ヒトアンギオテンシンⅡの体内動態に関する研究 (Ⅰ): ヒトアンギオテンシンⅡの血漿中濃度推移

長井 晶彦, 千田 敏

トーマエイヨー(株)研究開発部 〒960-02 福島市飯坂町湯野字田中1

Key words : angiotensin Ⅱ, RIA, plasma concentration, half-life,
i.v. administration, i.v. infusion, nephrectomized

Studies on the Metabolic Fate of Angiotensin Ⅱ (Ⅰ): Changes of plasma concentration after administration of angiotensin Ⅱ

Akihiko NAGAI and Satoshi CHIDA

R&D Department, TOA EIYO LTD.,

1 Tanaka, Yuno, Iizaka, Fukushima-shi, 960-02, Japan

Summary

Plasma angiotensin Ⅱ levels were examined in rats, rabbits and dogs after single i.v. administration or i.v. infusion. The plasma concentrations were determined by radioimmunoassay.

1. After single i.v. administration of 0.1, 1.0 and 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ to male and female rats, the plasma concentrations declined rapidly with half-lives ($T_{1/2}$) of 11.9-19.1 sec.

2. After single i.v. administration of 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ to rabbits and dogs, their profiles of plasma concentration-time curve were similar to that of rats, and declined with $T_{1/2}$ of 23.4 and 26.8 sec, respectively.

3. After i.v. infusion of 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ for 15 min in rats and dogs, the plasma concentrations declined in similar manner as after single i.v. administration. The $T_{1/2}$ were regarded to be equal after both administration methods.

4. After consecutive administrations to rats and dogs for 7 days, no significant accumulation occurred in the plasma concentrations. A similar concentration-time curves were obtained between 1th and 7th day.

5. After single i.v. administration to nephrectomized rats, the plasma concentration was not different from that of normal rats.

6. *In vitro* plasma protein binding ratios of angiotensin Ⅱ in rats, dogs and human were 42.9, 58.3 and 57.9%, respectively. *In vivo* plasma protein binding ratios were 48.0% in rats at 15 sec after single i.v. administration and 60.0% in dogs at 15 min after beginning of i.v. infusion.

緒言

アンギオテンシンⅡ（以下AⅡと略）は、強い昇圧活性を有する生体内生理活性オクタペプチドである。特にレニン・アンギオテンシン系が生体内で血圧の維持に重要な位置を占めることから、AⅡについて種々の研究がなされている。一方、AⅡ昇圧時における腫瘍血管の機能特性を利用した癌の昇圧化学療法が開発され¹⁾、臨床における効果が期待されている。

今回、このAⅡの医薬品としての開発に当たり、AⅡの体内動態について検討した。AⅡの体内動態については、正常・病態などにおける血漿中濃度に関して数多くの報告があるが、消失半減期（以下 $T_{1/2}$ と略）については、ラットの血圧の変化、または¹²⁵I-AⅡ投与後の放射活性の測定から求めた報告しかみられない^{2,3)}。そこでAⅡをラット、ウサギおよびイスに投与したときの血漿中AⅡ濃度をラジオイムノアッセイ法（以下RIA法と略）により測定し、その挙動を検討した。また、併せて単回および反復投与したときの血漿中濃度推移を比較検討したので報告する。

実験材料および実験方法

1. 実験材料とその調製法

(1) 実験動物

ラットはWistar KY（7週齢、日本エスエルシー(株)）、ウサギは日本白色種ウサギ（約2.5kg、船橋農場）、およびイスはビーグル犬（約10kg、トーヨービーグル）を用い、恒温（ $24 \pm 2^\circ\text{C}$ ）・恒湿（ $55 \pm 10\%$ ）の条件下で1週間予備飼育した後、実験に供した。

血漿蛋白結合率の測定には、ラット、ビーグル犬および健康成人男子志願者の新鮮血漿を用いた。

(2) 試薬

AⅡはヒト型(Ile⁵)を(株)ペプチド研究所より、¹²⁵I-AⅡ（[tyrosyl-¹²⁵I]AngiotensinⅡ(Ile⁵）、比放射活性約70MBq/mg（1880μCi/μg）、放射化学的純度99%以上）はNew England Nuclear社（米国）より、およびウサギ抗AⅡ血清はPeninsula Laboratories社（米国）より購入した。その他の試薬は市販特級品を用いた。

(3) 投与液の調製

AⅡは生理食塩液で溶解（0.2mg/ml）して分注後-80℃に凍結保存し、使用時1μg/ml（ラット）、5μg/ml（ウサギ）および20μg/ml（イス）の濃度に生理食塩液で希釈して用いた。

2. 実験方法

(1) 単回急速静脈内投与

ラットをペントバルビタールで麻酔し、総腸骨動脈に採血用のカニューレーションを施した後、AⅡ（0.1、1および10μg/kg）を尾静脈内に投与した。投与後、所定の時間（10、40、70、150および300sec、または15、45、75、150および300sec）にそれぞれ血液0.5mlを採取した。ウサギをペントバルビタールで麻酔し、大腿動脈に採血用のカニューレーションを施した後、AⅡ（1μg/kg）を耳静脈内に投与した。投与後、所定の時間（15、45、75、105、150、210および300sec）にそれぞれ血液0.5mlを採取した。イスは無麻酔下、AⅡ（1μg/kg）を一方の前肢静脈内に投与した後、所定の時間（15、45、75、105、150、210および300sec）に他方の前肢静脈よりそれぞれ血液1mlを採取した。

(2) 単回持続静脈内投与

ラットをA、BおよびCの3群に分け、ペントバルビタールで麻酔し、総腸骨動脈に採血用のカニューレーションを施した。ペリスタポンプ（1200Varioperpex, LKB社（スウェーデン））を用いてAⅡ（1μg/kg/min, 0.1ml/min）を股静脈内に15min間持続投与し、所定の時間（A群：投与開始後1、5、10および15min、B群：投与終了後15、45および75sec、C群：投与終了後150および300sec）にそれぞれ血液0.5mlを採取した。イスは無麻酔下、AⅡ（1μg/kg/min, 0.1ml/min）を一方の前肢静脈内に15min間持続投与し、他方の前肢静脈より所定の時間（投与開始後1、5、10、15min、投与終了後15、45、75、105、150、210および300sec）にそれぞれ血液1mlを採取した。

(3) 反復静脈内投与

ラットをA、B、CおよびDの4群（1群5匹）に分け、AⅡ（1μg/kg）を尾静脈内に1日1回、7日間反復急速投与した。1、3、5日目は

〔Extraction〕

Plasma 200 μ l
Florisol 2.5mg

↓ shaken for 15min
↓ centrifuged
Florisol
↓ washed two times with H₂O
↓ added EtOH-NH₄OH (5:1) 1ml
↓ shaken for 15min
↓ centrifuged
Supernatant
↓ dried under N₂ gas at 40°C
↓ added assay buffer*
Radioimmunoassay

〔Radioimmunoassay〕

Extracts or standard* 100 μ l
Antiserum 100 μ l
¹²⁵I-A II (14000 cpm) 50 μ l

↓ incubated at 4°C for 20hr
↓ added γ -globulin 100 μ l and
25% polyethyleneglycol 700 μ l
↓ centrifuged
Precipitate
↓
RI count

*Assay buffer : 0.1M phosphate buffer (pH 7.4), 0.05M NaCl, 0.1%BSA,
0.1% Triton X-100, 0.01% NaN₃

*A II standard : 1, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500pg/100 μ l

Fig. 1 Procedure of AII extraction from plasma and AII radioimmunoassay

A群, 2, 4, 6日目はB群より投与前および投与15sec後に心臓より0.5mlずつ採血した。7日目はベントバルビタールで麻酔し, 総腸骨動脈に採血用のカニューレーションを施し, C群より投与前, 投与後15, 45および75secに, また, D群より投与後150および300secにそれぞれ血液0.5mlを採取した。イヌについては無麻酔下, ペリスタポンプを用いてA II (1 μ g/kg/min, 0.1ml/min)を前肢静脈内に15min間, 1日1回, 7日間反復持続投与した。1~6日は投与前および投与開始後15minに, 7日目は投与前, 投与開始後1, 5, 10, 15min, 投与終了後15, 45, 75, 105, 150, 210および300secに他方の前肢静脈よりおのおの血液1mlを採取した。

(4) 腎摘出ラットにおける単回急速静脈内投与

ラットをベントバルビタールで麻酔し, 両側腎臓を摘出した。1hr経過の後, 総腸骨動脈に採血用のカニューレーションを施し, A II (1 μ g/kg)を尾静脈内に投与した。投与後, 15, 45, 75, 150および300secにそれぞれ血液0.5mlを採取した。

(5) 血漿蛋白結合率測定

1) *In vitro*

ラット, イヌおよびヒトそれぞれの血漿1mlにA II 1ngを添加し, 37°C, 15min間インキ

ュベートした。次いで限外ろ過器 (Centrisartur I (分画分子量範囲10000), Sartorius社 (西独))を用いて遠心限外ろ過 (3000rpm, 15min)した。ろ過前(A)およびろ過後(B)のA II濃度をRIA法により測定した後, 次式により結合率を算出した。

$$\text{蛋白結合率(\%)} = (1 - B/A) \times 100$$

なお, 用いた限外ろ過器に対するA IIの吸着は認められなかったため, ろ過率の補正は行わなかった。

2) *In vivo*

ラットについては, A II (1 μ g/kg)の急速静脈内投与後15secの血漿を, イヌについては, A II (1 μ g/kg/min, 0.1ml/min)の15min間持続静脈内投与の投与開始後5, 10および15minの血漿を用いた。蛋白結合率の測定は, *in vitro*と同様に遠心限外ろ過法により行った。

(6) RIA法による血漿中濃度測定

各血液は採血後直ちに酵素阻害剤として1/10倍量の0.125M EDTA-0.025M, O-phenanthroline溶液を加えて遠心分離し, 血漿を得た。血漿はA II分析時まで-80°Cにて凍結保存した。

A IIの測定法は, 森本らの方法⁵⁾を若干改良して用いた (Fig.1)。すなわち, 血漿200 μ lより活性化フロリジル (2.5mg)を用いてA IIを抽出し,

抗AⅡ血清および ^{125}I -AⅡ (約14000cpm)を加え混和後、4℃で20hr インキュベートした。反応液中の免疫複合体をポリエチレングリコール法で分離し、 γ カウンター (ARC-300 Auto Well Gamma System, アロカ(株))にて放射能を測定した。

(7) 薬物動態パラメータの算出および統計解析

測定した血漿中濃度の消失相から最小二乗法により $T_{1/2}$ を、血漿中濃度-時間曲線下面積(AUC)を台形法により求めた。

平均値の差は、Student の t 検定により検定し、危険率5%以下を有意とした。

結果

1. AⅡの添加回収

AⅡの添加回収率は、ラットの対照血漿 (AⅡ未投与血漿)、およびこれにAⅡを添加 (0.625, 1.25および12.5ng/ml, 各 $n=10$) した血漿から抽出して測定した。ラット対照血漿のAⅡレベルは $121.8 \pm 30.0\text{pg/ml}$ (Mean $\pm$ S.E. 以下同様)であり、添加回収率は86.0~94.6%であった。本

定量法の日内変動および日間変動は、ともに10%以内であった。また、ウサギおよびイヌの対照血漿のAⅡレベルは、それぞれ 75.3 ± 21.0 および $10.2 \pm 7.5\text{pg/ml}$ であった。

2. 単回急速静脈内投与

雌雄ラットにAⅡを0.1, 1.0および10.0 $\mu\text{g/kg}$ 急速静脈内投与したときの血漿中濃度推移および薬物動態パラメータをFig.2およびTable Iに示す。血漿中濃度はいずれも投与後速やかに減少し、その $T_{1/2}$ は $11.9 \pm 1.1 \sim 19.1 \pm 0.5\text{sec}$ と短かった。また、投与後10secにおける血漿中濃度 (以下 $C_{p(10)}$ と略) は、それぞれ雄で 1.2 ± 0.2 , 9.1 ± 0.6 および $105.2 \pm 4.2\text{ng/ml}$, 雌で 1.2 ± 0.2 , 10.4 ± 0.8 および $126.6 \pm 11.8\text{ng/ml}$ であり、投与量に比例して増加した。また、AUCは雄でそれぞれ 36.7 ± 6.5 , 285.4 ± 21.8 および $4703.5 \pm 300.1\text{ng} \cdot \text{sec/ml}$, 雌でそれぞれ 39.9 ± 5.8 , 305.2 ± 20.1 および $4431.6 \pm 338.9\text{ng} \cdot \text{sec/ml}$ と投与量と比例関係が認められた。一方、分布容積 (以下 V_d と略) および全身クリアランス (以

Fig. 2 Plasma concentrations of AII after intravenous administration in male (left) and female (right) rats

Dose: $\blacktriangle$, 0.1 $\mu\text{g/kg}$; $\bullet$, 1.0 $\mu\text{g/kg}$; $\blacksquare$, 10.0 $\mu\text{g/kg}$

Each point represents the mean and S.E. for five animals.

Table I Comparison of pharmacokinetic parameters after intravenous administration of AII in rats

Dose	Male rat					Female rat				
	Cp(10)* (ng/ml)	T _{1/2} (sec)	AUC (ng·sec/ml)	V _d (ml/kg)	CL _{tot} (ml/sec/kg)	Cp(10)* (ng/ml)	T _{1/2} (sec)	AUC (ng·sec/ml)	V _d (ml/kg)	CL _{tot} (ml/sec/kg)
0.1μg/kg	1.2±0.2	11.9±1.1	36.7±6.5	53.8±12.1	3.1±0.3	1.2±0.2	14.6±0.5	39.9±5.8	56.4±10.6	2.8±0.5
1.0μg/kg	9.1±0.6	13.7±0.8	285.4±21.8	69.9±2.0	3.6±0.3	10.4±0.8	15.1±1.1	305.2±20.1	73.1±8.1	3.3±0.2
10.0μg/kg	105.2±4.2	19.1±0.5	4703.5±300.1	59.4±3.1	2.2±0.2	126.6±11.8	17.3±0.8	4431.6±338.9	57.2±4.0	2.3±0.2

*Plasma concentration at 10sec after intravenous administration
Each value represents the mean and S.E. for five animals.

Fig. 3 Plasma concentrations of AII after intravenous administration (dose : 1μg/kg) in male rats, rabbits and dogs
●, rat ; ▲, rabbit ; ■, dog
Each point represents the mean and S.E. for five animals.

下 CL_{tot} と略) は, それぞれ 53.8~73.1 ml/kg および 2.2~3.6 ml/sec/kg の範囲であり, 投与量に依存した変化は認められなかった. 以上の T_{1/2}, Cp(10), AUC, V_d および CL_{tot} には, 雌雄間で有意差は認められなかった.

雄性ラット, ウサギおよびイヌに AII (1μg/kg) を急速静脈内投与したときの血漿中濃度推移を Fig.3 に示す. ラットおよびウサギでは, 投与後 15sec において血漿中濃度は 4.6 および 10.0 ng/ml を示し, 以後速やかに減少し, 投与後 150sec には投与前レベルまで復した. 一方, イヌでは投与後一旦血漿中濃度の上昇がみられ, 45sec で最高血漿中濃度 7.7 ng/ml を示した. しかし, それ以後はラットおよびウサギと同様に速やかに減少し, 投与後 300sec にはほぼ投与前レベルにまで復した. 各動物種の T_{1/2} は, 雄性ラット, ウサギおよびイヌでそれぞれ 15.8±1.7, 23.4±1.4 および 26.8±2.4 sec (Table II) であり, ラットが最も短く, ウサギおよびイヌとの間に有意差が認められた. また, ラットに比べウサギおよびイヌは, CL_{tot} の値が有意に小さかった. な

Table II Comparison of pharmacokinetic parameters after intravenous administration of All in rats, rabbits and dogs

		Single					Repeated (7days)	
		One shot (1 μ g/kg)			Infusion (15 μ g/kg/15min)		One shot (1 μ g/kg)	Infusion (15 μ g/kg/15min)
		Male	Female	Nephrectomized	Male	Female	Male	Male
Rat	T _{1/2} (sec)	15.8 $\pm$ 1.7	15.1 $\pm$ 1.1	15.9 $\pm$ 0.7	17.5 $\pm$ 3.9	16.1 $\pm$ 1.2	16.6 $\pm$ 0.6	
	AUC (ng $\cdot$ sec/ml)	213.6 $\pm$ 21.6	305.2 $\pm$ 20.1	417.8 $\pm$ 21.6	6447.2	4757.5	226.2 $\pm$ 35.6	
	Vd (ml/kg)	116.6 $\pm$ 26.9	73.1 $\pm$ 8.1	55.1 $\pm$ 2.6	46.4	67.7	114.6 $\pm$ 32.9	
	CL _{tot} (ml/sec/kg)	4.9 $\pm$ 0.6	3.3 $\pm$ 0.2	2.4 $\pm$ 0.1	2.3	3.2	4.8 $\pm$ 0.5	
Rabbit	T _{1/2} (sec)	23.4 $\pm$ 1.4						
	AUC (ng $\cdot$ sec/ml)	595.3 $\pm$ 45.0						
	Vd (ml/kg)	59.6 $\pm$ 7.1						
	CL _{tot} (ml/sec/kg)	1.8 $\pm$ 0.1						
Dog	T _{1/2} (sec)	26.8 $\pm$ 2.4	27.9 $\pm$ 2.2		31.2 $\pm$ 2.4			34.3 $\pm$ 1.2
	AUC (ng $\cdot$ sec/ml)	1050.9 $\pm$ 145.7	923.1 $\pm$ 131.7		8310.5 $\pm$ 789.1			5935.1 $\pm$ 632.7
	Vd (ml/kg)	40.3 $\pm$ 7.4	47.2 $\pm$ 6.8		76.1 $\pm$ 8.1			127.3 $\pm$ 19.2
	CL _{tot} (ml/sec/kg)	1.0 $\pm$ 0.1	1.2 $\pm$ 0.1		1.9 $\pm$ 0.2			2.7 $\pm$ 0.3

Each value represents the mean and S.E. for five animals.

お、雌性イヌにA II ($1\mu\text{g}/\text{kg}$)を急速静脈内投与したときの血漿中濃度推移は、雄性イヌと同様の推移を示し、 $T_{1/2}$, AUC, Vd および CL_{tot} で雌雄間に有意差は認められなかった。

3. 単回持続静脈内投与

雄性ラットおよびイヌにA II ($1\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, 15min)を持続静脈内投与したときの血漿中濃度推移をFig.4に、それぞれの薬物動態パラメータをTable IIに示す。ラットにおける血漿中濃度は持続投与開始後1minにおいて雄で $6.1\text{ng}/\text{ml}$ に達し、その後若干の上昇傾向はあるものの、15minまでそれぞれ $6.1\sim 8.0\text{ng}/\text{ml}$ のほぼ一定した値を維持した。持続投与終了後、血漿中濃度は極めて速やかに減少し、投与終了後75secでほぼ投与前レベルにまで復した。また、雌性ラットにおいても雄性と同様の推移を示した(Data not shown)。そのときの $T_{1/2}$ は雄で $17.5\pm 3.9\text{sec}$ 、および雌で $16.1\pm 1.2\text{sec}$ であり、雌雄間で有意差は認められなかった。また、急速静脈内投与と持続静脈内投与におけるそれぞれの $T_{1/2}$ の間にも有意差は認められなかった。

一方、イヌにおける血漿中濃度は持続投与開始

後1minにおいて $1.6\text{ng}/\text{ml}$ 、5minにおいて $10.3\text{ng}/\text{ml}$ に達し、その後投与開始後15minまで $10.0\sim 10.3\text{ng}/\text{ml}$ 前後のほぼ一定した値を示した。持続投与終了後、血漿中濃度は速やかに減少し、投与終了後300secでほぼ投与前レベルにまで復した。そのときの $T_{1/2}$ は $31.2\pm 2.4\text{sec}$ であり、ラットの場合と同様、急速静脈内投与と持続静脈内投与の間で有意差は認められなかったが、ラットの $T_{1/2}$ に比べ有意に長かった。

4. 反復静脈内投与

A IIを7日間反復して、雄性ラットに急速静脈内投与、または雌性イヌに持続静脈内投与したときの血漿中濃度推移をFig.5および6に示す。ラットに反復投与したときの血漿中濃度は、各投与前には $0.06\sim 0.08\text{ng}/\text{ml}$ 、および各投与後15secでは $4.1\sim 5.6\text{ng}/\text{ml}$ と7日間ほぼ同様の値を示し、投与回数に伴い上昇することはなく、その変動も小さいものであった。7日目の血漿中濃度は、投与後15secにおいて $4.7\text{ng}/\text{ml}$ を示し、その後速やかに減少し、投与後300secにはほぼ投与前レベルにまで復した。そのときの $T_{1/2}$ は $16.6\pm 0.6\text{sec}$ であった(Table II)。

Fig. 4 Plasma concentrations of AII during and after intravenous infusion (dose: $1\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) for 15min in male rats(left) and dogs (right)
Each point represents the mean and S.E. for five animals.

Fig. 5 Plasma concentrations of AII in male rats after repeated intravenous administrations once daily dose of $1\mu\text{g/kg}$ for 7 days

●, repeated; ○, single

Each point represents the mean and S.E. for five animals.

Fig. 6 Plasma concentrations of AII in male dogs during and after end of repeated intravenous infusions once daily dose of $1\mu\text{g/kg/min}$, 15min for 7 days

●, repeated; ○, single

Each point represents the mean and S.E. for five animals.

一方、イヌに反復持続投与したときの血漿中濃度は各投与前には $0.01\sim 0.06\text{ng/ml}$ 、および各投与開始後15min では $4.5\sim 6.3\text{ng/ml}$ と7日間ほぼ同様の値を示した。7日目は持続投与開始後1min において 2.8ng/ml 、投与開始後5min において 7.3ng/ml に達し、その後15min まで $5.4\sim 7.4\text{ng/ml}$ 前後のほぼ一定した血漿中濃度を示した。持続投与終了後、血漿中濃度は速やかに減少し、投与終了後300sec でほぼ投与前レベルにまで復した。そのときの $T_{1/2}$ は $34.3\pm 1.2\text{sec}$ で

あった (Table II)。

5. 腎摘出ラットにおける単回急速静脈内投与

腎摘出雄性ラットにA IIを急速静脈内投与したときの血漿中濃度推移をFig.7に示す。血漿中濃度は、投与後15sec において 8.5ng/ml を示し、その後速やかに減少し、投与後150sec にはほぼ投与前レベルにまで復した。そのときの $T_{1/2}$ は $15.9\pm 0.7\text{sec}$ であった (Table II)。

Fig. 7 Plasma concentrations of A II after intravenous administration (dose: $1\mu\text{g/kg}$) in nephrectomized and normal rats
●, nephrectomized; ○, normal
Each point represents the mean and S.E. for five animals.

Table III Plasma protein binding ratios of A II

	Binding ratio (%)	
	<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>
Rat	42.9 ± 0.5	48.0 ± 0.7
Dog	58.3 ± 0.9	60.0 ± 0.1
Human	57.9 ± 2.4	

Each value represents the mean and S.E. for three animals.

6. 血漿蛋白結合率測定

(1) *In vitro*

ラット、イヌおよびヒト血漿にA IIを 1 ng/ml になるように添加したときの *in vitro* における血漿蛋白結合率はそれぞれ42.9, 58.3および57.9%であり、ラットに比べイヌおよびヒトでやや高かった (Table III)。

(2) *In vivo*

ラットおよびイヌにA IIを静脈内投与したときの血漿蛋白結合率を Table III に示す。血漿蛋白結合率は、ラット急速静脈内投与後15sec (血漿中濃度: 5.2 ng/ml) では48.0%, イヌ持続静脈内投与開始後5~15min (血漿中濃度: 6.4 ng/ml) では60.0%であり、いずれも *in vitro*

における結合率と同程度であった。

考 察

正常時における血漿中のA IIは微量であることから、現在A IIは主にRIA法により測定されている。しかしながら、ほとんどがヒトの血漿中濃度測定を目的に開発されているため、必要とされる血漿の量が多いという欠点がある。今回、A IIの動物における薬物動態を検討するために少量の血漿を用いるRIA法を開発した。本法は、血漿 $200\mu\text{l}$ で測定可能であり、回収率、変動係数ともに良好であった。

雌雄ラットにA IIを0.1, 1.0および $10.0\mu\text{g/kg}$ 急速静脈内投与するとき、血漿中濃度はいずれも投与後速やかに減少し、その $T_{1/2}$ は投与量の増加に伴い、やや延びる傾向が認められたものの、いずれも11.9~19.1secと血漿からの消失が速やかであった。また、 $C_{p(0)}$ およびAUCは投与量に比例して増加し、 V_d および CL_{tot} には投与量に依存した変化は認められなかった。したがって、A IIの体内動態は、 $10\mu\text{g/kg}$ 以下の投与量においては線形性を示すものと考えられる。

ラット、ウサギおよびイヌにA II ($1\mu\text{g/kg}$)を急速静脈内投与したときの血漿中濃度推移を比較すると、ラットおよびウサギでは投与直後から速やかに減少したのに対し、イヌでは投与後一旦血漿中濃度の上昇がみられ、投与後45secにおいて最高血漿中濃度を示した後、減少した。静脈内投与したにもかかわらず、イヌで血漿中濃度の立ち上がりが遅れたのは、A IIの全身への分布に若干時間を要したためと考えられる。各動物種の $T_{1/2}$ の比較では、ラットの15.8secに対して、ウサギが23.4sec、イヌが26.8secと有意に長かった。Meraniら²⁾は、血圧の変化より測定して、ラットにおけるA IIの $T_{1/2}$ を $16 \pm 1\text{ sec}$ と報告しており、今回、血漿中濃度より求めた値はよい一致を示している。また、認められたA IIの $T_{1/2}$ における差は、それぞれの動物が生体内にアミノ酸組成を異にするA II (ラットはヒト型、ウサギはウシ型、イヌは不明)を有するため、あるいは動物の種により代謝速度に差が生じるためと考えられる。

また、ラットおよびイヌにおける $T_{1/2}$, AUC,

Vd および CL_{tot} を雌雄間で比較した結果、有意差は認められず、性差はないものと判断された。

雌雄ラットにA IIを持続静脈内投与すると、血漿中濃度は速やかに上昇し、 $1\mu\text{g/kg/min}$ の持続投与により $5\sim 8\text{ ng/ml}$ のほぼ一定濃度を示し、一定速度で注入を継続すると、血漿中濃度もほぼ一定に保たれることが明らかとなった。また、持続投与は総投与量が $15\mu\text{g/kg}$ と多いにもかかわらず、代謝速度の速さを反映し、血漿中濃度は $1\mu\text{g/kg}$ の急速投与ほど上昇しないことが明らかとなった。投与終了後の $T_{1/2}$ は雄で 17.5 sec 、雌で 16.1 sec であり、性差は認められなかった。また、この値は $1\mu\text{g/kg}$ を急速静脈内投与したときの $T_{1/2}$ (15.8 sec) とも有意差がなく、総投与量が多くても持続的に緩徐に投与するときは、A II代謝系への影響は少ないものと予想される。

一方、イヌにおける持続投与では、投与開始後 1 min において 1.6 ng/ml 、投与開始後 5 min において 10.3 ng/ml と、血漿中濃度の立ち上がりはラットより遅いものの、 5 min 以降、 15 min まで 10 ng/ml 前後のほぼ一定した血漿中濃度を示した。持続投与終了後の血漿中濃度は、急速投与時と同様速やかに減少した。そのときの $T_{1/2}$ は 31.2 sec であり、 $1\mu\text{g/kg}$ の急速静脈内投与時の $T_{1/2}$ (26.8 sec) よりやや長いものの有意差は認められなかった。したがって、イヌにA IIを持続的に大量投与した場合にも、代謝系への影響は少ないものと推察される。

また、持続投与においても急速投与同様、ラットの $T_{1/2}$ はイヌに比べて有意に短く種差が認められた。

A IIをラットおよびイヌに7日間にわたって反復静脈内投与したときの血漿中濃度を検討した。ラットの反復急速静脈内投与では、投与前および投与後 15 sec の血漿中濃度ともにそれぞれ7日間ほぼ同様の値を示し、投与回数に伴い上昇することはなく、投与期間中の変動も小さいものであった。また、投与7日目の血漿中濃度推移を単回投与における推移と比較したところ、 $T_{1/2}$ は単回投与および反復投与でそれぞれ 15.8 sec および 16.6 sec と有意の差は認められなかった (Table II)。

一方、イヌに反復持続静脈内投与したときも、投与前および投与開始後 15 min の血漿中濃度はいずれも7日間ほぼ同様の値を示し、投与回数に伴い上昇することなく、投与期間中の変動も小さいものであった。また、投与7日目の血漿中濃度推移を単回投与における推移と比較したところ同様の推移を示し、投与終了後の $T_{1/2}$ は単回投与および反復投与で、それぞれ 31.2 sec および 34.3 sec と有意な差は認められなかった (Table II)。したがって、A IIを反復投与しても、その代謝および排泄動態が大きく変動することはないものと判断された。

各組織におけるA IIの代謝速度について、著者ら⁵⁾はHPLC分析より腎>肝>肺 ($100:36:9$) と、Hodgeら⁶⁾は生物活性より測定して腎>肝 ($75:62$) で、肺ではほとんど代謝されないと報告している。したがって、A IIは生体内のさまざまな組織において代謝を受けるものの、腎臓において代謝される割合が最も多いと考えられる。そこで病態モデルとして腎摘出ラットを用いて生体内における代謝速度への影響を検討した。腎摘出ラットにA IIを急速静脈内投与すると、血漿中濃度は正常ラットとほぼ同様に推移し、A IIは速やかに血漿より消失した。その $T_{1/2}$ は 15.9 sec であり、正常ラットの $T_{1/2}$ (15.8 sec) と差は認められなかった。したがって、A IIの主代謝組織と考えられる腎臓を摘出しても、腎臓以外のさまざまな組織における代謝活性も強く、血漿中濃度推移へは影響しなかったものと考えられる。さらに、正常ラットの CL_{tot} は $22\sim 3.6\text{ ml/sec/kg}$ を示しており、各種組織の単独の血流量を大きく上回っていることから、A IIはほぼ全身で代謝されるものと考えられる。

各動物種の血漿を用いたA IIの *in vitro* における血漿蛋白結合率は、ラットで 42.9% 、イヌで 58.3% 、ヒトで 57.9% であり、ラットに比べイヌおよびヒトでやや高かった。一方、*in vivo* における血漿蛋白結合率は、ラット急速静脈内投与後 15 sec (5.2 ng/ml) では 48.0% 、イヌ持続静脈内投与開始後 $5\sim 15\text{ min}$ (6.4 ng/ml) では 60.0% であり、*in vitro* における結合率と同程度であった。このように、A IIの血漿蛋白結合率は 50% 前後であることから、結合率に多少の変化が生

じたとしても、薬効や体内動態に及ぼす影響は少ないものと推察される。

要 約

各動物種にアンギオテンシンⅡ (AⅡ) を静脈内投与し、体内動態を検討した。

1. 雌雄ラットにAⅡを0.1, 1.0および10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 急速静脈内投与するとき、血漿中濃度は投与後速やかに減少し、その消失半減期 ($T_{1/2}$) は11.9~19.1secであった。また、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下の投与量において線形性を示すものと考えられる。

2. ラット、ウサギおよびイヌにAⅡ (1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) を急速静脈内投与したときの $T_{1/2}$ は、ラットの15.8secに対して、ウサギが23.4sec、イヌが26.8secと有意に長かった。

3. 雄性ラットおよびイヌにAⅡを持続静脈内投与するとき、血漿中濃度は速やかに上昇し、その後一定速度で注入を継続すると、血漿中濃度はほぼ一定に保たれた。投与終了後の $T_{1/2}$ はラットで17.5sec、およびイヌで31.2secであり、1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を急速静脈内投与したときの $T_{1/2}$ と有意差は認められなかった。

4. ラットおよびイヌ急速静脈内投与、並びにラット持続静脈内投与における $T_{1/2}$ を雌雄間で比較した結果、性差は認められなかった。

5. AⅡをラットおよびイヌに7日間反復静脈内投与したとき、投与前および投与後の血漿中濃度は、投与回数に伴い上昇することはなかった。また、投与7日目の血漿中濃度推移は、単回投与と同様の推移を示し、投与終了後の $T_{1/2}$ も単回投与および反復投与で有意な差は認められなかった。

6. 腎摘出ラットにAⅡを急速静脈内投与すると、血漿中濃度は正常ラットとほぼ同様に推移し、その $T_{1/2}$ は15.9secであり、正常ラットの $T_{1/2}$ と差は認められなかった。

7. 各動物種の血漿を用いたAⅡの *in vitro* における血漿蛋白結合率は、ラットで42.9%、イヌで58.3%、ヒトで57.9%であった。一方、*in vivo* における血漿蛋白結合率は、ラット急速静脈内投与後15sec (血漿中濃度: 5.2ng/ml) では、48.0%、イヌ持続静脈内投与開始後5~15 min (血漿中濃度: 6.4ng/ml) では60.0%であり、*in vitro* における結合率と同程度であった。

文 献

- 1) 鈴木磨郎, 堀 勝義, 阿部郁夫, 斎藤祥子, 佐藤春郎: 腫瘍内循環の特性と化学療法, 癌と化学療法, 5(S): 77-80 (1978).
- 2) Al-Merani, S.A.M.A., Brooks, D.P., Chapman, B.J. and Munday K.A.: The half-lives of angiotensin II, angiotensin II-amide, angiotensin III, Sar¹-Ala⁸-Angiotensin II and renin in the circulatory system of the rat. *J. Physiol.*, 278: 471-490 (1978).
- 3) Donato, L., Coli, A., Pasqualini, R. and Duce, T.: Metabolic clearance rate of radioiodinated angiotensin II in normal men. *Am. J. Physiol.*, 223: 1250-1258 (1972).
- 4) 森本妙子, 青山正明, 後藤英司, 塩之入 洋: フロリジル法による plasma angiotensin II の radioimmunoassay の開発と検討. 日本内分泌学会雑誌, 59: 215-229 (1983).
- 5) 千田 敏, 長井晶彦: ヒトアンギオテンシンⅡの体内動態に関する研究 (Ⅱ), 薬物動態, 5: 651-660 (1990).
- 6) Hodge, R.L., NG, K.K.F. and Vane, J.R.: Disappearance of angiotensin from the circulation of the dog, *Nature*, 215: 138-141 (1967).