

氏名	中江裕子 なかえひろこ
学位の種類	薬学博士
学位記番号	論薬博第225号
学位授与の日付	昭和54年11月24日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	Procainamide ethobromide 類の肝胆系輸送に関する研究

論文調査委員 (主査) 教授 瀬崎 仁 教授 岡田壽太郎 教授 高木博司

論文内容の要旨

肝臓は薬物の生体内挙動において、極めて重要な位置を占めており、そこでの薬物の分布、移行、とくに、能動輸送という特殊な物質輸送機構を含む胆汁排泄過程を検討することは、生物薬剤学的に意義が大きい。

薬物の能動的胆汁排泄には、少なくとも、酸性薬物、塩基性薬物、および中性薬物の三種類について、異なった経路が存在するといわれている。著者はこれらのうち、従来あまり研究の行われていなかった塩基性薬物について、Procainamide ethobromide (PAEB) 類をモデル薬物として、肝胆系輸送過程を、とくに膜移行という観点から検討し、その特質を明らかにするべく本研究を行った。

(I) In vivo における肝胆系移行

PAEB および acetyl procainamide ethobromide (APAEB) のほかに、比較の意味で quinine および neutral red を選び、Wistar 系雄性ラットに静注した後、血液、肝臓および胆汁を採取し、薬物濃度を測定したとこと、これら薬物の肝中濃度/血中濃度比 (L/P 比) は、それぞれ 2.2, 1.7, 39, 7.4 となり、胆汁中濃度/肝中濃度比 (B/L 比) は、13.6, 13.4, 14.6, 30.2 となった。また、これらの薬物は互いに胆汁排泄を阻害しあったため、共通の輸送経路を介していることが示された。

このような濃度勾配に逆らった血液から胆汁に至る輸送は、投与量の増大につれ、胆汁中濃度/血中濃度比の減少することが知られており、酸性薬物については、肝細胞から胆汁中への排泄過程が飽和するためといわれている。しかしながら、APAEB を用いその移行を検討したところ、酸性薬物と異なり、血中から肝臓へのとりこみ過程が律速段階であることが明らかとなった。

(II) 肝臓へのとりこみ過程

(I) で観察された、L/P 比が 1 より大きな肝臓へのとりこみ過程を、肝切片および肝遊離細胞を用いる in vitro 実験系により検討した。肝切片へのとりこみは、切片中濃度/外液濃度比が、PAEB で 3 以上、quinine では 18 に達し、濃度勾配に逆らったとりこみが観察された。しかし、PAEB のとりこみは、窒素気流下や dinitrophenol により阻害されることが知られているのに対し、quinine では、これらの条件下

および過剰の PAEB の存在によっても顕著なとりこみ阻害は認められなかった。このような PAEB と quinine のとりこみ過程の差異は、肝遊離細胞においても観察され、塩基性薬物のとりこみ機構が一種ではないことが、示唆された。

また、とりこみに関与する因子として、酸性薬物において、肝細胞質 Y、Z 結合蛋白が考えられているため、これらとの結合について検討したが、酸性薬物と異なり、PAEB, quinine 共、Y、Z 蛋白との結合は認められず、これらの結合蛋白は塩基性薬物の輸送には関与していないと考えられた。

そこで次に肝とりこみにおける肝原形質膜の寄与を明らかにするため、in vivo でラット門脈より各種試薬を注入し、APAEB の肝胆系輸送に及ぼす影響について検討したところ、SH 試薬である p-chloromercuribenzenesulfonate および p-chloromercuribenzoic acid による L/P 比の減少、すなわち、とりこみ阻害効果が認められた。この効果は、受動的にとりこまれる sulfanilamide では認められなかったため、APAEB のとりこみに、SH 基の関与する特異な機構が存在していることが示唆された。

(Ⅲ) 胆汁排泄過程

肝臓より胆汁中への能動的排泄過程は、ラット総胆管より毛細胆管内に各種試薬を逆注入する方法により、酸性薬物についてすでに多くの知見が得られている。そこで、APAEB の輸送に対する、界面活性剤、SH 試薬、NH₂ 試薬等の逆注入の影響を検討したところ、これらの試薬は、B/L 比を著しく抑制し、能動的排泄が阻害されること、および SH 試薬の効果が、酸性薬物に対するよりも強く、SH 基が排泄機構に大きく関与していることが示された。

次に、界面活性剤処理により蛋白が可溶化されることを利用し、APAEB の能動的排泄に関与する成分を見出すことを試みた。すなわち、蛍光 SH 試薬である N-[p-(2-benzimidazolyl)phenyl]-maleimide (BIPM) を総胆管から逆注入すると、APAEB の胆汁排泄が阻害されたため、ラットをあらかじめ BIPM で処理し、次に Triton X-100 を逆注入して胆汁試料を得、ゲル透過およびゲル電気泳動により試料の分析を行った。その結果、BIPM は、Triton X-100 により可溶化された、電気泳動ゲル上の主蛋白バンドと結合していることが明らかとなり、このバンド蛋白が能動排泄に関与している可能性が示唆された。

以上、塩基性薬物の肝胆系輸送について、血中から肝細胞へのとりこみ過程および肝細胞より胆汁中への排泄過程に着目し、検討を行ったが、ここに得られた結果は、塩基性薬物の肝臓への分布、排泄など薬物の生体内挙動を検討する上で、有用な基礎的知見となりうるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究は、procainamide ethobromide 類を中心とする塩基性薬物のラット肝胆系輸送過程に関するものである。

酸性薬物の肝胆系輸送機構については従来からかなりの検討が進められていたが、塩基性薬物を対象とした研究は比較的少なく、血中から肝臓へのとりこみ過程、肝臓から胆汁中への排泄過程のかなりの部分が未知の状態にある。本研究ではまず、procainamide ethobromide の肝胆系輸送では、酸性薬物の場合とは異なり、肝臓へのとりこみ過程の方が律速であることを明らかにし、各種の in vitro 実験及び新たに開発した門脈注入法を用いて、これが SH 基の関与する特異な機構であることを証明した。また、肝臓

より胆汁中への能動的排泄過程については、総胆管より毛細胆管内に各種の試薬を逆注入する方法により、塩基性薬物の胆汁排泄においては、蛋白質の官能基、とくに SH 基が関与していることを明らかにすると共に、蛍光 SH 試薬を用い、Triton X-100 処理により可溶化された蛋白質中に、塩基性薬物の能動輸送に関与していると思われる成分の存在することを認めた。

以上の諸知見は生物薬剤学的にも重要な価値を有するものである。

よって、本論文は薬学博士の学位論文として価値あるものと認める。