

令和 4 年 6 月 4 日現在

機関番号：34428

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09446

研究課題名(和文) 脂溶性薬物中毒に対するlipid therapy(解毒療法)の構築

研究課題名(英文) The development of Intravenous lipid emulsion therapy for overdoses of lipophilic drugs

研究代表者

辻 琢己(Tsuji, Takumi)

摂南大学・薬学部・准教授

研究者番号：90454652

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：クロミプラミン(CMI)による急性中毒に対する治療方法(解毒方法)として、脂肪乳剤の静脈内投与(lipid therapy)の有用性に関する基礎的研究を行なった。その結果、lipid therapyによって、1)CMIを血液中に留め、肝臓中及び脳中への移行を抑制できること、CMIの過量投与によって生じる2)体温低下を抑制し、3)不整脈(QT延長等)の発症を抑制できる可能性を示した。これらの結果から、lipid therapyを実臨床に還元するための基盤となる基礎的研究成果を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、脂溶性薬物の過量服用に対する治療方法(解毒方法)として、脂肪乳剤の静脈内投与(lipid therapy)が注目されている。しかし、lipid therapyの最適な投与方法および安全性等は明らかにされておらず、我が国では臨床応用まで辿り着いていない。本研究では、脂溶性薬物として三環系抗うつ薬であるクロミプラミン(CMI)を用いて、lipid therapyの有用性について調べた。得られた結果は、lipid therapyをCMIだけでなく脂溶性薬物中毒全般の治療に還元するための基盤となる成果と考えられる。

研究成果の概要(英文)：We conducted a basic study on the usefulness of intravenous lipid therapy as a treatment (detoxification method) for acute poisoning by clomipramine (CMI). The results showed that lipid therapy could 1) keep CMI in the blood and prevent its transfer to the liver and brain, 2) suppress the decrease in body temperature caused by CMI overdose, and 3) prevent the onset of arrhythmias (QT prolongation, etc.). These results provide the basis for the clinical application of lipid therapy.

研究分野：医療薬学

キーワード：急性薬物中毒 Lipid therapy クロミプラミン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我が国の過量服用による急性中毒で入院した患者は 21,663 人/年に昇っており (医療経済研究機構, 2017), 年々増加傾向にある。特に, 臨床的に問題となるのは, 脂溶性薬物による中毒と考えられる。本申請課題では, 代表的な脂溶性薬剤として三環形抗うつ薬であるクロミプラミン (CMI) を用いて, CMI による中毒症状を軽減できる治療方法の構築を企図した。

脂溶性薬剤の過量服用に対する治療方法 (解毒方法) として, 脂肪乳剤の静脈内投与 (lipid therapy) が注目されている。しかし, lipid therapy の最適な投与方法および安全性等は明らかにされておらず, 我が国では臨床応用まで辿り着いていない。本申請課題では, Wistar 系ラットに CMI による中毒症状を誘発させ, lipid therapy の有効性および安全性について調べた。

2. 研究の目的

本研究では, CMI による急性中毒に対する脂肪乳剤の解毒効果を明らかとすることを目的とした。即ち, CMI を投与した Wistar 系ラットに脂肪乳剤としてイントラリポスを静脈内投与することによって, 下記点について明らかとすることを目的とした。

- (1) CMI の組織への分布を抑制し, 排泄を促進できること
- (2) CMI の中毒症状 (体温低下, 心電図異常等) を抑制できること

3. 研究の方法

(1) Lipid therapy による CMI の組織への分布抑制効果および排泄促進効果

Wistar 系ラット (雌性, 170~200 g) に 100 mg/kg の CMI を経口投与し, CMI による中毒状態を誘導した。これらの個体をイントラリポス群 (n=4, 20%イントラリポス® (Lip) を 2 g/kg とするよう尾静脈より持続静注 (0.12 mL/分)) およびプラセボ群 (n=6, 経過観察) に分けた。CMI 投与後 60 分, 120 分および 240 分の血液中, 脳中および肝臓中の CMI およびその代謝物である DM-CMI の濃度をそれぞれ HPLC で測定した。なお, ラットの麻酔には, 塩酸メドミジン 0.0375 mg/mL, ミダゾラム 0.2 mg/mL および酒石酸ブトルファノール 0.25 mg/mL とするよう生理食塩液で調整した三種混合麻酔薬を体重 100 g あたり 0.5 mL 腹腔内投与した。

血液中の濃度測定は, 予め分離した血清を 100 μ L 加えたサンプリングチューブに 100% エタノールを 350 μ L および内部標準物質 (IS) としてシサプリドのエタノール溶液 (20 μ g/mL) を 50 μ L 加えよく攪拌した。その後, 2,000 rpm, 4 分, 10 分で遠心分離した。得られた上清のうち 200 μ L を別のサンプリングチューブに取り, 13,000 rpm, 4 分, 10 分で遠心分離し, 上清を HPLC で分析した。また, 脳中および肝臓中の濃度測定は, 脳 (大脳皮質) あるいは肝臓をサンプリングチューブに 100 mg 秤量し, 350 μ L の 100% エタノールを加えホモジナイズした。続いて, 50 μ L の IS (シサプリドのエタノール溶液 (20 μ g/mL)) を加え, 2,000 rpm, 4 分, 10 分で遠心分離した。得られた上清のうち 200 μ L を別のサンプリングチューブに取り, 13,000 rpm, 4 分, 10 分で遠心分離し, 上清を HPLC で分析した。さらに, 血液中濃度から平均滞留時間 (MRT) を算出した。

(2) Lipid therapy による CMI の中毒症状抑制効果

体温低下抑制効果

Wistar 系ラット (雌性, 170~200 g) に 100 mg/kg, 400 mg/kg あるいは 500 mg/kg の CMI を経口投与し, CMI による中毒状態を誘導し, i) ~ vii) の 7 群に分け, 直腸温を CMI 投与後 90 分後まで 10 分毎に測定した。) コントロール群 (n=5),) 100 mg/kg 群 (n=4, 100 mg/kg CMI, 経口投与),) 400 mg/kg 群 (n=5, 400 mg/kg CMI, 経口投与),) 500 mg/kg 群 (n=6, 500 mg/kg CMI, 経口投与),) 100 mg/kg + Lip 群 (n=5),) 400 mg/kg + Lip 群 (n=6) および) 500 mg/kg + Lip 群 (n=5)。なお, Lip を投与する群では, イントラリポス (2 g/kg) を静脈内投与した。直腸温の測定は, ラットを保定器に入れ, 無麻酔下, エー・アンド・ディ動物体温記録系およびラット用プローブを用いて測定した。

心電図異常抑制効果

Wistar 系ラット (雌性, 170~200 g) に 100 mg/kg あるいは 500 mg/kg の CMI を経口投与し, CMI による中毒状態を誘導し, i) ~ v) の 5 群に分け, 心電図を CMI 投与後 25~100 分後まで 5 分毎にモニタリングした。) コントロール群 (n=5),) 100 mg/kg 群 (n=5, 100 mg/kg CMI, 経口投与),) 500 mg/kg 群 (n=5, 500 mg/kg CMI, 経口投与),) 100 mg/kg + Lip 群 (n=5) および) 500 mg/kg + Lip 群 (n=5)。なお, Lip を投与する群では, イントラリポス (2 g/kg) を静脈内投与した。麻酔下, ラットの四肢に電極を繋げ, 心電図を測定した。測定項目は, CMI の副作用の報告に QT 延長などの心電図異常が示されているため, 心拍数 (HR), QRS および QTc の 3 波形を測定した。なお, ラットの麻酔には, 塩酸メドミジン 0.0375 mg/mL, ミダゾラム 0.2 mg/mL および酒石酸ブトルファノール 0.25 mg/mL とするよう生理食塩液で調整した三種混合麻酔薬を体重 100 g あたり 0.5 mL 腹腔内投与した。心電図の測定は, 株式会社ソフトロン

(東京)心電図波形解析ソフト(SP2000),心電図計(EP95U),動物用心電図アンプ(ECG AMP2)から構成されるソフトロン ECG プロセッサーを用いた。

4. 研究成果

(1) Lipid therapy による CMI の組織への分布抑制効果および排泄促進効果

CMI 投与 60 分後の血液中 CMI (図 1a)濃度は, イントラリポス群では $4.7 \pm 0.7 \mu\text{g/mL}$ であり, プラセボ群 ($1.7 \pm 0.4 \mu\text{g/mL}$) と比較して有意 ($P < 0.01$) に高値を示した。また, 投与 120 分後では, イントラリポス群: $3.5 \pm 2.0 \mu\text{g/mL}$, プラセボ群: $2.4 \pm 0.8 \mu\text{g/mL}$, 240 分後では, イントラリポス群: $2.2 \pm 1.2 \mu\text{g/mL}$, プラセボ群: $2.7 \pm 1.4 \mu\text{g/mL}$ と両群間に有意な差はみられないものの, 投与 120 分後まではイントラリポス群がプラセボ群と比較して高値を示す傾向がみられた。一方, DMCMCMI (図 1b) の血液中濃度は, 投与 60 分後ではプラセボ群と比較してイントラリポス群で有意 ($P < 0.05$) に高値を示したが, 投与 120 分後および 240 分後では, 両群間で有意な差はみられず, 時間の経過による濃度の変化もほぼみられなかった。一方, CMI 投与 120 分後の脳中 CMI (図 1c) 濃度は, イントラリポス群では $71 \pm 40 \mu\text{g}/100 \text{mg}$ であり, プラセボ群 ($116 \pm 40 \mu\text{g}/100 \text{mg}$) と比較して低い傾向がみられた。また, 投与 120 分後の肝臓中 CMI (図 1e) 濃度は, イントラリポス群では $222 \pm 127 \mu\text{g}/100 \text{mg}$ であり, プラセボ群 ($490 \pm 186 \mu\text{g}/100 \text{mg}$) と比較して有意 ($P < 0.05$) に低く, 組織への移行が抑制された。投与 240 分後では, 各組織内濃度は低下するものの, 両群間で差はみられなかった。組織内 DMCMCMI (図 1d, f) 濃度については, 脳および肝臓のどちらにおいても有意ではないものの, イントラリポス群がプラセボ群と比較して低い傾向を示した。

さらに, 血液中濃度から平均滞留時間(MRT)を算出した結果, イントラリポス群の MRT は $59.2 \pm 18.4 \text{ min}$ であり, プラセボ群 ($96.8 \pm 20.2 \text{ min}$) と比較して有意 ($P < 0.05$) に短縮された。

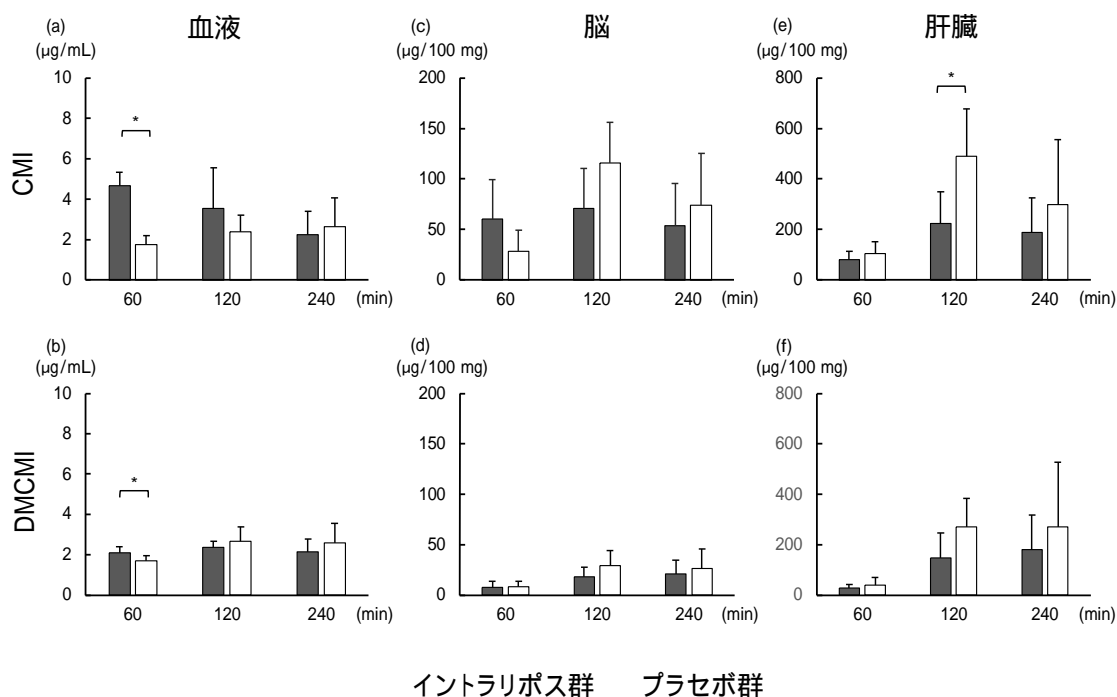


図 1 血液中, 脳中および肝臓中の CMI および DMCMCMI 濃度

(2) Lipid therapy による CMI の中毒症状抑制効果

体温低下抑制効果

コントロール群の体温は, 観察時間を通して大きな変化はみられなかった(0分; 37.3 ± 0.1 90分; 37.7 ± 0.2)。それに対して, 400 mg CMI 群および 500 mg CMI 群では, 投与後, 徐々に体温の低下がみられ, 投与 30 分以降, コントロール群と比較して, 有意 ($P < 0.05$) な低下がみられた。一方, 400 mg/kg + Lip 群および 500 mg/kg + Lip 群では, Lip の投与によって, 体温の低下が抑制された。具体的には, 500 mg/kg + Lip 群では, 0 分で 37.9 ± 0.2 であった体温が 40 分までに 36.1 ± 0.4 まで低下したが, それ以後低下はみられなかった。さらに, 400 mg/kg + Lip 群では, 0 分で 38.2 ± 0.1 であった体温は, 観察時間を通して低下はみられず, 90 分でもコントロールレベル (37.4 ± 0.3) に維持された。100 mg/kg CMI 群では, 投与 50 分以降に上昇がみられたが, この理由については, 今後, 詳細に検討する予定である (図 2)。

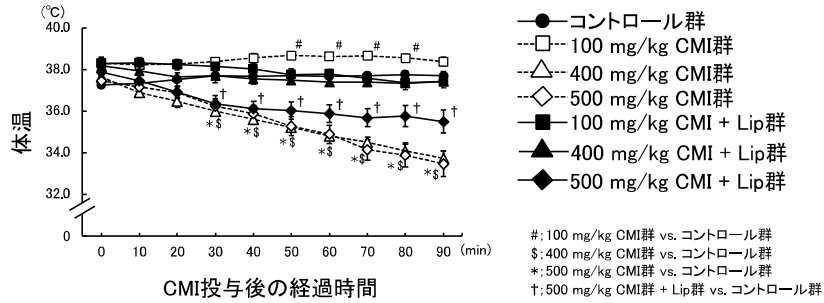


図2 CMI投与後の体温の推移

心電図異常抑制効果

コントロール群の心拍数 (HR) は、心電図測定開始後徐々に低下がみられた (25 分; 237 ± 11 回/分 100 分; 186 ± 21 回/分)。100 mgCMI 群の HR は、観察時間を通して低下はみられず ($241 \pm 8 \sim 278 \pm 11$ 回/分)、65 分以降でコントロール群と比較して有意 ($P < 0.05$) に高値であった。一方、500 mgCMI 群の HR は、観察時間を通して低下し (25 分; 264 ± 10 回/分 100 分; 104 ± 4 回/分)、75 分以降でコントロール群と比較して有意 ($P < 0.05$) に低値であった。このことから、CMI 投与により頻脈あるいは徐脈が生じていると考えられた。100 mgCMI+Lip 群および 500 mgCMI+Lip 群の HR は、コントロール群と比較して有意な増加や減少はみられなかった (図 3a)。

QRS については、500 mg/kg 群では、測定開始後から延長がみられ (25 分; 37 ± 4 msec 75 分; 69 ± 14 msec)、コントロール群 (25 分; 21 ± 2 msec 75 分; 24 ± 3 msec) と比較して有意 ($P < 0.05$) に延長した。一方、100 mg/kg 群、100 mg/kg+Lip 群および 500 mg/kg+Lip 群では、観察時間を通して延長はみられず、コントロール群と同レベルに維持されていた (図 3b)。

さらに、QTc については、500 mgCMI 群では、観察時間を通して延長がみられ (25 分; 209 ± 7 msec 100 分; 256 ± 4 msec)、コントロール群 (25 分; 194 ± 4 msec 100 分; 209 ± 8 msec) と比較して有意 ($P < 0.05$) に延長した。一方、100 mg/kg 群、100 mg/kg+Lip 群および 500 mg/kg+Lip 群では、観察時間を通して延長はみられず、コントロール群と同レベルに維持されていた (図 3c)。

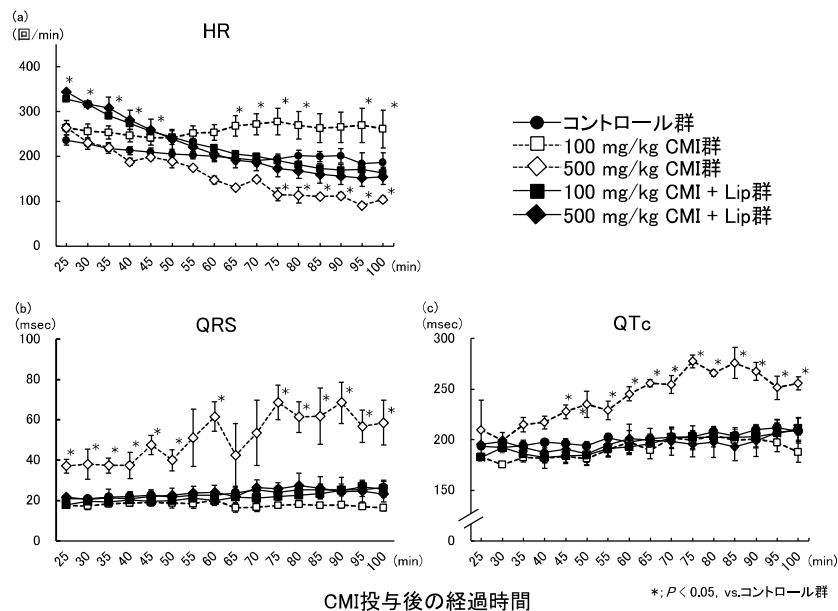


図3 CMI投与後の心電図 (HR, QRS, QTc) の推移

(3) 今後の課題 (展望)

本研究の結果から、血液中に吸収された CMI はイントラリポスの投与により、組織 (脳や肝臓) への移行が抑制され、排泄が促進される可能性が示された。また、明らかに体温の低下を抑制できることも示された。さらに、CMI の過量投与によって生じる HR の増減や QT 延長等の不整脈の発症を抑制できることが示唆された。これらの結果は、救命処置に有効であることを示唆しており、CMI だけでなく脂溶性薬物全般の中毒症状の治療に応用できる可能性がある。一方で、今回の結果は、体温低下や心電図異常が生じる前にイントラリポスの投与を開始している。即ち、

実臨床への応用を考慮した場合、それらの症状が生じた後にイントラリポスを投与し、症状を改善/軽減できること明らかとする予定である。

Weinberg らは、ラットモデルにおいて、ブピバカインによる心毒性は脂肪乳剤の投与により減少したことを報告している¹⁾。Fettiplace ら²⁾も、ラットモデルを用いたブピバカイン誘発性心毒性に対して、脂肪乳剤を投与した結果、用量依存的に血行動態の回復がみられたことを報告している。これらの他にも、揮発性の麻酔薬からの回復を促進する等の報告が複数存在するが、急性薬物中毒に対する有用性や安全性についての報告は少ない。松本らは、脂肪乳剤の投与が脂溶性薬物による心肺停止患者の自然循環を回復させ、脂溶性薬物の血中濃度を低下させたことを報告している³⁾。一方、Chai らは、ラットモデルにおいて、コカインによる心停止は脂肪乳剤を投与しても減少させることはできないことを報告している⁴⁾。

これらのことから本研究によって、lipid therapyの有効性および安全性が明らかとなれば、脂溶性薬剤全般に適応できる可能性があり、これまでにはない救命治療が可能となる。これによる臨床的意義は極めて大きいと考えられる。

<引用文献>

- 1) Weinberg GL, VadeBoncouer T, Ramaraju GA, GarciaAmaro MF, Cwik MJ. Pretreatment or resuscitation with alipid infusion shifts the dose-response to bupivacaine-induced asystole in rats. *Anesthesiology* 1998; **88**: 1071-5.
- 2) Fettiplace MR, Akpa BS, Ripper R, Zider B, Lang J, Rubinstein I, Weinberg G. Resuscitation with lipid emulsion: dose-dependent recovery from cardiac pharmacotoxicity requires a cardiotoxic effect. *Anesthesiology* 2014; **120**: 915-925.
- 3) Matsumoto H, Ohnishi M, Takegawa R, Hirose T, Hattori Y, Shimazu T. Effect of lipid emulsion during resuscitation of a patient with cardiac arrest after overdose of chlorpromazine and mirtazapine. *Am. J. Emerg. Med.* 2015; **33**: 1541. e1-2.
- 4) Chai PR, Hack JB. Intravenous lipid emulsion in the resuscitation of cocaine-induced cardiovascular arrest in a rat model. *Am. J. Emerg. Med.* 2016; **34**: 1452-4.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 安井真帆, 兼行佑奈, 山田祐衣, 辻琢己, 吉田侑矢, 河野武幸
2. 発表標題 クロミプラミン投与ラットにおける急性薬物中毒に対する脂肪乳剤(イントラリポス)の 解毒効果に関する研究 - 第3報 -
3. 学会等名 第69回日本薬学会関西支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安井真帆, 兼行佑奈, 山田祐衣, 辻琢己, 吉田侑矢, 河野武幸
2. 発表標題 クロミプラミン投与ラットにおける急性薬物中毒に対する脂肪乳剤(イントラリポス)の解毒効果に関する研究-第4報- ~ 脂肪乳剤と利尿薬の併用療法の有用性~
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 辻琢己, 増田彩花, 安井真帆, 田中雅幸, 吉田侑矢, 河野武幸
2. 発表標題 クロミプラミン投与ラットにおける急性薬物中毒に対する脂肪乳剤(イントラリポス)の解毒効果に関する研究-第5報- 脂肪乳剤による不整脈の発症抑制効果
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

摂南大学薬学部 病態医科学研究室ホームページ
http://www.setsunan.ac.jp/~p-rinsho/

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	河野 武幸 (Kohno Takeyuki)		
研究協力者	吉田 侑矢 (Yoshida Yuya)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------