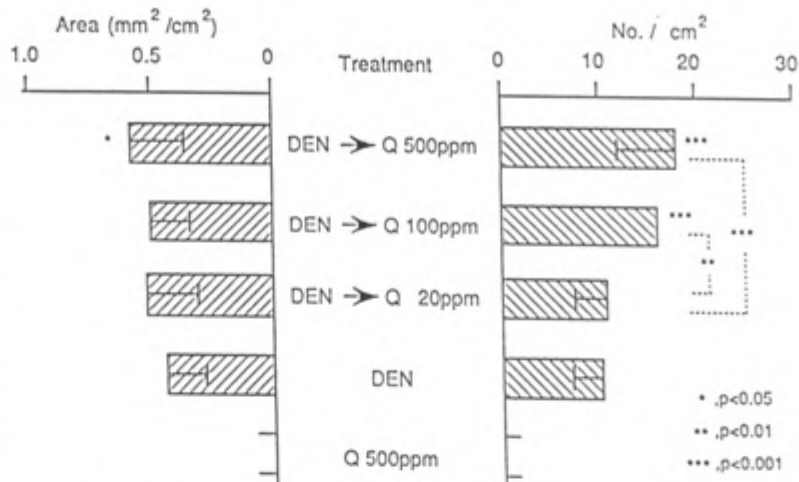


Experimental Protocol

その結果、単位面積あたりのGST-P陽性細胞巢の数は1群(500ppm):

18.26±4.41/cm², P<0.001、2群(100ppm): 15.69±4.03/cm², P<0.001と統計学的に有意に増加していた。しかし、3群(20ppm): 11.56±3.54/cm²は対照群である4群の10.75±3.2と有意差はみられなかった。また、単位面積あたりのGST-P陽性細胞巢の

面積は1群で
 $0.57 \pm 0.21 \text{ mm}^2$
 $/\text{cm}^2$ で対照群
 の 0.44 ± 0.17
 mm^2/cm^2 より
 有意に増加し
 ていた。その
 他の群の
 GST-P陽性細
 胞巣の面積に
 群間の差はみ
 られなかった
 (図)。

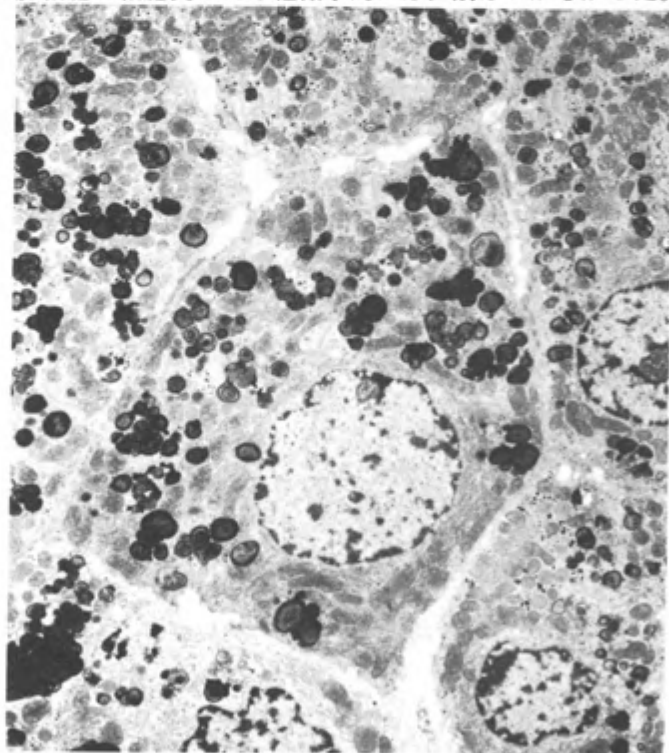


Quantitative Value for GST-P Positive Foci

病理組織学的に肝を検索すると、肝細胞質内がスリガラス状となり腫大していた。これはDENの投与の有無に関係なく、Quinacrine投与した群に認められ、GST-P陽性細胞巣の細胞質と周囲の肝細胞の細胞質とでは組織学的には区別はつかなかった。

電顕でみると、肝細胞質内にはミエリン様構造をもつ多数の封入体が認められた(図)。その程度は投与濃度に相関して認められ、20ppm投与群の肝細胞質内にも認められた。この封入体はacid phosphataseが陽性で、lysosomeに蓄積したものであることが確認された。

この実験ではQuinacrineによる脂質症が肝組織で確認されたとともに、その肝の前癌病変であるGST-P陽性細胞巣を用量依存性に増加させる



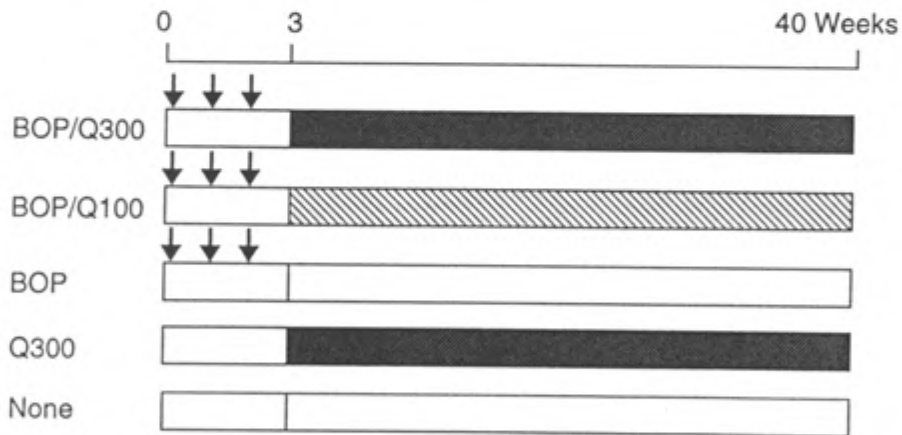
Electron microscopic observation of hepatocytes from quinacrine-treated rats. Many myeloid lamellar bodies filling in the cytoplasm are seen.

ことが明らかとなった。このことはlysosomeに脂質が蓄積されることによるlysosomeの機能障害がそのひとつの要因と考えられ、遅発毒性のひとつといえる。ここで注目すべきはGST-P陽性細胞巢の増加を示さなかった低濃度群でもミエリン様構造の封入体が認められたことが予測され、毒性の症状が発生する以前から形態学的に変化がみられることで、この様な変化を早期に見出すことにより毒性症状の発生を予知することが可能な例といえよう。

実験 2

BOP誘発膵腫瘍発生過程におけるQuinacrineの修飾作用

もうひとつの例として、膵発癌の実験モデルであるハムスターのN-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP)を用いたQuinacrineの実験を取り上げたい。実験にはハムスターにBOP 10 mg/kgを3回s.c.投与し、その後3週目から、Quinacrine 300 ppmを基礎飼料中に混じて投与する群(BOP/Q300)と、Quinacrine 100 ppmを投与する群(BOP/Q100)を設けた。また、BOP投与のみの対照群(BOP)と、300 ppmのQuinacrine投与のみの群を設け、各群とも実験開始後40週で屠殺剖検した。膵臓の病理組織ならびに電顕での超微形態学的な検討とともに肝に発生した腫瘍性病変についても検討した(図)。



↓: N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine(BOP)10mg/kg, body weight, SC

■: 300 ppm Quinacrine in diet ▨: 100 ppm Quinacrine in diet

Experimental Design

その結果、膵に発生した腺癌の動物一匹当たりの数はBOP/Q300群: 1.56 ± 1.27 、BOP/Q100群: 1.92 ± 1.30 であり、対照群のBOP群: 1.06 ± 0.79 より増加しており、BOP/Q100群では統計学的に有意差がみられた(表)。

Incidence and Multiplicity of Pancreatic Neoplastic and Preneoplastic Lesions in Hamster Pancreas Treated with BOP Followed by Quinacrine

	Effective no. of animals	No. of animals with (%)		No. of tumors/ animal			
		Adc	Dys	No.	Adc	No.	Dys
BOP/Q300	30	23 (76.6)	16 (53.3)	47	1.56 ± 1.27^a	33	1.10 ± 1.29
BOP/Q100	28	26 (92.8)	21 (75.0)	54	$1.92 \pm 1.30^{**}$	50	$1.78 \pm 1.72^*$
BOP	29	22 (75.8)	15 (51.7)	31	1.06 ± 0.79	23	0.79 ± 1.01
Q300	20	0	0	0	0	0	0
None	10	0	0	0	0	0	0

Q300 : Quinacrine 300 ppm in diet, Q100: Quinacrine 100 ppm in diet

Adc: adenocarcinoma, Dys : dysplastic lesion a : Mean \pm SD

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with the BOP group.

また、肝細胞癌の発生率をみるとBOP/Q300群: 27.5%、BOP/Q100群: 34.4%、BOP群: 4.0%であり、BOP/Q300群およびBOP/Q100群ともに有意に増加していた(表)。

Effects of Quinacrine on BOP-initiated Hepatocarcinogenesis in Hamsters

	Effective no. of animals	Final body weight (g)	Liver weight (g)	Tumor bearing animals (%)	
				Hepatocellular	Cholangiocellular
BOP/Q300	29	166.7 ± 27.4^a	$7.71 \pm 1.34^{a,***}$	8 (27.5) [#]	8 (27.5)
BOP/Q100	29	$172.4 \pm 17.8^{**}$	$8.90 \pm 1.52^{#,***}$	10 (34.4) ^{##}	12 (41.3)
BOP	25	$170.1 \pm 23.9^{**}$	$7.38 \pm 3.33^*$	1 (4.0)	12 (48.0)
Q300	20	$188.4 \pm 18.1^{***}$	$8.11 \pm 1.14^{***}$	0	0
None	10	152.8 ± 14.7	5.52 ± 0.99	0	0

Q300 : Quinacrine 300 ppm in diet, Q100: Quinacrine 100 ppm in diet

a: Mean \pm SD

$P < 0.05$, ## $P < 0.01$ compared with the BOP alone group.

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ compared with the None group.

この様にQuinacrineの投与により腫瘍の発生を増加させた臓器である膵臓と肝の形態を組織学的にみると、肝ではラットと同様に肝細胞の腫大とスリガラス様変化がみられ、電顕でもミエリン様封入体が肝と膵臓ともに認められた。ラットの場合と同様に肝と膵臓のlysosomeでの脂質の蓄積がこれら腫瘍性病変の増加の一つの要因と考えられ、これら腫瘍性病変も遅発性病変といえることから、電顕による超微形態を含めた形態学的変化を伴った例といえる。

実験3

Peroxisomal proliferatorであるClofibrateの肝腫瘍の修飾作用

Clofibrateは長期発癌性試験の結果肝に標的性を示す発癌物質であることが知られている。また、肝細胞は腫大し電顕でみると明らかに細胞質内にperoxisomeの増生と腫大することが知られている。実験1で示したラット肝を用いた中期発癌性試験法ではほとんどの肝の発癌物質を検出できるが、その指標として用いるGST-Pの発現を抑制するperoxisomal proliferatorはたとえ前癌病変である変異増殖巣ができてでもそれを免疫組織学的に同定できず、偽陰性の結果となってしまう。中期発癌性試験法において肝発癌物質で陽性を示さないいわゆる偽陰性の結果を示す物質のほとんどはこの範疇の物質である。しかし、このClofibrateの場合も肝細胞質内にperoxisomeを増殖させることが重要な意味を持っており、この場合も遅発毒性としての発癌とその発生過程の初期の段階で形態学的に認識できる異常(peroxisomeの増生)との間に明らかに関連があり、実験1及び2で示したようなlysosomeの異常に伴う病変の発生と同様に形態学的にその病変が発生する以前に病態を把握できる例といえよう。

以上のように、今回は形態学的に把握できる2、3の例として、標的臓器の細胞質内に認められる異常として、Quinacrineによる肝臓並びに膵臓のミエリン様封入体の形成と、Clofibrateによる肝細胞内のperoxisomal proliferationとを取りあげたが、これらはいずれも病変の発生のごく初期からこのような異常が見い出されるものであり、電顕観察を含めた形態学的方法で認識が可能なものである。このような例は必ずしも多いわけではないが、通常のHE染色組織像から何らかの異常が見い出され、超微形態学的にその原因を追究可能なものである。しかもその場合にはその最終的な病変が発生する以前に既に細胞質内に異常が見い出される例であり、遅発病変の発生を早期に形態学的に検出可能な例であると考えられる。

遅発性副作用検索のための各種動物試験法

安東 潔

(株) 前臨床医学研究所

はじめに

遅発性(tardive)という用語は、たとえば精神薬理学の領域では、抗精神病薬の反復投与による錐体外路障害について、遅発性ジスキネジアなどとして用いられている³⁾。そこで、まず遅発性ジスキネジアと動物での具体的な検索例について述べる。つぎに、覚醒剤の反復摂取により分裂病様の精神障害が引き起こされることがあるが⁵⁾、このうちの覚醒剤に対する行動的な増感現象の側面に関する動物での具体的な検索例について述べる。覚醒剤によるこのような現象については、遅発性という語を冠して呼ばれることはまれである。しかし、この事例でも、薬物の反復投与により、ある症候や現象が遅れて発現し、薬物の投与を一定期間中止しても、その症候や現象の一部が残存している点では、前者の遅発性ジスキネジアの様相と類似している。

1. 抗精神病薬による遅発性ジスキネジアに関するサルでの検索

遅発性ジスキネジアの特徴の一つは顔面あるいは口の周辺の反復異常運動であり、抗ドパミン作用の強いハロペリドールなどを数か月間服用した場合に20%近くの患者にみられるという。この反復異常運動は、服用を止めても、しばらくの間持続する。一方、抗ドパミン作用が弱く、セロトニン受容体への親和性が高い非定型的抗精神病薬のクロザピンには、このようなジスキネジアは余りみられない²⁾。

臨床的にみられる遅発性ジスキネジアを動物で再現する実験として、サルを用いた研究がある^{4, 6)}。フサオマキザルにハロペリドール0.1あるいは0.5 mg/kgをジュースに混ぜて数か月にわたり反復摂取させると、口の周辺の反復異常運動を含む錐体外路障害が発現してくる。このような遅発性ジスキネジアはハロペリドールやクロロプロマジンの筋肉内投与により、数時間のみ抑制される。クロザピンも同様の抑制効果を示す。一方、遅発性ジスキネジアを発現しているサルで、ハロペリドールの反復投与を3か月間以上中断して、ジスキネジアがある程度消失したところで、各種の抗精神病薬を投与して、ジスキネジア誘発の有無をテストしてみる。すると、ハロペリドールとクロロプロマジンは、一旦消失しかかったジスキネジアを増悪させた。しかし、クロザピンでは増悪はみられず、薬物による作用の違いが検出できた。

遅発性ジスキネジアの発現機序については、ドパミン受容体アンタゴニストが長期間にわたり線条体のドパミン受容体を占有し、ドパミン作動性神経の感受性亢進(denervation supersensitivity)がおこることによると理解されている。

このような機序の解明には、齧歯類を含む動物での生化学的、行動薬理学的研究成果の集積に負うところが多い。しかし、臨床的なジスキネジアと症候の上での類似性を高めるには、サルでの検索が有用であると考えられる。例として述べたサル

による方法では、ジスキネジアの発現の程度やその機序に関して、薬物によるちがいを明らかにすることができ、新たに開発される抗精神病薬の遅発性ジスキネジア発現の有無に関する予測も可能であると考えられる。

2. 覚醒剤の反復投与による増感現象に関するラットでの検索

前述の遅発性ジスキネジアの例がドパミン作動性神経の長期的抑制による denervation supersensitivity によるのに対して、アンフェタミン類などの覚醒剤の連用による分裂病様精神障害や感受性亢進は、ドパミン受容体の反復刺激によってもたらされると考えられている。さらに、これらの現象はアンフェタミン類の使用を中止したあと、しばらくたってから少量のアンフェタミン類の摂取あるいはストレスの暴露などでも発現し、これは再燃現象といわれている⁵⁾。

アンフェタミン類による感受性亢進に関する実験を紹介する。ラットにメタンフェタミンを 0.5 mg/kg 皮下投与し、自発運動量測定装置に入れる。2 あるいは 3 日ごとに同様の手順を繰り返すと、ラットの自発運動量増加は投与の回数を重ねるにつれて増強する⁷⁾。アンフェタミン類による行動的増感現象は、同薬の投与を止めて、一定の期間経過後にも保持されている。

このような現象の背後にある機序を検索するために、ラットの脳内部位にアンフェタミン類や各種伝達物質を直接注入する実験が行われている¹⁾。その結果から、ラットの自発運動の増加には、ドパミン作動性神経が関わり、脳内部位としては線条体より、側坐核がより深く関与していると考えられた。

おわりに

以上に、向精神薬の臨床での副作用あるいはそれに関係する症候の一側面を動物で再現したものについて述べた。遅発性ジスキネジアもアンフェタミン類による感受性亢進も、薬物を反復服用して遅れて発現する点とドパミン作動性神経が関与している点では類似している。しかし、両者の病態や現象、関与する脳内部位や機序は当然のことながら異なっている。遅発性ジスキネジアの例では、動物実験と臨床場面との間に症候的な対応関係がみられる。一方、アンフェタミン類の感受性亢進の例を遅発性副作用として扱うことには議論の余地があろう。しかし薬物の反復投与後に遅れて現象が発現する点で、前者の例と類似した部分もある。

遅れて発現する薬物の副作用についても、妥当性の高い動物でのモデルを確立すれば、臨床での副作用の発現を規定している条件を明らかにすることができ、動物実験での基礎的研究成果を集積することにより、薬物の遅発性副作用をある程度正確に予測できるようになるであろう。

引用文献

1. Ando K., Miyata H. & Yanagita T. : Effects of methamphetamine, dopamine and noradrenaline administered into the nucleus accumbens of rats discriminating subcutaneous methamphetamine. *Japanese Journal of Pharmacology* 64, 35-40 (1994)
2. Baldessarini R.J. : Drugs and the treatment of psychiatric disorders. *In: Goodman*

and Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Eith Edition, edited by A. Goodman Gilman et al., Pergamon Press, New York, 1990, pp. 383-435

3. Casey D.E. : Tardive dyskinesia. *In: Psychopharmacology*, edited by H.Y. Meltzer, Raven Press, New York, 1987, pp. 1411-1419

4. Gunne L-M. & Barany S. : A monitoring test for the liability of neuroleptic drugs to induce tardive dyskinesia. *Psychopharmacology* 63, 195-198 (1979)

5. 富山学人 : メタンフェタミン精神障害の再検討。 *神経精神薬理* 10, 101-109 (1988)

6. Weiss B., Santelli S. & Lusink G. : Movement disorders induced in monkeys by chronic haloperidol treatment. *Psychopharmacology* 53, 289-293 (1977)

7. 柳田知司、島田瞭、高田孝二、津田敏治 : 精神毒性に関する主要依存性薬物とニコチンの比較の研究。平成5年度喫煙科学研究財団年報 693-700 (1994)

賛助企業および団体御芳名

エーザイ(株) 研究開発本部

コーニング・ヘーゼルトン(株)
(米国 ヴァージニア州ヴィエナ市)

三共(株) 安全性研究所

塩野義製薬(株) 新薬研究所

ゼリア新薬工業(株)

第一製薬(株) 開発研究所

大正製薬(株) 総合研究所

大鵬薬品工業(株) 製薬センター 安全性研究所

武田薬品工業(株) 医薬開発本部 薬剤安全性研究所

田辺製薬(株) 研究開発企画センター

中外製薬(株) 安全性研究所

帝国臓器製薬(株)

帝人(株) 医薬開発研究所 安全性研究部

日本チャールス・リバー(株)

日本臨床薬理研究所(株)

日本ロシュ(株) 研究所

萬有製薬(株) 研究開発企画部

藤沢薬品工業(株) 安全性研究所

ブリストル・マイヤーズ・スクイブ(株) 神奈川研究所

山之内製薬(株)

ヤンセン協和(株)

(平成7年5月20日現在：五十音順)

第22回 日本毒科学会学術年会 第4回 日本毒科学会サテライトシンポジウム

薬物の副作用と毒性試験 -遅発性毒性を中心に- 「プログラム・要旨集」

●発行日/平成7年6月10日 ●発行人/藤井 儂子

●発行所/帝京大学医学部 薬理学講座 〒173 板橋区加賀2-11-1 TEL(03)3964-1211 FAX(03)3964-0602

●印刷所/帝京印刷機 TEL(0552)53-9829