

# 日本医療研究開発機構 創薬基盤推進研究事業 事後評価報告書

## I 基本情報

補助事業課題名： ウェアラブルデバイスを用いたハイスループット毒性解析システムの開発  
High-throughput Toxicity Analysis System Using a Wearable Device

実施期間：令和2年12月1日～令和5年3月31日

補助事業担当者 氏名：大久保 佑亮  
Yusuke Okubo

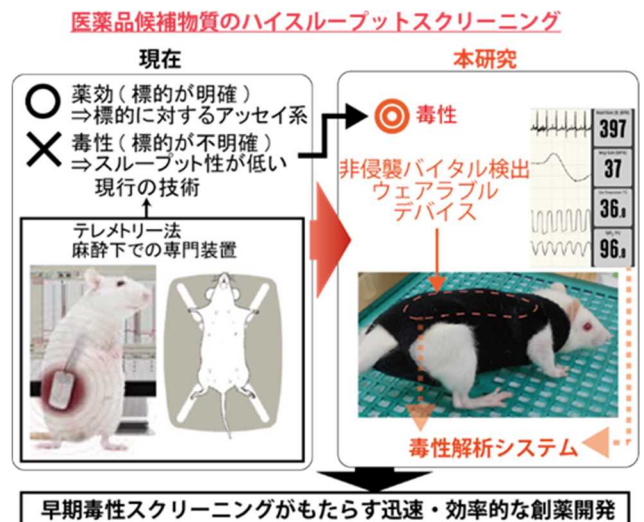
補助事業担当者 所属機関・部署・役職：  
国立医薬品食品衛生研究所・安全性生物試験研究センター・毒性部・主任研究官  
Senior researcher, Division of Cellular and Molecular Toxicology, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences

## II 補助事業の概要

### 研究開発の目的

本研究は、ラット用ウェアラブルデバイスを開発し創薬の初期段階から心血管・呼吸・中枢影響などの毒性情報の取得を目指す。標的とそれに対するアッセイ系が明確な薬効試験に対して、標的が不明確な毒性試験はスループット性の高い試験の実施は困難である。致死性の毒性解析に限ってみても、高度な手術技術・術後回復期間を要すテレメトリー法、もしくは大型で高価な専用機器を用いた試験者がかかりきりで解析するモニタリングシステムしがなく、スループット性が低い。そのため、致死性の毒性解析は後回しとなり、開発中止リスクを早期に回避することが出来なくなっている(図1左)。

本研究では、覚醒下非拘束ラットから連続した心血管・呼吸・中枢影響を解析可能な、世界初のラット用ウェアラブルデバイスを開発する。創薬の初期



段階の薬効スクリーニング時にこのシステムを組み込むことで、薬効と毒性を迅速かつ効率的にスクリーニング可能な医薬品開発にパラダイムシフトを起こす基盤技術を創出する(図1右)。

## 研究開発計画

本研究事業では、ラット用のパルスオキシメーター、心電計、体温計、6軸加速度センサーを開発する。これらのデバイスは個別に最適化、小型化した後に統合する。また、開発を加速するために、バイタルをリアルタイム表示するソフトウェアを開発する。開発したデバイスを用いて覚醒下非拘束のラットから心電・心拍数・血中酸素飽和度(SpO<sub>2</sub>)・呼吸数・体温・活動量・一般状態を同時に定量測定し、薬剤影響を捉える。

## 研究開発の成果

### 1) パルスオキシメーターの開発

パルスオキシメーターの原理は、赤血球内のヘモグロビンが酸化型・還元型によって赤色光の吸収率が異なることを利用し、変動が大きい赤色光と変動が小さな赤外光の2色の波長を皮膚に当てた反射光(透過光)の値を利用するものである。また、反射光の値は生体組織や静脈血ではほぼ一定の値で減衰するが、脈動する動脈血内の値は変動する。したがって、ヘモグロビンの性質とこの周期的な変動を捉えることで、動脈血における脈波とそれに基づいた SpO<sub>2</sub> が算出可能となる。このデバイス開発の肝は、ヒトとは異なり動きが制御できないラットから正確な脈波を取ることである。したがって、パルスオキシメーターの小型化・最適化、ノイズ除去法の開発、脈波値の信頼性の評価法を開発した。また、開発を加速するために、バイタルをリアルタイム表示するソフトウェアを開発した。

図1：薬効と毒性の同時スクリーニングによる迅速かつ効率的な医薬品開発の基盤技術。

小型化に関しては、我々が過去に開発したパルスオキシメーターの素子を見直し回路を再設計することで、ラットに装着するパルスオキシメーターの面積を約半分程度に小型化した。また、最適化に関しては、LEDとPD(Photodiode)の距離、LEDの種類と明るさ(電流値)を検討した。さらに、パルスオキシメーターは作製したデバイスごとに微調整が必要であり、その作業が負担であった。そこで、皮膚組織を模擬した生物模型を自作し、簡便な微調整法を開発した。

開発したデバイスを装着した覚醒化非拘束ラットから24時間の連続計測を行い、同時にラットの様子を赤外線搭載カメラで撮影した。その結果、ラットの体動が大きい時間は測定値の変動が大きく、体動が測定結果に大きく影響を与えることが明らかになった。そこで、6軸加速度センサーを搭載した新型パルスオキシメーターを用い、加速度によるラットの体動強度を算出した。体動強度の閾値を設定することで、体動ノイズの軽減を試みた。その結果、一定程度のノイズ軽減効果が認められた。

これら開発したデバイスやソフトウェアを用いて、8週齢SDラットに蒸留水及び薬剤A、Bをそれぞれ経口投与し、24時間の脈拍数、呼吸数、SpO<sub>2</sub>を測定し、薬理作用を確認した。

### 2) 心電計の開発

心電計の開発では、まず市販のヒト用の評価ボードを参考に、以下の点をラット用に改良した。①柔軟基盤上にヒト用の評価ボードと同様の回路を作製した。②ノイズ除去のために、周波数特性をラット用に改良した。③電極(金属製の針)の位置を本ウェアラブルデバイスシステムに適した位置に変更した。

①～③の検討の結果、有線の自作の心電計を用いて、麻酔下ラットから心電計測に成功した。次に、電極の検討を行った。保持力が高く皮膚との接触抵抗が低い電極として、手術用のクリップを銀メッキしたものを用いた。その結果、麻酔下ラットにおいて、心電計測に成功した。最後に、作製した心電計の無線化を試みた。心拍数の早いラットから良好な心電波形を計測するためには Bluetooth Low Energy(BLE)の通信速度を向上させる必要がある。我々は BLE の通信速度を 2ms 間隔まで向上させることに成功した。この BLE 通信システムを用いて、両面の回路設計による心電計の無線化を試みた。その結果、麻酔下ラットから心電波形の計測には成功した。しかしながら、Covid-19 及びロシアウクライナ戦争の影響で半導体不足問題が生じ、開発スピードが想定を下回った。今後、良好な波形を得るためにはフィルターの設定など、多くの検討事項が必要である。

### 3) 体温計の開発

商用のサーミスタを利用し、まずは有線の小型体温計を作製した。その性能を検証するために、商用の直腸温度計と作製した体温計を比較した。麻酔下 SD ラットに体温低下作用が知られている薬剤 C を経口投与し、連続計測を行った。その結果、両温度計は相関係数  $R=0.98$  で同等の値を示すことが明らかになった。次に、BLE を用いて開発した体温計の無線化・小型化を試み、ウェアラブル化に成功した。覚醒下 SD ラットに薬剤 C を経口投与し、表面体温を連続測定した。薬剤 C 投与により体温は、投与後約 1.5 時間までは上昇し、その後 3 時間まで低下した。約 6 時間後から体温は徐々に上昇した。この結果は、サーモカメラを用いた計測により薬剤 C の経口投与直後は体温が上昇すること及び、薬剤 C は体温低下作用が報告されているこれまでの報告と一致している。

### 4) 一般状態計測装置の開発

6 軸加速度センサーをラットに装着し、ビデオ撮影から行動・振舞いを自動認識するシステムの結果と突合せ、活動量及び一般状態判定法を開発した。活動量に関しては、6 軸加速度センサーの合成加速度を用い、映像からその閾値を設定し、閾値を超した時間を活動量と定義した。薬剤 A、B の投与により活動量の変化をとらえることに成功した。

判定する一般状態として Y を選択し、薬剤誘導性の Y の検出法を開発した。6 軸加速度センサーから得られるデータを基に、Y と非 Y を分類し機械学習に用いる教師データを作成した。機械学習を進め、6 軸加速度情報から Y を判別可能なプログラムを作製した。

### 5) デバイスの統合化

これまでに開発してきた、パルスオキシメーター、体温計、6 軸加速度センサーを 1 つの装置として再設計・最適化することで各情報を同時にリアルタイムで表示可能なバイラルサイン計測システムを開発した。

## まとめ

本研究事業では、ラット用のパルスオキシメーター、心電計、体温計、6 軸加速度センサーを開発し、心電計以外のデバイスを統合した。また、バイタルをリアルタイム表示するソフトウェアを開発し、覚醒下非拘束のラットから脈拍数・ $SpO_2$ ・呼吸数・体温・活動量を同時に定量測定することに成功した。

また、これらのシステムを用いて、数種類の薬剤を用いてバイタルに対する薬剤影響を捉えた。最後に、一般状態 Y の加速度データを用いた機械学習により、Y の判別方法を開発した。今後は、さらに判別可能な一般状態の種類を増やし、本システムを用いた次世代型の毒性試験法を構築する。

## Purpose of Research and Development

This research aims to construct a wearable device for rats that facilitates early-stage drug toxicity information acquisition, focusing on cardiovascular, respiratory, and central nervous system effects. The challenge lies in conducting high-throughput toxicity studies with undefined targets, unlike clear-targeted drug efficacy studies.

Within this project, we plan to develop a rat-specific pulse oximeter, electrocardiograph, thermometer, and a 6-axis acceleration sensor. The integration of this system during early-stage drug screening will pave the way for a paradigm shift in drug development, expediting the screening process for drug efficacy and toxicity.

## Results of Research and Development

**Pulse Oximeter Development:** A miniaturized, optimized pulse oximeter was developed, accompanied by noise cleansing and pulse wave value reliability evaluation methodologies. Real-time vitals display software was also developed to accelerate the device development process. Using the developed tools, we confirmed pharmacological effects by administering distilled water and drugs A and B to 8-week-old SD rats, respectively, and recording pulse rate, respiratory rate, and SpO<sub>2</sub> over 24 hours.

**Electrocardiograph Development:** Rat-specific modifications were implemented in a commercially available evaluation board for humans. These changes included fabricating a similar circuit on a flexible substrate, adjusting frequency characteristics to eliminate noise, and repositioning the electrode. We successfully recorded electrocardiograms from anesthetized rats, yet future improvements in filter settings are necessary to optimize waveforms.

**Thermometer Development:** A compact, wireless thermometer was designed using BLE technology. The device's application on awake SD rats following the oral administration of drug C consistently measured surface body temperature, corroborating previous findings on drug C's temperature-altering effects.

**General Condition Measurement Device Development:** A 6-axis acceleration sensor was fitted to rats and compared with a behavior-recognition system based on video recordings, paving the way for activity level and general condition evaluations. Machine learning algorithms were developed to classify acceleration data into general condition Y and non-Y categories.

## Conclusion

We successfully developed a rat-specific pulse oximeter, electrocardiograph, thermometer, and a 6-axis acceleration sensor within this research project. Other devices were integrated except for the electrocardiograph, and a software displaying real-time vitals was also designed. These innovations enabled the simultaneous acquisition of pulse rate, SpO<sub>2</sub>, respiration rate, body temperature, and activity level measurements from unrestrained, awake rats. Using the systems, we recorded drug effects on vital signs with various drugs. Machine learning algorithms were also developed to classify

acceleration data. Future research will extend the classifiable general states and evolve next-generation toxicity testing methods using this system.