(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第6281735号
(P6281735)

(45)発行日　平成30年2月21日(2018.2.21)　(24)登録日　平成30年2月2日(2018.2.2)

(51)Int.Cl.		F I		
A01K 67/027	(2006.01)	A01K	67/027	
A61P 9/04	(2006.01)	A61P	9/04	
A61K 35/00	(2006.01)	A61K	35/00	
G01N 33/15	(2006.01)	G01N	33/15	Z
G01N 33/50	(2006.01)	G01N	33/50	Z

請求項の数 2　(全 10 頁)

(21)出願番号　特願2013-55985(P2013-55985)
(22)出願日　平成25年3月19日(2013.3.19)
(65)公開番号　特開2014-180234(P2014-180234A)
(43)公開日　平成26年9月29日(2014.9.29)
審査請求日　平成28年3月10日(2016.3.10)

(73)特許権者　000109831
トーアエイヨー株式会社
東京都中央区八丁堀３丁目１０番６号
(74)代理人　100131026
弁理士　藤木　博
(74)代理人　100083437
弁理士　佐々木　眞
(72)発明者　高橋　健次
福島県福島市飯坂町湯野字田中１番地　トーアエイヨー株式会社　福島研究所内

審査官　藤澤　雅樹

最終頁に続く

(54)【発明の名称】急性心不全治療薬の評価方法、及び、急性心不全モデルの作製方法

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
ウサギに対し、乳酸リンゲル液又は酢酸リンゲル液に糖質を加えた輸液と、アドレナリンα１受容体刺激薬としてメトキサミンと、アンジオテンシンＩＩとを投与し、輸液の投与量は０．３ｍＬ／ｋｇ／分から０．８ｍＬ／ｋｇ／分で９０分間から２１０分間とすることにより肺水腫の発症を伴った急性心不全様の血行動態を達成した急性心不全モデルに、治療薬を投与して左室拡張末期圧及び乾湿肺重量比を測定し、治療薬を投与していない急性心不全モデルの左室拡張末期圧及び乾湿肺重量比と比較することを特徴とする急性心不全治療薬の評価方法。
【請求項２】
ウサギに対し、乳酸リンゲル液又は酢酸リンゲル液に糖質を加えた輸液と、アドレナリンα１受容体刺激薬としてメトキサミンと、アンジオテンシンＩＩとを投与し、輸液の投与量は０．３ｍＬ／ｋｇ／分から０．８ｍＬ／ｋｇ／分で９０分間から２１０分間とすることにより肺水腫の発症を伴った急性心不全様の血行動態を達成させたことを特徴とする急性心不全モデルの作製方法。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、実験動物であるウサギなどの小動物を利用可能である急性心不全モデル、こ

れを用いた急性心不全治療薬の評価方法、及び、急性心不全モデルの作製方法に関する。
【背景技術】
【０００２】
急性心不全は、放置した場合、生命が危険さらされることから、救命のため早期の治療が必要とされる疾患である。急性心不全の主な症状は呼吸困難であるが、この機序としては、心臓に対する前負荷と後負荷が増大することによって、心臓から血液が拍出されにくくなり、肺うっ血、肺水腫が発生するものと考えられている。急性心不全は、現行の治療薬により一定の治療効果が得られているものの、一時的に退院した後に、再び急性心不全の発症を繰り返すことで病態が進行していくため、医学的見地のみならず医療経済的にも大きな問題となっている。このように発症が繰り返される原因としては、急性心不全の発症時における肺水腫の改善が不十分である可能性や、神経体液性因子などの病態の増悪因子が関与する可能性などが考えられ、急性心不全に対する新しい治療薬の開発が望まれている。
【０００３】
新規薬剤の薬理作用及び薬物の新規薬理作用を評価する試験は、一般に、小動物及び大動物を用いて行われ、それぞれの目的となる疾患毎の動物モデルを作製する必要がある。これまでの急性心不全の試験では、冠動脈の結紮、大動脈の狭窄、大動脈弁の破壊若しくは心臓のペーシングなどの１以上の手術、又は、薬物の慢性的な投与を組み合わせることにより、動物に心不全を発症させる動物モデルが利用されてきた。しかし、これらのモデルは慢性心不全を特徴とするため、急性心不全の病態を必ずしも反映しているわけではないという問題があった。また、これらのモデル作製の手術には高度な手技を要するため、安定した試験を実施するには手技の習得と習熟に時間を要するという問題もあった。更に、心不全を発症するまでには数日から数ヶ月程度の長期の期間が必要であることから、容易には試験を行えず、新しい急性心不全治療薬の研究開発の障害となっていた。
【０００４】
例えば、非特許文献１には、イヌの冠動脈を結紮し、乳酸リンゲル液及びメトキサミンを持続的に投与することで作製した心不全モデルが報告されている。しかし、この心不全モデルでは、上記の問題に加え、イヌは入手や飼育管理のコストが高く、また、体重が重いためモデル作製に使用する薬剤及び評価に供する新規治療薬の候補化合物が大量に必要であるなどの課題がある。しかも、このモデル作製方法及び手技をそのまま小動物に適用しようとしても、心臓の大きさの相違や血管反応の種差により、手術による心臓障害の程度や前負荷、後負荷への応答が異なるため難しい。
【０００５】
また、特許文献１には、ラットに塩化カルシウムを含む５％ブドウ糖溶液及びノルエピネフリンを持続的に投与した心不全モデルが開示されている。しかし、このモデルでは、肺水腫や肺うっ血などの病態や、呼吸困難の症状などに対する検討は行われておらず、ヒトの急性心不全の病態を十分反映したモデルとはいえない。更に、このモデルは病態の作製と並行して治療薬を投与にすることによって、病態の発現、進行を抑制できるか否かを評価している。これにより治療薬の急性心不全に対する予防効果を検証することは可能であるが、予め完成した病態に対して、治療薬を追加することによる治療効果の判定が可能であるかは明らかではない。実際の急性心不全では、呼吸困難を訴えるレベルまで病態が進行した後に、医療機関を訪れて治療が開始されるものと考えられ、完成した病態に対する治療効果の検証が重要である。
【０００６】
従って、急性心不全の治療薬評価に適した動物モデル、中でも小動物の利用に適した急性心不全モデルは知られておらず、開発が望まれていた。
【先行技術文献】
【特許文献】
【０００７】
【特許文献１】国際公開ＷＯ２００５／１０４８３３号

【非特許文献】
【０００８】
【非特許文献１】日本薬理学雑誌、社団法人日本薬理学会、１９９５年、１０５巻（４号）、ｐ.２４３－６１.
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００９】
本発明は、このような問題に基づきなされたものであり、急性心不全の新規治療薬の評価に利用可能な小動物の急性心不全モデル、これを用いた急性心不全治療薬の評価方法、及び、急性心不全モデルの作製方法を提供することを目的とする。
【課題を解決するための手段】
【００１０】
本発明の急性心不全モデルは、小動物に対し、輸液と、アドレナリンα１受容体刺激薬と、アンジオテンシンＩＩとを投与することにより得られたものである。
【００１１】
本発明の急性心不全治療薬の評価方法は、小動物に対し、輸液と、アドレナリンα１受容体刺激薬と、アンジオテンシンＩＩとを投与することにより得た急性心不全モデルに、治療薬を投与して左室拡張末期圧及び乾湿肺重量比を測定し、治療薬を投与していない急性心不全モデルの左室拡張末期圧及び乾湿肺重量比と比較するものである。
【００１２】
本発明の急性心不全モデルの作製方法は、小動物に対し、輸液と、アドレナリンα１受容体刺激薬と、アンジオテンシンＩＩとを投与するものである。
【発明の効果】
【００１３】
本発明によれば、輸液と、アドレナリンα１受容体刺激薬と、アンジオテンシンＩＩとを投与するようにしたので、輸液により体液量を増加させつつ、アドレナリンα１受容体刺激薬及びアンジオテンシンＩＩにより血圧を上昇させることができる。よって、前負荷と後負荷とを適度なバランスで調節して加えることができ、肺水種を伴う急性心不全を発症させることができる。よって、高度な手技を必要とする手術を行わなくても簡単に、かつ、数十分から数時間と短時間で急性心不全モデルを作製することができ、簡単かつ迅速に急性心不全治療薬の評価を行うことができる。
【００１４】
また、手術により急性心不全モデルを作製しないので、心臓や身体が小さく、手術などの実験操作が難しくてばらつきを生じやすい小動物を使用することができる。よって、急性心不全モデル用の動物の入手や取り扱いを容易とすることができると共に、飼育スペースも小さくすることができ、かつ、治療薬の投与量を少なくすることができる。
【００１５】
更に、輸液の種類や投与量、及び、アドレナリンα１受容体刺激薬とアンジオテンシンＩＩの投与量を調整することにより、使用する動物種や試験の目的、治療薬に合わせて、急性心不全の重篤度を調節することができる。
【図面の簡単な説明】
【００１６】
【図１】治療薬投与体群、治療薬非投与体群、及び、偽処置体群の各群における左心室拡張末期圧の時間変化を示した図である。
【図２】治療薬投与体群、治療薬非投与体群、及び、偽処置体群の各群における乾湿肺重量比を示した図である。
【発明を実施するための形態】
【００１７】
以下、本発明の実施の形態について、詳細に説明する。
【００１８】

本実施の形態に係る急性心不全モデルは、本実施の形態に係る急性心不全モデルの作製方法により得られたものであり、小動物に対し、輸液と、アドレナリンα１受容体刺激薬（以下、α１刺激薬と言う）と、アンジオテンシンＩＩ（以下、ＡｎｇＩＩと言う）とを投与することにより、肺水腫を伴う急性心不全の病態を生ぜしめたものである。具体的には、例えば、小動物に対し、輸液を持続的に静脈内投与すると共に、α１刺激薬及びＡｎｇＩＩを持続的に静脈内投与することにより得ることができる。これは、輸液の持続的投与により体液量を増加させつつ、これに並行してα１刺激薬及びＡｎｇＩＩを投与して小動物の血圧を上昇させることで、前負荷と後負荷を適度なバランスに調節して加え、小動物に肺水腫を伴う急性心不全を発症させることを可能としたものである。

【００１９】

小動物というのは、一般的に実験使用される動物の中で、体重が４ｋｇ以下の動物を意味している。小動物は、入手や取扱いが容易で、治療薬の投与量も少なく、必要な飼育スペースも小さいなど実験コストの面でも有利である。その一方で、心臓や身体のサイズが小さいことから、手術などの実験操作が難しくばらつきを生じやすい。このため、手術による方法では、病態が制御され、薬物の治療効果の評価に利用可能な急性心不全のモデルを作製することは困難であるが、本実施の形態によれば、急性心不全モデルに使用することが可能である。小動物としては、例えば、ウサギ、モルモット、ラット、又は、マウスが挙げられる。中でも、ラット又はウサギが好ましく、特にウサギが好ましい。小動物の中でも、多くの血行動態指標を比較的精度良く測定することができるからである。

【００２０】

輸液は、小動物に対し一般的に使用できるものであれば特に限らないが、例えば、生理食塩水、５％ブドウ糖液、乳酸リンゲル液、又は、酢酸リンゲル液が挙げられる。中でも、大量に投与した場合にも生体内の電解質バランスが維持されることから、乳酸リンゲル液、又は、酢酸リンゲル液が好ましい。

【００２１】

また、輸液は、電解質及び糖質のうちの少なくとも１種を適宜含んでいてもよい。電解質としては、例えば、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム、塩素、若しくは、リンなどの無機成分の水溶性塩、例えば、塩化塩、硫酸塩、酢酸塩、グルコン酸塩、乳酸塩、又は、グリセロリン酸塩が挙げられる。糖質としては、例えば、ソルビトール、キシリトール、グルコース、フルクトース、マルトース、又は、デキストランが挙げられる。中でも、糖質を含むことが好ましく、ソルビトールを含んでいればより好ましい。電解質及び糖質を加え輸液の浸透圧比を高くすることにより、輸液による前負荷の効果を増加することができ、少ない輸液量でも十分な前負荷を得られるからである。特に糖質を添加した場合、α１刺激薬及びＡｎｇＩＩの投与による血圧上昇に影響しにくいことから、好ましい。糖質としてソルビトールを含む場合、小動物に肺水腫を伴う急性心不全の病態を発症させる目的で、α１刺激薬及びＡｎｇＩＩの投与による後負荷と合わせて、十分な前負荷を得やすい。市販品として入手しやすいことと合わせ、輸液としては、例えば、乳酸リンゲル液にソルビトールを加えたものが最も好ましい。

【００２２】

なお、糖質は、例えば、約２５ｇ／Ｌから７５ｇ／Ｌの範囲内、更には４５ｇ／Ｌから５５ｇ／Ｌの範囲内となるように配合することが好ましい。糖質の配合量が２５ｇ／Ｌより小さい場合、浸透圧比を高くして前負荷を増加する効果を十分に得ることができず、一方、７５ｇ／Ｌより大きい場合、前負荷が過剰となり症状が重篤になりすぎて動物が死亡したり、目的とする病態を得られない可能性があるからである。糖質を４５ｇ／Ｌから５５ｇ／Ｌの範囲内で配合とした場合、α１刺激薬及びＡｎｇＩＩの投与による後負荷とのバランスを調節しやすい。

【００２３】

α１刺激薬は、目的とする小動物において昇圧効果が得られれば特に限定されない。α１刺激薬としては、例えば、メトキサミン、ノルエピネフリン、又は、フェニレフリンが挙げられ、メトキサミンが特に好ましい。メトキサミンはアドレナリンα１受容体への選

択性が高く、実験上不都合な副反応を生じにくいからである。

【００２４】

ＡｎｇＩＩは、目的とする小動物において昇圧効果が得られれば特に限定されない。ＡｎｇＩＩとしては、例えば、ヒトＡｎｇＩＩ、ラットＡｎｇＩＩ、又は、マウスＡｎｇＩＩが挙げられる。また、ＡｎｇＩＩには、ＡｎｇＩＩ受容体に対しアゴニスト作用を有するＡｎｇＩＩアナログも含む。

【００２５】

なお、血圧を上昇させる薬剤としてα１刺激薬とＡｎｇＩＩとを投与することにより、手術を伴わず、輸液による前負荷との組み合わせだけで急性心不全モデルを作製するのに十分な後負荷を得ることができる。一方のみを用いる場合、十分な血圧上昇を得るには過量の薬剤を投与する必要があり、オフターゲットの影響による不都合な副反応を生じやすい。生体内の２つの異なる血圧制御機構を介するα１刺激薬とＡｎｇＩＩとを組み合わせることで、副反応の影響が少ない薬剤量の範囲で十分な血圧上昇を得られるだけでなく、適切な血圧範囲に調整しやすい。さらに、臨床の心不全では、交感神経系とレニン-アンギオテンシン系が亢進していることが知られているため、より臨床を反映したモデルとなっている。

【００２６】

輸液の種類や投与量、並びに、α１刺激薬及びＡｎｇＩＩの投与量は、使用する動物種、試験の目的、被験薬物に合わせた急性心不全の重篤度に応じて調節することが好ましい。例えば、輸液の投与量としては、モデル作製直後のヘマトクリット値が２５％から３２％の範囲となるよう調節することが好ましい。また、α１刺激薬の投与量としては、投与後の収縮期血圧の上昇が１０ｍｇから５０ｍｇの範囲となるよう調節することが好ましい。更に、ＡｎｇＩＩの投与量としては、α１刺激薬に追加して投与した場合に、投与後の収縮期血圧の上昇が１０ｍｇから４０ｍｇの範囲となるよう調節することが好ましい。

【００２７】

例えば、小動物としてウサギを用いる場合であれば、輸液を０．３ｍＬ／ｋｇ／分から０．８ｍＬ／ｋｇ／分で９０分間から２１０分間、α１刺激薬を１０μｇ／ｋｇ／分から３０μｇ／ｋｇ／分で６０分間から１２０分間、ＡｎｇＩＩを０．０１μｇ／ｋｇ／分から０．０５μｇ／ｋｇ／分で４０分間から９０分間投与することが好ましい。また、輸液、α１刺激薬、及び、ＡｎｇＩＩは、各薬剤の投与終了が同時となるよう投与するようにすれば、その後の試験を行いやすいので好ましい。

【００２８】

この急性心不全モデルは、急性心不全治療薬の評価に用いることができる。具体的には、例えば、小動物に対し、輸液と、α１刺激薬と、ＡｎｇＩＩとを投与することにより得た急性心不全モデルに、輸液、α１刺激薬、若しくは、ＡｎｇＩＩを投与しながら、又は、これらの投与を終了した後に、治療薬を投与することにより行う。

【００２９】

治療薬の急性心不全に対する治療効果は、急性心不全により上昇した左心室拡張末期圧（以下、ＬＶＥＤＰと言う）の低下や、試験終了後に摘出した肺の摘出直後の湿重量に対する乾燥後の重量の割合（以下、乾湿肺重量比と言う）の減少により、評価することができる。具体的には、例えば、急性心不全モデルに治療薬を投与した治療薬投与体のＬＶＥＤＰ及び乾湿肺重量比を測定すると共に、急性心不全モデルに治療薬を投与していない治療薬非投与体のＬＶＥＤＰ及び乾湿肺重量比を測定し、それらを比較する。また、小動物に、輸液、α１刺激薬、ＡｎｇＩＩ、及び、治療薬を投与しないことを除き、他は治療薬投与体と同様の処置を行った偽処置体を作製し、偽処置体についても、ＬＶＥＤＰ及び乾湿肺重量比を測定して参照することが好ましい。

【００３０】

このように本実施の形態によれば、輸液と、α１刺激薬と、ＡｎｇＩＩとを投与するようにしたので、輸液により体液量を増加させつつ、α１刺激薬及びＡｎｇＩＩにより血圧を上昇させることができる。よって、前負荷と後負荷とを適度なバランスで調節して加え

ることができ、肺水種を伴う急性心不全を発症させることができる。よって、高度な手技を必要とする手術を行わなくても簡単に、かつ、数十分から数時間と短時間で急性心不全モデルを作製することができ、簡単かつ迅速に急性心不全治療薬の評価を行うことができる。

【００３１】

また、手術により急性心不全モデルを作製しないので、心臓や身体が小さく、手術などの実験操作が難しくてばらつきを生じやすい小動物を使用することができる。よって、急性心不全モデル用の動物の入手や取り扱いを容易とすることができると共に、飼育スペースも小さくすることができ、かつ、治療薬の投与量を少なくすることができる。

【００３２】

更に、輸液の種類や投与量、及び、α１刺激薬とＡｎｇＩＩの投与量を調整することにより、使用する動物種や試験の目的、治療薬に合わせて、急性心不全の重篤度を調節することができる。

【実施例】

【００３３】

（実施例）

本実施例においては、小動物として、２．５ｋｇから３．５ｋｇの日本白色種雄性ウサギを用いた。まず、ウサギに麻酔を行った。具体的には、ウサギの耳静脈内に麻酔薬であるペントバルビタール（３０ｍｇ／ｋｇ）を投与した後、気管に人工呼吸用のカニューレを挿入し、人工呼吸器により換気量５ｍＬ／ｋｇから９ｍＬ／ｋｇ、３０回／分から５０回／分にて呼吸管理を行った。人工呼吸器には吸入麻酔器を連結させ、吸入麻酔薬であるセボフルランを含む空気ガス（２．０％から２．５％）を換気させ吸入麻酔を行った。

【００３４】

次いで、麻酔したウサギの左右大腿静脈に投与用カニューレをそれぞれ挿入した。続いて、右大腿動脈には採血用カニューレを挿入し、各時点における動脈血中のヘマトクリット（以下、Ｈｃｔと言う）を測定した。また、左大腿動脈には動脈血圧測定用カニューレを挿入し、最大値として収縮期血圧（以下、ＳＢＰと言う）を測定した。更に、左心室内圧測定用カテーテルを右頚動脈より挿入して左心室内に留置することで、左心室内圧及びＬＶＥＤＰを測定した。各指標を増幅させた信号を測定用機器（ＰｏｗｅｒＬａｂ、ＡＤＩｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ社製）に入力して連続的に測定し、コンピューターに取り込ませて記録した。

【００３５】

血行動態指標の安定時間を設けた後、輸液、α１刺激薬、及び、ＡｎｇＩＩを投与し、病態の作製を開始した。その際、病態を作製した後に治療薬を投与する治療薬投与体群を６体、病態を作製した後に治療薬を投与しない治療薬非投与体群を８体作製した。また、実際には病態を作製しない偽処置体群を２体から３体作製した。投与は、左大腿静脈より、輸液として糖質であるソルビトールを加えた乳酸リンゲル液（以下、ソルビトール加乳酸リンゲル液と言う）を０．５ｍＬ／ｋｇ／分で１５０分間、α１刺激薬としてメトキサミンを３０μｇ／ｋｇ／分で９０分間、ＡｎｇＩＩとしてヒトＡｎｇＩＩを０．０１μｇ／ｋｇ／分から０．０５μｇ／ｋｇ／分で６０分間実施した。

【００３６】

なお、ソルビトール加乳酸リンゲル液、メトキサミン、及び、ヒトＡｎｇＩＩ、各薬剤の投与終了が同時となるよう投与した。すなわち、ソルビトール加乳酸リンゲル液の投与開始６０分後からメトキサミンの投与を開始し、ソルビトール加乳酸リンゲル液の投与開始９０分後かつメトキサミンの投与開始３０分後からヒトＡｎｇＩＩの投与を開始した。

【００３７】

各群における投与開始前のＨｃｔは３２％から３８％の範囲、ＳＢＰは１２４ｍｍＨｇから１２７ｍｍＨｇの範囲であった。ソルビトール加乳酸リンゲル液の投与開始後は、ソルビトール加乳酸リンゲル液投与による前負荷の増大により、治療薬投与体群及び治療薬非投与体群では、Ｈｃｔが２９％から３５％の範囲まで減少し、ＳＢＰは約５ｍｍＨｇの

微増していた。次いで、ソルビトール加乳酸リンゲル液の投与開始９０分後かつメトキサミンの投与開始３０分後には、ＳＢＰが治療薬投与体群では１５６．８ｍｍＨｇ、治療薬非投与体群では１５４．８ｍｍＨｇまで上昇した。続いて、ソルビトール加乳酸リンゲル液の投与開始１２０分後、メトキサミンの投与開始６０分後、かつ、ヒトＡｎｇＩＩの投与開始３０分後には、ＳＢＰが治療薬投与体群では１８２．１ｍｍＨｇ、治療薬非投与体群では１８６．１ｍｍＨｇまで上昇し、Ｈｃｔは共に２５％から３２％の範囲まで減少していた。

【００３８】

これにより病態を作製したのち、治療薬投与体群では、ヒトＡｎｇＩＩの投与開始３０分後から、治療薬であるニトロプルシドナトリウムを５０μＬ／分の投与速度で３０μｇ／ｋｇ／分となるように生理食塩水で溶解させ、３０分間投与した。また、治療薬非投与体群では、ヒトＡｎｇＩＩの投与開始３０分後から、治療薬の溶媒である生理食塩水を５０μＬ／分で３０分間投与した。

【００３９】

全ての実験終了後、各群について、ペントバルビタールによる過麻酔にて安楽死させ、開胸し、左右の全肺を採取して、乾湿重量比を測定した。乾湿重量比は採取直後の肺重量を７０℃で４８時間以上乾燥させた重量で除することにより算出した。得られた結果を図１、図２、及び、表１に示す。図１は各群におけるＬＶＥＤＰの時間変化を表したものであり、図２は各群の乾湿肺重量比を表したものであり、表１は各群における実験終了時のＨｃｔ、ＳＢＰ、ＬＶＥＤＰ、及び、乾湿肺重量比を表したものである。全ての結果は平均値を示した。

【００４０】

【表１】

	Hct (%)	SBP (mmHg)	LVEDP (mmHg)	乾湿肺重量比
偽処置体群	33.4	120.0	1.3	4.76
治療薬非投与体群	29.2	179.0	26.1	5.33
治療薬投与体群	27.5	132.1	10.4	5.06

【００４１】

実験終了時のＬＶＥＤＰは、偽処置体群では１．３ｍｍＨｇ、治療薬非投与体群では２６．１ｍｍＨｇであった。一方で、治療薬投与体群では、ニトロプルシドナトリウムの投与開始から１０分以内に速やかに８ｍｍＨｇまで低下した後、安定して維持されており、実験終了時には１０．４ｍｍＨｇであった。実験終了直後の肺重量は、偽処置体群、治療薬非投与体群、治療薬投与体群でそれぞれ９．６０ｇ、１０．３７ｇ、９．２９ｇであった。乾燥後の重量は、偽処置体群、治療薬非投与体群、治療薬投与体群でそれぞれ２．０２ｇ、１．９５ｇ、１．８４ｇであった。乾湿肺重量比について、偽処置体群、治療薬非投与体群、治療薬投与体群でそれぞれ４．７６、５．３３、５．０６であった。

【００４２】

このように、本発明の急性心不全モデルである治療薬非投与体群では、偽処置体群に比べ、ＬＶＥＤＰの大幅な上昇が認められた。また、治療薬非投与体群では、心拍出量の低下も認められたことから、心機能が低下した急性心不全状態にあることが確認できた。加えて、治療薬非投与体群では、乾湿肺重量比が上昇していることから、肺水腫の発症を伴った急性心不全様の血行動態を達成していることも分かった。

【００４３】

更に、治療薬投与体群において、ニトロプルシドナトリウムを投与することによりＬＶＥＤＰ及び乾湿肺重量比が改善されたことから、急性心不全症状及び肺水腫が解除されたことが分かる。これにより、輸液、α１刺激薬、及び、ＡｎｇＩＩを投与することにより

得た急性心不全モデルによれば、急性心不全治療薬の効果を評価可能であることが明らかとなった。以上の結果より、本発明は、被験薬物の検査において作用効果の判定が十分可能であり、有用な急性心不全モデル及び急性心不全治療薬の評価方法であると言える。

【００４４】

（比較例）

上記実施例と同様に、小動物として２．５ｋｇから３．５ｋｇの日本白色種雄性ウサギを用い、ウサギに麻酔を行った。次いで、麻酔したウサギの左右大腿静脈に投与用カニューレをそれぞれ挿入した。続いて、左大腿動脈には動脈血圧測定用カニューレを挿入し、ＳＢＰを測定した。更に、左心室内圧測定用カテーテルを右頚動脈より挿入して左心室内に留置することで、左心室内圧及びＬＶＥＤＰを測定した。データはペンレコーダーにより記録し、各指標はノギスを用いて計測した値から算出した。

【００４５】

血行動態指標の安定時間を設けた後、輸液及びα１刺激薬を投与し、病態の作製を開始した。投与は、左大腿静脈より、輸液としてソルビトール加乳酸リンゲル液を０．５ｍＬ／ｋｇ／分で１２０分間、α１刺激薬としてメトキサミンを１７μｇ／ｋｇ／分で６０分間実施した。その際、ソルビトール加乳酸リンゲル液の投与開始６０分後からメトキサミンの投与を開始し、それらの投与終了が同時となるようにした。輸液の投与を開始してからのＳＢＰ及びＬＶＥＤＰの時間変化を表２に示す。

【００４６】

【表２】

比較例	経過時間（分）				
	0	30	60	90	120
SBP (mmHg)	133.4	139.3	139.9	151.2	159.8
LVEDP (mmHg)	5.4	6.1	6.8	11.4	13.2
備考	輸液投与開始		α1刺激薬投与開始		

【００４７】

また、比較のために、上記実施例の治療薬非投与体群における輸液の投与を開始してからのＳＢＰの平均値の時間変化を表３に示す。

【００４８】

【表３】

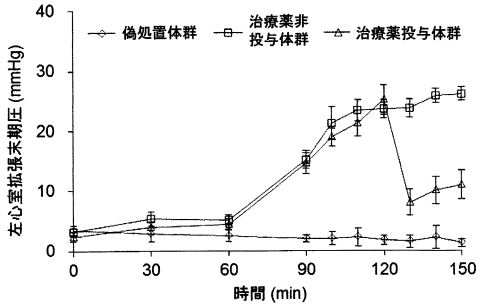
実施例 治療薬非投与体群	経過時間（分）					
	0	30	60	90	120	150
SBP (mmHg)	124.9	128.7	129.1	154.8	186.1	179.0
LVEDP (mmHg)	3.1	5.3	5.1	15.2	23.5	26.1
備考	輸液投与開始		α1刺激薬投与開始	AngII投与開始		

【００４９】

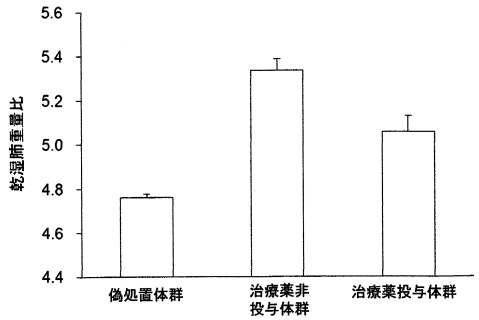
表２及び表３に示したように、上記実施例も比較例も共に、α１刺激薬を投与することにより、ＳＢＰ及びＬＶＥＤＰが同じように上昇したが、上記実施例では、ＡｎｇＩＩを投与することによりＳＢＰ及びＬＶＥＤＰが大幅に上昇したのに対して、ＡｎｇＩＩを投与しない比較例では、わずかな上昇しか見られなかった。すなわち、α１刺激薬に加えてＡｎｇＩＩを投与するようにすれば、より高い効果を得られることが分かった。

【００５０】
以上、実施の形態を挙げて本発明を説明したが、本発明は上記実施の形態に限定されるものではなく、種々変形可能である。例えば、上記実施例では、投与する各薬剤の種類及び投与量を具体的に説明したが、上記実施の形態で説明した他の薬剤および投与量の範囲においても同様の効果を得ることができる。
【産業上の利用可能性】
【００５１】
本発明は、薬物が急性心不全の治療薬として十分な薬理作用を有するか否かを生体で検査することが容易となるため、新規有効成分の新たな急性心不全治療薬としての開発を助けることとなる。また、既存の動物モデル及び評価方法とは異なり、急性心不全様の血行動態増悪と肺水腫を同時に検査可能であるため、既知の医薬品を再評価することにより、新たな長所或いは欠点の発見に繋がる可能性がある。したがって、急性心不全の薬物治療に貢献できるものである。

【図１】



【図２】



フロントページの続き

(56)参考文献 国際公開第２００５／１０４８３３（WO，Ａ１）
特開２００５－２７２４５１（ＪＰ，Ａ）
特表２００８－５３４４３４（ＪＰ，Ａ）
特開２００９－２６９８６９（ＪＰ，Ａ）
特開２００４－２３１５５７（ＪＰ，Ａ）
特開昭６３－０９３７１９（ＪＰ，Ａ）
特開昭６３－０４０５３２（ＪＰ，Ａ）
特開平０９－２７６４０４（ＪＰ，Ａ）
特開平０７－２４２６６４（ＪＰ，Ａ）
国際公開第２０１３／０１２０４９（WO，Ａ１）
国際公開第２０１３／０１８８３７（WO，Ａ１）
特開平０８－１６５２９２（ＪＰ，Ａ）
特開２０１３－２５５４８８（ＪＰ，Ａ）
Journal of Physiology (2002) Vol.544.2, pp.537-548

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ａ０１Ｋ　６７／０２７
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
ＣＡｐｌｕｓ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ／ＷＰＩＤＳ／ＷＰＩＸ（ＳＴＮ）