

氏 名	にしむらますひろ 西村 益 浩
学位(専攻分野)	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	論 薬 博 第 596 号
学位授与の日付	平成 10 年 11 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 題 目	高タンパク結合性高肝クリアランス薬物の肝局所動態と肝臓における光学異性体認識に関する研究

(主査)

論文調査委員	教授 中川 照 眞	教授 佐治 英 郎	教授 高倉 喜 信
--------	-----------	-----------	-----------

論 文 内 容 の 要 旨

生体に投与された薬物の全身動態および薬効を解明する上で、特定臓器での局所動態を把握することは細胞レベルの動態との関連において重要である。特に肝臓は薬物の処理に関与する多様な機能を有しているので詳細に研究されている。一方、プロモスルフォフタレインやタウロコール酸のような物質は血清タンパク質、特に血清アルブミンと強く結合するにもかかわらず肝組織に速やかに移行することが知られている。しかし、このような高い血清アルブミン結合型薬物がどのようにして肝組織に移行するのかを詳細に調べた研究はほとんど報告されていない。そこで著者は高尿酸血症の治療薬として開発が進められているラセミ体薬物BOF-4272をモデル薬物として用いて、瞬時投与によるラット肝灌流実験系により高タンパク結合性高肝クリアランス薬物の肝組織への移行機構を研究した。更にBOF-4272の各光学対掌体(R体およびS体)を用いた37℃での肝灌流実験において、灌流液中に牛血清アルブミン(BSA)を含まない場合にはR体とS体の肝消失に差がないのに対して、BSAを含む場合にはR体の消失がS体のそれより有意に大きくなることを見出し、この現象の機構について合理的な説明を試みた。

I. 薬物の肝局所動態解析におけるDispersionモデルおよび局所モーメント

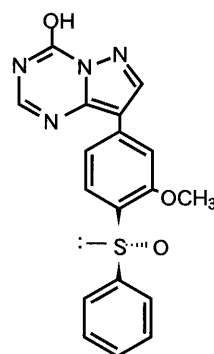
高タンパク結合性にもかかわらず肝臓での消失が大きいモデル薬物としてラセミ体BOF-4272を用いて、37℃での灌流実験から得られた薬物溶出濃度-時間経過をモーメント解析あるいはモデル解析することにより肝局所動態を評価した。モデル解析はdispersionモデルに基づいて、ラプラス逆変換(FILT)を組み込んだ非線型最小二乗法解析プログラムMULTI(FILT)により、あてはめ計算を行った。BOF-4272の肝溶出濃度-時間曲線下面積は、肝臓あたりの投与量62.5~500 μ gの範囲で投与量に比例しており肝平均通過時間はこの間で一定であった。このことから、BOF-4272の肝局所動態はこの投与量の範囲内では線型であることが分った。

II. 血清アルブミンと高タンパク結合性薬物の肝局所動態

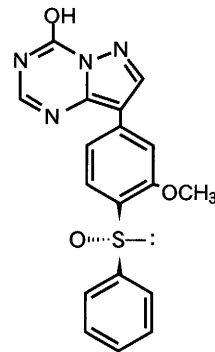
まず灌流液中にBSAを加えない条件で灌流液の温度を37, 30, 20, 10, 4℃に変えて実験を行った。その結果、温度の低下にともなって肝通過率(F_H)が増加し肝平均通過時間(t_H)が増加した。 F_H が肝消失の指標、 t_H が分布の指標であることから37℃においての消失の一部が4℃において分布に変化することがわかった。

次に灌流液中BSA存在下でBOF-4272の肝臓への移行を調べた。実験は37℃と4℃で行いdispersionモデルによって解析した。同時に血液部マーカーであるエバンスブルー-標識牛血清アルブミン(標識BSA)で血液部体積を推定したところ肝重量

S(-)-体



R(+)-体



BOF-4272の構造式

の17%から18%と推定され、これは37℃での値と一致し、また顕微鏡を使った推定値とも一致している。4℃においてBOF-4272の V_B （従来は血液部体積と考えられていた）が20%から40%の異常に大きな値となった。37℃ではBOF-4272の V_B 値は16%から20%となり標識BSAの値とほぼ一致した。このことは肝臓には比較的大きな平衡分布相が存在することを示唆している。つまり37℃ではこの平衡分布相に移行した薬物が肝臓の能動輸送により連携的に効率よく取り込まれたために、この相が観測できなかったと考えられる。一方、4℃では能動輸送が停止して薬物の消失が押さえられた結果、肝平衡分布相が明確に観測できるようになったものと結論される。次に37℃においてはBOF-4272の F_H は30%から50%であった。一方、4℃においてはBOF-4272の F_H は一定（90%）であった。つまり4℃においても比較的大きな割合のBOF-4272が消失していることになる。この温度においては肝臓の生理活動は停止していると考えられるので肝臓には不可逆結合相が存在していることが結論される。このことから、BSA存在下で37℃におけるBOF-4272の速やかな消失は肝組織上の不可逆的結合相と平衡分布相が重要な役割を持っていると考えられた。

Ⅲ. ラセミ薬物の立体選択的肝移行に対する血清アルブミンの影響

灌流実験において37℃でBSAが存在しない場合、BOF-4272のS体およびR体の F_H はともに25%前後の値となり有意な差は見られなかった。しかし灌流液中BSA濃度の上昇とともに両光学対掌体の F_H の差は大きくなり、生理条件に近い4%BSA存在時にはS体で80%およびR体で68%となった（ $P<0.001$ で有意）。一方、4℃ではBSAの有無に関係なく光学対掌体間で F_H の差は見られなかった。すなわち37℃、BSA濃度4%という生理的条件下においてのみ、BOF-4272の光学対掌体間で肝消失に差が見られるという現象を見出した。一方、BSAとBOF-4272のタンパク結合率は肝消失率から予想されるものとは逆にR体のほうが僅かに高いことが知られている。従って、37℃においてBSAの存在によりR体の肝消失がS体より有意に大きくなることはBSAとの立体選択的なタンパク結合性によるものではない。4℃においては灌流液中のBSAの有無に関らず肝臓はBOF-4272に対して光学認識能を持たないことが分かった。もし弱い吸着によりBSAの3次構造の変化を介するBOF-4272の肝臓への取り込みがあるならば、4℃においても肝臓による光学認識能が観察されるはずである。結論として、BSAがSBO-4272のかかなりの割合をタンパク結合により取り込み、平衡分布相と不可逆結合相でのBOF-4272の濃度が低下する。ここからの消失過程が濃度依存的であり、その飽和の程度がR体とS体とで異なり、結果として肝組織への能動的輸送速度に差が現れて光学認識能が増大したものと推察した。

以上、著者はBOF-4272の肝局所動態について種々検討した結果、高タンパク結合性を有するにもかかわらず高肝クリアランスを持つ薬物の肝組織への移行には受動移行と能動輸送が連携して機能していることを明らかにした。また、血清アルブミンとBOF-4272の結合が光学対掌体の肝組織への能動輸送における立体選択性を増すという血清アルブミンの新しい機能を明らかにした。

論文審査の結果の要旨

薬物の体内動態や薬理作用を研究するうえで、作用部位や代謝および排泄臓器における局所動態を把握することは極めて重要である。特に肝臓は薬物の処理に関与する多様な機能を有しているので詳細に研究されている。しかし、プロモスルフォタレインのように血清アルブミンと強く結合するにもかかわらず肝組織に速やかに移行することが知られている薬物の肝組織への移行機構を詳細に調べた研究はほとんど見られない。そこで、著者は高尿酸血症の治療薬として開発が進められているラセミ薬物BOF-4272をモデル化合物として用いて、ラット肝灌流実験系で瞬時投与により、高タンパク結合性高肝クリアランス薬物の肝組織への移行機構を薬物動態の面から研究した。さらにBOF-4272の各光学対掌体（R体およびS体）を用いて、肝臓への移行における光学異性体認識に関して合理的な説明を試みた。

ラセミ薬物BOF-4272を用いて、37℃でのin situラット肝灌流実験から得られた薬物溶出濃度－時間経過をモーメント解析あるいはdispersionモデル解析することにより肝局所動態を評価した。BOF-4272の肝溶出濃度－時間曲線下面積は、肝臓あたりの投与量62.5～500 μ gの範囲で投与量に比例し、肝平均通過時間はこの条件下で一定であり、線型動態を示した。

さらに、灌流液中に牛血清アルブミン（BSA）を加えない条件で、灌流液の温度を37℃～4℃に変えてBOF-4272の肝局所動態を調べた。その結果、温度の低下にともなつて肝消失の指標である肝通過率（ F_H ）は増加し、同時に分布の指標である肝平均通過時間（ t_H ）も増加した。このことから、37℃においては肝組織への消失と考えられた過程の一部が、4℃に

においては分布過程に変化することが示唆された。次にBSAを加えた灌流液中でBOF-4272の肝臓への移行を調べた。実験は37℃と4℃で行いdispersionモデルによって解析した。血液部マーカーであるエバンスブルー標識BSAを用いて血液部体積を推定したところ、肝重量の16%から18%と推定された。この値は37℃でのBOF-4272の V_b と一致し、また形態学的に推定された値とも一致した。 V_b は従来、肝血液部体積と考えられていたが、4℃においてBOF-4272の V_b は20%から40%の大きな値となったことは、肝臓には比較的大きな平衡分布相が存在することを示唆している。つまり、37℃ではこの平衡分布相に移行した薬物が能動輸送により肝臓に効率よく取り込まれたため、この相が測定できなかったものと考えられた。次に、4℃においてBOF-4272の F_h は一定の90%であった。すなわち、4℃においてもBOF-4272は比較的大きな割合で消失していることになる。4℃では肝臓の生理活性は停止していると考えられるので、この事実から不可逆結合相の存在が結論された。

光学対掌体を用いた実験では、灌流実験において37℃でBSAが存在しない場合、BOF-4272のS体およびR体の F_h はともに25%前後となり有意な差は認められなかった。しかし灌流液中BSA濃度の上昇とともに両光学対掌体の F_h の差は大きくなり、4%BSA存在時にはS体で80%およびR体で68%となった ($P<0.001$ で有意)。一方、4℃ではBSAの有無に関係なく光学対掌体間で F_h の差は見られなかった。すなわち37℃、BSA濃度4%という生理的条件下においてのみ、BOF-4272の光学対掌体間で肝消失に差が見られるという現象を見出した。もしBOF-4272の肝臓への取り込みが、BSAとの立体選択的なタンパク結合性やタンパク質の構造変化を介するならば、4℃においても肝臓による光学認識能が観察されるはずである。結論として、BOF-4272はBSAの存在で非結合型濃度が低下し、さらに不可逆結合相と平衡分布相の濃度低下が生じた結果、これらの相からの取り込み速度の違い、つまり能動輸送の速度の違いが明確になってR体とS体の消失に差が生じたと考えられた。

以上、本研究の成果は、高タンパク結合性であるにも関わらず高肝クリアランスを示す薬物の肝組織への移行を説明するために不可逆結合相および平衡分布相の新しい考え方を提供するものであり、さらにこの考え方はラセミ薬物の立体選択的な肝局所動態の説明にも有用であり、今後の医薬品開発において肝臓での薬物の局所動態解析に役立つものと考えられる。

よって、本論文は博士（薬学）の論文として価値のあるものと認める。

さらに、平成10年9月16日論文内容とそれに関連した事項について諮問を行った結果優秀と認定した。