ヒトアンギオテンシンⅡの体内動態に関する研究 (Ⅲ) : ヒトアンギオテンシンⅡのラットにおける分布, 代謝および排泄

長井 晶彦, 千田 敏

トーアエイヨー株式会社 研究開発部 〒960-02 福島市飯坂町湯野字田中1

堀 勝行, 山下久美子, 神 義容, 江角 凱夫

第一化学薬品株式会社 東海研究所 〒319-11 茨城県那珂郡東海村村松2117

Key words : Angiotensin Ⅱ, Distribution, Metabolism, Excretion,
i.v. administration, i.v. infusion, Rat.

Studies on the Metabolic Fate of Angiotensin Ⅱ (Ⅲ) : Distribution, Excretion and Metabolism of Angiotensin Ⅱ in Rat

Akihiko NAGAI and Satoshi CHIDA

R&D Department, TOA EIYO LTD.,

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

Katsuyuki HORI, Kumiko YAMASHITA, Yoshitaka JIN and Yoshio ESUMI

Tokai Research Laboratories, Daiichi Pure Chemicals Co., Ltd.,

2117 Muramatsu, Tokai-mura, Naka-gun, Ibaraki-ken 319-11, Japan

Summary

The distribution, metabolism and excretion of ^3H -angiotensin Ⅱ (^3H -AⅡ) were investigated after intravenous administration to rats.

1. The radioactivity in the plasma, after bolus intravenous administration to male and female rats, declined with half-lives of 1.0 and 1.1 min, respectively, within first 2.5 min. The radioactivity increased once again within 10~20 min after administration and thereafter decreased again with half-lives of 3.0 and 1.1 day, respectively.

The radioactivity of AⅡ, AⅢ, Tyr and *p*-HPPA declined rapidly with half-lives of 8.5, 7.9 sec and 5.2 and 5.9 min, respectively.

2. The radioactivity in the plasma of male and female rats increased slowly during intravenous infusion, and afterwards declined with half-lives of 2.2 and 2.4 min, respectively, within 2.5min after the infusion was stopped, and thereafter once again increased within 10 min after the end of infusion and finally a gradual decrease was observed.

The concentrations of AⅡ, AⅢ, Tyr and *p*-HPPA declined rapidly after the end of infusion similarly as after bolus administration.

3. The radioactivity in the tissues reached maximum within 24 hr after infusion. The highest level of radioactivity was noted in the pancreas and followed by the liver, bone marrow, stomach, kidney, duodenum, adrenal gland and pituitary gland. The disappearance of radioactivity from each tissue was very slow.

4. After the end of the infusion, radioactive substances in the plasma consisted not only AⅡ and its metabolites but also were found in volatile (9.1%) and protein fractions (25.3%). Volatile and protein fractions increased with time. The concentrations of AⅡ in the liver and kidney were somewhat high, while only a minor amount of AⅡ was noted in the lung and heart.

5. After intravenous infusion to male rats, the excretion of radioactivity in the urine, feces and expired air was 24.3, 9.8 and 5.8% of the dose, respectively. Within 168 hr after the end of infusion, the residual radioactivity in the carcass accounted for 56.6% of the dose. The profile of excretion in female rats was similar to that in male rats. The biliary excretion of radioactivity accounted for 15.2% of the dose after 48 hr infusion. No AⅡ and AⅢ were noted in the urine, feces and bile. Volatile fraction was mainly excreted, while the excretion of Tyr and *p*-HPPA was minor.

緒 言

Angiotensin II (以下A IIと略)は、強い昇圧作用を有する生理活性オクタペプチドである。本薬物については、癌化学療法の効果増強を目的として、A II昇圧時における腫瘍血管の機能特性を利用した昇圧化学療法が開発され、臨床における効果が期待されている^{1,2)}。A IIの生体内動態については、血漿中における半減期が極めて短く、速やかに血漿中より消失することを報告した³⁾。しかしながら、A IIの生体内における分布および排泄についての報告はこれまでに見られていない。

今回、A IIの生体内動態を明らかにする目的で、tyrosine (以下 Tyr と略) 残基の3,5位の水素原子をトリチウムで標識したA II (以下³H-A IIと略)をラットに急速静脈内投与あるいは持続静脈内投与し、放射能の分布および排泄を検討した。さらに、未変化のA II、A IIの代謝物である angiotensin III (以下A IIIと略)、Tyr および *p*-hydroxyphenylpyruvic acid (以下 *p*-HPPA と略)について分析したので報告する。

試験材料および方法

1. 投与化合物

使用した[Tyrosyl-3,5-³H]A II (5-L-isoleucine, ヒト型)は、Du Pont NEN Research Products 社より購入し、必要に応じ Sep-Pack C₁₈カートリッジ (Waters), または、さらに以下の条件による CCPD ポンプ (東ソー)を用いた高速液体クロマトグラフィー (以下 HPLC と略)により精製して使用した。

Column ; Inertsil ODS-2 (4.6mm I.D. × 150mm, ジーエルサイエンス)

Mobile phase ; 0.2% Trifluoroacetic acid -Acetonitrile (75 : 25)

Flow rate ; 1.0ml/min

比放射能は3.05GBq (82.5mCi)/mg, 放射化学的純度は94%以上であった。なお、放射化学的純度の測定は前記の条件で HPLC により分離後、溶出液を30sec 間隔で分取し、シンチレーター (Atomlight, Du Pont NEN Research Products) 10ml を加え、放射能を測定して求

めた。

非標識のA II (5-L-isoleucine, ヒト型)はペプチド研究所より購入した。

2. 試験動物

試験動物として、次の Wistar KY SPF ラット (日本エスエルシー)を用いた。

雄性ラット : 生後7~9週齢, 体重230~291g

雌性ラット : 生後7~8週齢, 体重186~209g

購入後のラットには、水および固型飼料(MF, オリエンタル酵母工業)を自由に摂取させ、温度23±2℃, 湿度55±10%の条件下で1週間以上予備飼育した後、試験に供した。動物の例数は1群3匹 (全身オートラジオグラフィーでは1群1匹)とした。

なお、血漿蛋白結合率の測定には、絶食した雄性ラット, 雄性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。

3. 投与液調製方法

³H-A II (Lot No. 2713-010または2649-182)は必要に応じ非標識のA IIを加えた後、生理食塩液で希釈し、約0.5μg/mlの投与液 (急速投与用)および約2μg/mlの投与液 (持続投与用)を調製した。

4. 静脈内投与方法

ラットをエーテル麻酔した後、頸静脈にヘパリン加生理食塩液を満たした医療用シリコンチューブ (Silastic, 0.025 in. I.D. by 0.047 in. O.D., Dow Corning)を挿入した。

血漿中濃度の測定に用いるラット, および組織内濃度の測定に用いるラットの一部には、さらに頸動脈にヘパリン加生理食塩液を満たした医療用シリコンチューブを挿入した。

胆汁中排泄率の測定に用いるラットには、さらに総胆管にポリエチレンチューブを挿入した。

カニューレ挿入後のラットをボールマンケージに収め、麻酔覚醒後³H-A IIを頸静脈カニューレより投与した。なお、尿, 糞, 呼気中排泄率および体内残存率の測定に用いるラットはカニューレ挿入後、ガラス製代謝ケージ (容量4l, 第一化学薬品型, 石井商店)に収め、エーテル麻酔下

$^3\text{H-A II}$ を頸静脈カニューレより投与した。

(1) 急速静脈内投与

雌雄ラットの頸静脈カニューレより $^3\text{H-A II}$ $1.0\mu\text{g/kg}$ を急速に投与した。投与放射能は約 3.05MBq (約 $82.5\mu\text{Ci}$)/ kg とした。

(2) 持続静脈内投与

雌雄ラットの頸静脈カニューレよりシリンジポンブ (Model 11, Harvard Apparatus)を用いて、 $^3\text{H-A II}$ を $1.0\mu\text{g/kg/min}$ で15分間持続投与した。投与放射能は組織内濃度測定では 23MBq ($619\mu\text{Ci}$)/ kg 、他の試験では 46MBq (1.24mCi)/ kg とした。

5. 放射能の測定

各試料中の放射能の測定は、液体シンチレーションカウンタ (LSC-903, アロカ)で行った。なお、計数効率の補正は外部標準線源チャンネル比法によった。

6. 血漿中濃度の測定

(1) 急速静脈内投与

雌雄ラットに $^3\text{H-A II}$ をそれぞれ急速静脈内投与した後、経時的に頸動脈カニューレよりヘパリン処理した注射器を用いて血液を採取した。採取した血液については遠心分離 (3000rpm , 4°C , 15min)を行い、血漿を分離し、その $50\mu\text{l}$ に組織溶解剤 (Soluene-350, packard) 2ml を加えて溶解した後、シンチレーター (Hionicfluor, Packard) 13ml を加えて放射能を測定し、得られた値より血漿中濃度の推移を求めた。

(2) 持続静脈内投与

雌雄ラットに $^3\text{H-A II}$ をそれぞれ持続静脈内投与し、経時的に頸動脈カニューレよりヘパリン処理した注射器を用いて血液を採取した。放射能測定方法は前述の急速静脈内投与に準じた。

7. 全身オートラジオグラフィ

雄性ラットに $^3\text{H-A II}$ を持続静脈内投与後、所定時間にエーテル麻酔死させ、 -70°C のドライアイス・アセトンにより凍結した。得られた凍結屍体より前後肢および尾を切り離した後、マイクロームステージ上に 5% CMC で包埋し、 -70°C のドライアイス・アセトンにより凍結後、クライ

オミクローム (PMV, 450MP , LKB)に固定し、約 $35\mu\text{m}$ の凍結切片を接着テープ (No.810, 住友スリーエム)に貼りつけて削り取った。得られた凍結切片を -25°C 前後で凍結乾燥し、X線フィルム (MARG ^3H タイプ, コニカ)と密着させ、 4°C で28日間露出した後、X線フィルムを現像し、全身オートラジオグラムを作製した。

8. 組織内濃度の測定

雄性ラットに $^3\text{H-A II}$ を持続静脈内投与後エーテル麻酔下、頸動脈あるいは腹大動脈より採血致死させ、組織を摘出した。

血漿および血液はその $50\mu\text{l}$ をそれぞれ採取し、他の組織についてはその湿重量を測定し、一部の組織については小片を切り取り、その湿重量も測定した。秤量した全部あるいは一部の組織に Soluene-350 2ml を加えて溶解し、必要に応じて過酸化ベンゾイル飽和のベンゼン溶液 0.4ml を加えて脱色した後、Hionicfluor 10ml を加えて放射能を測定し、得られた値より組織内濃度を求めた。

9. 血漿蛋白結合率の測定

(1) *In vitro*

雄性ラット、雄性イヌおよび成人男子の血漿に $^3\text{H-A II}$ をそれぞれ $0.1, 1$ および 10ng/ml になるよう添加した後、その 2ml を遠心型限外ろ過器 (Centrisalt I (分画分子量 10000), Sartorius)に入れ、遠心分離 (3000rpm , 4°C , 15min)した。遠心分離前の血漿および遠心分離して得られたろ液は、それぞれの $0.1\sim 0.5\text{ml}$ に Soluene-350 2ml を加えて溶解した後、Hionicfluor 10ml をそれぞれ加えて放射能を測定し、次式より血漿蛋白結合率を求めた。

$$\text{血漿蛋白結合率}(\%) = \left(1 - \frac{\text{ろ液中放射能濃度}}{\text{血漿中放射能濃度}}\right) \times 100$$

(2) *In vivo*

試験材料および方法8.で得られた血漿、すなわち雄性ラットに $^3\text{H-A II}$ を持続静脈内投与した際に得られた血漿の一部を用い、前述の *in vitro*の方法に準じて血漿蛋白結合率を測定した。

10. 尿, 糞, 呼気中排泄率および体内残存率の測定

雌雄ラットを尿, 糞および呼気が同時に採取できるガラス製代謝ケージに収め, ^3H -A II を持続静脈内投与し, 自然排泄された尿, 糞および呼気を採取した. 呼気中トリチウム水については, 代謝ケージに空気を連続的に通じながら, 水200mlを入れたトラップ2本を測定時間ごとに交換してそれぞれに採取した.

採取した尿については, 水を加えて100ml に希釈し, その1ml に Atomlight 10ml を加えて放射能を測定し, 得られた値より尿中排泄率を求めた. 糞については, 水を加えて300ml にし, 攪拌均質化した後, その1ml に Atomlight 10ml を加えて放射能を測定し, 得られた値より糞中排泄率を求めた. 呼気中排泄率はトリチウム水を捕集した水1ml に Atomlight 10ml を加え, 放射能を測定して求めた.

尿, 糞および呼気採取終了後, ラットをエーテル麻酔死させ, 0.5M水酸化ナトリウム500ml およびトルエン80ml を加えて72時間還流して溶解した. 溶解後水を加えて800ml にし, 攪拌均質化した後, その0.1ml に Atomlight 10ml を加えて放射能を測定し, 得られた値より体内残存率を求めた.

11. 胆汁中排泄率の測定

雄性ラットに ^3H -A II を持続静脈内投与し, 胆汁, 尿および糞を採取した.

採取した胆汁については, 水を加えて10または50ml に希釈し, その1ml に Atomlight 10ml を加えて放射能を測定し, 得られた値より胆汁中排泄率を求めた. 尿については, 水を加えて50ml に希釈し, その1ml に Atomlight 10ml を加えて放射能を測定し, 得られた値より尿中排泄率を求めた. 糞については, 水を加えて200ml にした後攪拌均質化し, その1ml に Atomlight 10ml を加えて放射能を測定し, 得られた値より糞中排泄率を求めた.

胆汁, 尿および糞採取終了後, ラットをエーテル麻酔死させ, 試験材料および方法10. に準じて溶解希釈し, その0.5ml に Atomlight 10ml を加えて放射能を測定し, 得られた値より体内残存

率を求めた.

12. A II および代謝物の分析

分析は血漿, 肝臓, 腎臓, 心臓, 肺, 脾臓, 大脳, 骨格筋, 尿, 糞および胆汁について行った.

(1) 蛋白画分の分離

血漿に0.18M塩酸-エタノール (1:3) (以後酸性エタノールと略) を9倍量加え, 攪拌した後, 遠心分離 (3000rpm, 4℃, 10min) した. 組織には酸性エタノールを19倍量加え, ポリトロン (Kinematica) を用いてホモジナイズした後, 遠心分離 (3000rpm, 4℃, 10min) した. それぞれの上清および沈殿の放射能を測定した後, 上清の一部をA II, A III, Tyr および *p*-HPPA の分析に供した. さらに上清の一部に10% trichloroacetic acid (TCA) を3倍量加え, 混合後, 遠心分離 (3000rpm, 4℃, 10min) し, 上清の放射能を測定した. 酸性エタノール沈殿画分および TCA 沈殿画分を合わせて蛋白画分とした.

(2) A II およびA III の分析

A II およびA III は, 酸性エタノール沈殿上清を HPLC (1108 Solvent Delivery Model, Beckman) で分離し, ラジオアナライザー (RLC-700, アロカ) を用いて放射能を測定した. HPLC 分析条件は次のとおりとした.

Column ; Wakosil 5C₁₈ (4.6mm I.D. × 150 mm, 和光純薬工業)

Mobile phase ; 0.25 N Phosphoric acid,
Triethylamine pH 2.5-
Acetonitrile (83:17)

Flow rate ; 1.0ml/min

(3) Tyr および *p*-HPPA の分析

Tyr および *p*-HPPA は, 酸性エタノール沈殿上清を HPLC (1108 Solvent Delivery Model, Beckman) で分画後, 液体シンチレーションカウンター (LS-5801型, Beckman) で放射能を測定した. HPLC 分析条件は既報⁴⁾ のとおりとした.

(4) 揮発性画分の測定

酸性エタノール沈殿上清を凍結乾燥 (FD-8, Labconco) し, 残渣の放射能を測定して揮発性画分の放射能を算出した.

試験結果

1. 血漿中濃度

(1) 急速静脈内投与

雌雄ラットに ^3H -A IIを $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 急速静脈内投与した際の血漿中放射能濃度推移を Fig. 1 に、A II および代謝物濃度推移を併せて Fig. 2 に示す。雄性ラットに急速静脈内投与後の血漿中放射能濃度は、最初の測定時間である投与後15sec に $8.4\text{ng}/\text{ml}$ を示した後、2.5min まで半減期1.0 min で減少し、投与後20min では $0.6\text{ng}/\text{ml}$ であった。投与後30min では $0.7\text{ng}/\text{ml}$ 、投与後2 hr では $1.7\text{ng}/\text{ml}$ に一旦上昇した後、24hr まで半減期3.0day で減少した。

A II および A III は、投与後15sec にそれぞれ $1.2\text{ng}/\text{ml}$ (総放射能の14.1%, 以下同じ) および $0.3\text{ng}/\text{ml}$ (3.4%) を示した後、速やかに消失し、約1 min に検出限界以下となった。そのときの半減期は、それぞれ8.5および7.9sec であった。Tyr および *p*-HPPA は、投与後15sec にそれぞれ $1.3\text{ng}/\text{ml}$ (15.7%) および $1.3\text{ng}/\text{ml}$

(15.5%) を示した後、徐々に消失し、約30min 後に検出限界以下となった。そのときの半減期は、それぞれ5.2および5.9min であった。

雌性ラットに急速静脈内投与後の血漿中放射能濃度は、最初の測定時間である投与後15sec に $7.6\text{ng}/\text{ml}$ を示した後、2.5min まで半減期1.1 min で減少し、投与後10min では $0.6\text{ng}/\text{ml}$ であった。投与後20min では $0.7\text{ng}/\text{ml}$ 、投与後2 hr では $2.0\text{ng}/\text{ml}$ と一旦上昇した後、24hr まで半減期1.1day で減少した。

A II および A III は、投与後15sec にそれぞれ $0.9\text{ng}/\text{ml}$ (11.8%) および $0.2\text{ng}/\text{ml}$ (2.7%) を示した後、速やかに消失し、約1 min で検出限界以下となった。そのときのA II および A III の半減期は、それぞれ9.0および9.5sec であった。Tyr および *p*-HPPA は、投与後15sec にそれぞれ $1.6\text{ng}/\text{ml}$ (21.6%) および $1.4\text{ng}/\text{ml}$ (18.8%) を示した後、徐々に消失し、約30min 後に検出限界以下となった。そのときの半減期は、それぞれ5.3および5.7min であった。

Fig. 1 Radioactivity concentrations in plasma after single bolus intravenous administration of ^3H -angiotensin II to rats (dose: $1\mu\text{g}/\text{kg}$)
○, Male; ●, Female

Data are expressed as the mean values $\pm$ S.E. of three animals.

Fig. 2 Radioactivity concentrations of angiotensin II and its metabolites in plasma after single bolus intravenous administration of ^3H -angiotensin II to male and female rats (dose: $1\mu\text{g/kg}$)

○—○, Total; ●—●, A II; ○—○, A III; ●—●, Tyr; △—△, p-HPPA
Data are expressed as the mean values of three animals.

Fig. 3 Radioactivity concentrations in plasma during and after single intravenous infusion of ^3H -angiotensin II to rats (dose: $1\mu\text{g/kg/min}$, 15min infusion)

○, Male; ●, Female

Data are expressed as the mean values $\pm$ S.E. of three animals.

(2) 持続静脈内投与

雌雄ラットに ^3H -A IIを $1\mu\text{g/kg/min}$ で15分間持続静脈内投与した際の血漿中放射能濃度推移をFig. 3に、A IIおよび代謝物濃度推移を併せてFig. 4に示す。雄性ラットに持続静脈内投与後の血漿中放射能濃度は、投与開始後1minに 11.6ng/ml を示した後、5minでは 24.3ng/ml 、15minでは 36.5ng/ml であった。投与終了後15secに 40.0ng/ml を示した後、2.5minまで半減期2.2minで減少し、10minでは 11.1ng/ml であった。投与終了後20minでは 14.3ng/ml を示し、投与終了後8hrには 31.9ng/ml に一旦上昇した後、24hrには 22.6ng/ml に減少した。

A IIおよびA IIIは、投与開始後1minにそれぞれ 3.4ng/ml (30.0%) および 0.6ng/ml (4.8%)、投与開始後15minでは、それぞれ 3.9ng/ml (10.5%) および 0.7ng/ml (2.0%) と持続注入中はほぼ一定の濃度を示した。投与終了後は速やかに血漿中から消失し、1min以内に検出

限界以下となった。そのときの半減期は、それぞれ12.1および6.7secであった。Tyr および p -HPPA は、投与開始後1minにそれぞれ 1.6ng/ml (13.6%) および 1.6ng/ml (12.9%) を示し、持続注入中時間とともに増加し、投与開始後15minにはそれぞれ 6.7ng/ml (18.4%) および 5.8ng/ml (15.9%) に達した。投与終了後は徐々に消失し、約60min後に検出限界以下となった。そのときの半減期は、それぞれ6.8min および7.8minであった。

雌性ラットに持続静脈内投与後の血漿中放射能濃度は、投与開始後1minでは 9.8ng/ml を示した後、5minでは 20.6ng/ml 、15minでは 28.3ng/ml であった。投与終了後15secでは 32.8ng/ml を示した後、2.5minまで半減期2.4minで減少し、10minでは 12.3ng/ml であった。投与終了後20minでは 16.7ng/ml 、投与終了後2hrには 35.2ng/ml と一旦上昇した後、24hrには 24.5ng/ml に減少した。

A IIおよびA IIIは、投与開始後1minにそれ

Fig. 4 Radioactivity concentrations of angiotensin II and its metabolites in plasma during and after single intravenous infusion of ^3H -angiotensin II to male and female rats (dose: $1\mu\text{g/kg/min}$, 15min infusion)

○—○, Total; ●—●, A II; ○—○, A III; ●—●, Tyr; △—△, *p*-HPPA
Data are expressed as the mean values of three animals.

ぞれ2.0ng/ml (20.1%) および0.4ng/ml (3.9%), 投与開始後15min では, それぞれ2.0ng/ml (6.7%) および0.9ng/ml (3.1%) と持続注入中はほぼ一定の濃度を示した. 投与終了後は速やかに血漿中から消失し, 1min 以内に検出限界以下となった. そのときの半減期は, それぞれ16.1および7.6sec であった. Tyr および *p*-HPPA は, 投与開始後1min にそれぞれ1.1ng/ml (10.7%) および0.7ng/ml (7.2%) を示し, 持続注入時間とともに増加し, 投与開始後15min には, それぞれ6.2ng/ml (21.7%) および5.1ng/ml (18.1%) に達した. 投与終了後は徐々に消失し, 約60min 後で検出限界以下となった. そのときの半減期は, それぞれ7.0および8.5min であった.

2. 全身オートラジオグラム

雄性ラットに³H-A IIを1μg/kg/min で15分間持続静脈内投与後の全身オートラジオグラムをFig. 5 A~5 Eに示す.

投与終了直後では腸内容物, 膀胱内尿, 脾臓, 腎臓, 骨髓, 皮膚(毛根部), 副腎(表面および髄質部), 胃壁, 鼻腔に最も高い放射能が認められ, ついで腸壁, 精嚢(嚢), 肺, 肝臓, 松果体, 下垂体, 甲状腺, 顎下腺, 眼球(水晶体周辺), 脾臓, ハーダー腺, 心臓, 包皮腺で放射能が高かった. 胸腺, 前立腺, 精巣上体には血液とほぼ同程度か, やや高い放射能が認められた. 褐色脂肪, 精巣, 骨格筋, 脳には血液とほぼ同程度か, やや低い放射能が認められた.

投与終了後5min では, 投与終了直後と比較し, 血液および肺の放射能は顕著に減少し, 心臓ではわずかに減少した. 脾臓および肝臓の放射能は顕著に増加した. 他の組織では投与終了直後とほぼ同程度かわずかに増加した.

投与終了後30min の放射能の分布パターンは, 投与終了後5min とほぼ同様であった.

投与終了後24hr では, 全体の放射能は低下したものの, その分布パターンは投与終了後30min とほぼ同様であった. なお, 腸内容物の放射能の分布は小腸部分から, 盲腸, 大腸部分に時間の経過とともに移動し, 減少した.

投与終了後168hr では, 全体の放射能はさら

に低下したが, 包皮腺, 眼球(水晶体周辺), 皮膚(表面)にやや高い放射能が認められ, ついで精嚢(内部)で高かった. 他の組織では血液とほぼ同程度か, やや低い放射能が認められた.

なお, 白色脂肪にはいずれの時点においても放射能は認められなかった.

3. 組織内濃度

雄性ラットに³H-A IIを1μg/kg/min で15分間持続静脈内投与後の組織内放射能濃度をTable Iに示す. 肝臓および小腸では, 投与終了後5min に最高濃度を示した. 顎下腺, 脾臓, 骨髓, 胃, 十二指腸, 盲腸および精嚢では30min に, 大脳, 小脳, 眼球, 胸腺, 骨格筋, 白色脂肪, 褐色脂肪, 精巣, 精巣上体および皮膚では24hr にそれぞれ最高濃度を示した. 他の組織では持続静脈内投与終了直後に最高濃度を示した.

投与終了直後では脾臓, 肝臓, 腎臓および骨髓に最も高い放射能濃度が認められ, 血漿中放射能濃度28.5ng/ml の2.7~2.0倍を示した. ついで副腎に高く, 血漿中放射能濃度の1.6倍を示した. 精巣, 眼球, 大脳, 小脳, 骨格筋, 精巣上体, 褐色脂肪および精嚢では低く, 血漿中放射能濃度の43~25%であった. 白色脂肪では最も低く, 血漿中放射能濃度の6%であった.

投与終了後5min では放射能は脾臓, 肝臓および骨髓に最も高く認められ, 血漿中放射能濃度12.5ng/ml の6.5~5.5倍を示した. ついで腎臓, 胃, 副腎, 小腸, 下垂体, 十二指腸, 脾臓, 盲腸, 顎下腺, 甲状腺, 精嚢および大腸に高く, 血漿中放射能濃度の4.2~1.8倍認められた. 白色脂肪は最も低く, 血漿中放射能濃度の14%であった.

投与終了後30min では, 放射能は脾臓および骨髓に最も高く認められ, 血漿中放射能濃度14.0ng/ml のそれぞれ8.7倍および5.1倍を示した. ついで胃, 腎臓, 肝臓, 十二指腸, 下垂体, 顎下腺, 脾臓, 小腸, 副腎, 精嚢, 盲腸および甲状腺に高く, 血漿中放射能濃度の4.2~1.9倍認められた. 白色脂肪では最も低く, 血漿中放射能濃度の14%であった.

投与終了後24hr では, 放射能は骨髓に最も高く認められ, 血漿中放射能濃度17.5ng/ml の

Fig. 5A Whole body autoradiograms after the end of single intravenous infusion of ^3H -angiotensin II to a male rat (dose: $1\mu\text{g/kg/min}$, 15min infusion)

1. Adrenal gland	11. Intestinal contents	21. Preputial gland
2. Blood	12. Intestinal wall	22. Prostate gland
3. Bone marrow	13. Kidney	23. Seminal vesicle
4. Brain	14. Liver	24. Skeletal muscle
5. Brown fat	15. Lung	25. Skin
6. Epididymis	16. Mandibular gland	26. Spleen
7. Eyeball	17. Nasal cavity	27. Testis
8. Gastric wall	18. Pancreas	28. Thymus
9. Harderian gland	19. Pineal body	29. Thyroid gland
10. Heart	20. Pituitary gland	30. Urine in bladder

5 min

Fig. 5B (continued)

30 min

Fig. 5C (continued)

24 hr

Fig. 5D (continued)

168 hr

Fig. 5E (continued)

Table I Radioactivity concentrations in tissues after single intravenous infusion of ^3H -angiotensin II to male rats (dose: $1\mu\text{g/kg/min}$, 15min infusion)

Tissue	Radioactivity concentrations (ng equiv. of angiotensin II/g or ml)				
	Just after	5 min	30 min	24 hr	168 hr
Plasma	28.5 $\pm$ 0.9	12.5 $\pm$ 0.2	14.0 $\pm$ 0.9	17.5 $\pm$ 0.1	6.8 $\pm$ 0.6
Blood	20.7 $\pm$ 0.9	10.5 $\pm$ 0.1	10.2 $\pm$ 0.5	15.4 $\pm$ 0.4	11.8 $\pm$ 0.1
Cerebrum	7.5 $\pm$ 0.1	8.2 $\pm$ 0.1	8.1 $\pm$ 0.4	9.7 $\pm$ 0.2	7.1 $\pm$ 0.1
Cerebellum	8.7 $\pm$ 0.2	8.4 $\pm$ 0.2	8.7 $\pm$ 0.1	9.8 $\pm$ 0.3	7.2 $\pm$ 0.1
Pituitary gland	42.0 $\pm$ 0.6	36.5 $\pm$ 1.8	41.8 $\pm$ 1.8	34.2 $\pm$ 3.2	11.7 $\pm$ 1.8
Eyeball	7.2 $\pm$ 0.1	7.3 $\pm$ 0.3	7.6 $\pm$ 0.1	8.2 $\pm$ 0.1	5.8 $\pm$ 0.1
Mandibular gland	29.1 $\pm$ 1.4	26.3 $\pm$ 4.0	36.4 $\pm$ 1.8	23.8 $\pm$ 0.4	13.9 $\pm$ 0.6
Thyroid gland	26.5 $\pm$ 0.8	24.9 $\pm$ 5.2	26.2 $\pm$ 2.5	20.4 $\pm$ 0.5	11.2 $\pm$ 0.9
Thymus	14.3 $\pm$ 0.0	14.4 $\pm$ 0.3	17.5 $\pm$ 0.4	21.0 $\pm$ 0.4	9.2 $\pm$ 0.1
Heart	17.9 $\pm$ 1.0	14.0 $\pm$ 0.2	13.5 $\pm$ 0.3	15.6 $\pm$ 0.1	11.0 $\pm$ 0.4
Lung	20.3 $\pm$ 1.9	17.5 $\pm$ 0.3	15.1 $\pm$ 0.6	16.1 $\pm$ 0.8	8.8 $\pm$ 0.6
Liver	69.1 $\pm$ 4.2	74.4 $\pm$ 3.5	51.0 $\pm$ 1.8	24.9 $\pm$ 0.4	11.6 $\pm$ 0.1
Kidney	57.8 $\pm$ 2.9	53.0 $\pm$ 0.9	53.5 $\pm$ 3.0	32.6 $\pm$ 1.7	13.7 $\pm$ 0.3
Adrenal gland	44.9 $\pm$ 0.6	41.7 $\pm$ 0.7	34.7 $\pm$ 1.2	29.5 $\pm$ 0.4	12.1 $\pm$ 0.2
Spleen	37.3 $\pm$ 1.7	32.3 $\pm$ 0.9	35.9 $\pm$ 1.2	25.6 $\pm$ 0.4	10.2 $\pm$ 0.5
Pancreas	76.1 $\pm$ 5.1	80.7 $\pm$ 0.7	121.6 $\pm$ 9.0	21.6 $\pm$ 0.7	8.3 $\pm$ 1.0
Skeletal muscle	9.1 $\pm$ 1.2	10.2 $\pm$ 0.5	10.2 $\pm$ 0.9	12.2 $\pm$ 0.5	8.4 $\pm$ 0.3
Fat	1.7 $\pm$ 0.1	1.7 $\pm$ 0.1	1.9 $\pm$ 0.1	2.3 $\pm$ 0.2	1.2 $\pm$ 0.1
Brown fat	10.4 $\pm$ 1.2	10.0 $\pm$ 1.6	11.9 $\pm$ 0.8	15.3 $\pm$ 0.5	7.7 $\pm$ 0.1
Aorta	15.8 $\pm$ 1.1	13.1 $\pm$ 0.9	9.2 $\pm$ 1.2	9.8 $\pm$ 0.8	5.9 $\pm$ 0.4
Bone marrow	56.8 $\pm$ 2.1	69.1 $\pm$ 0.5	71.4 $\pm$ 1.4	54.2 $\pm$ 3.7	10.6 $\pm$ 0.6
Testis	7.1 $\pm$ 0.5	7.0 $\pm$ 0.2	7.1 $\pm$ 0.0	11.6 $\pm$ 0.3	7.9 $\pm$ 0.3
Epididymis	9.9 $\pm$ 0.7	10.6 $\pm$ 0.2	9.8 $\pm$ 0.2	13.3 $\pm$ 0.9	8.0 $\pm$ 0.2
Seminal vesicle	12.3 $\pm$ 2.5	24.2 $\pm$ 3.5	31.1 $\pm$ 0.6	21.9 $\pm$ 0.5	16.6 $\pm$ 1.6
Skin	16.8 $\pm$ 0.8	17.1 $\pm$ 0.8	18.5 $\pm$ 0.5	22.2 $\pm$ 1.8	6.1 $\pm$ 0.2
Stomach	41.4 $\pm$ 0.9	46.4 $\pm$ 2.8	58.9 $\pm$ 1.9	19.5 $\pm$ 0.2	8.5 $\pm$ 0.2
Duodenum	33.9 $\pm$ 4.2	33.5 $\pm$ 2.8	46.1 $\pm$ 9.3	19.5 $\pm$ 1.5	6.1 $\pm$ 0.6
Small intestine	34.9 $\pm$ 1.6	38.1 $\pm$ 1.6	35.3 $\pm$ 8.3	23.0 $\pm$ 2.6	5.4 $\pm$ 1.1
Large intestine	23.5 $\pm$ 1.4	22.8 $\pm$ 1.0	19.4 $\pm$ 2.8	19.7 $\pm$ 1.4	9.7 $\pm$ 2.2
Cecum	22.6 $\pm$ 2.9	28.3 $\pm$ 1.6	29.9 $\pm$ 0.8	20.4 $\pm$ 0.5	4.8 $\pm$ 0.4

Data are expressed as the mean values $\pm$ S.E. of three animals.

3.1倍を示した。ついで下垂体、腎臓および副腎に高く、血漿中放射能濃度の2.0~1.7倍の濃度が認められた。眼球では低く、血漿中放射能濃度の47%であり、白色脂肪では最も低く、血漿中放射能濃度の13%であった。

投与終了後168hrでは、放射能は精嚢に最も高く認められ、血漿中放射能濃度6.8ng/mlの2.4倍を示した。ついで顎下腺、腎臓、副腎、血液、下垂体、肝臓、甲状腺、心臓、骨髄に高く、血漿中放射能濃度の2.0~1.6倍の濃度が認められた。白色脂肪では最も低く、血漿中放射能濃度の

18%であった。

各組織についてのA IIおよびその代謝物等の分析結果をTable II~Kに示す。血漿中では投与終了直後放射能が、わずかにA IIおよびA IIIに認められたほか、Tyr (13.0%)、*p*-HPPA (14.0%)、揮発性画分 (9.1%) および蛋白画分 (25.3%) に認められた。時間の経過とともにA IIおよびA IIIは速やかに、Tyr および *p*-HPPA は徐々に消失し、揮発性画分および蛋白画分中の放射能の割合は増加し、投与終了後24および168hrでは、放射能の大部分が揮発性画分 (43.4および

Table II Radioactivity concentrations of angiotensin II, its metabolites, volatile fraction and protein fraction in plasma after single intravenous infusion of ^3H -angiotensin II to male rats (dose: $1\mu\text{g/kg/min}$, 15min infusion)

	Radioactivity concentration (ng equiv. of angiotensin II/ml) (% of tissue activity)				
	Just after	5 min	30 min	24 hr	168 hr
A II	0.1 ± 0.0 (0.4)	—	—	—	—
A III	0.2 ± 0.1 (0.7)	—	—	—	—
Tyr	3.7 ± 0.3 (13.0)	2.1 ± 0.1 (16.8)	0.6 ± 0.1 (4.3)	—	—
<i>p</i> -HPPA	4.0 ± 0.4 (14.0)	1.4 ± 0.1 (11.2)	0.6 ± 0.1 (4.3)	—	—
Volatile fraction	2.6 ± 0.5 (9.1)	2.5 ± 0.5 (20.0)	5.1 ± 0.4 (36.4)	7.6 ± 0.3 (43.4)	3.7 ± 0.2 (54.4)
Protein fraction	7.2 ± 0.7 (25.3)	3.6 ± 0.6 (28.8)	9.3 ± 0.7 (66.4)	11.3 ± 0.5 (64.6)	3.5 ± 0.4 (51.5)
Total	17.8 (62.5)	9.6 (76.8)	15.6 (111.4)	18.9 (108.0)	7.2 (105.9)

Date are expressed as the mean values $\pm$ S.E. of three animals.

— : Not determined

Table III Radioactivity concentrations of angiotensin II, its metabolites, volatile fraction and protein fraction in liver after single intravenous infusion of ^3H -angiotensin II to male rats (dose: $1\mu\text{g/kg/min}$, 15min infusion)

	Radioactivity concentration (ng equiv. of angiotensin II/g) (% of tissue activity)				
	Just after	5 min	30 min	24 hr	168 hr
A II	2.6 ± 0.7 (3.8)	1.4 ± 0.2 (1.9)	0.2 ± 0.1 (0.4)	—	—
A III	0.1 ± 0.1 (0.1)	<0.05	<0.05	—	—
Tyr	1.9 ± 0.2 (2.7)	1.4 ± 0.1 (1.9)	0.5 ± 0.1 (1.0)	—	—
<i>p</i> -HPPA	6.9 ± 0.2 (10.0)	5.5 ± 0.3 (7.4)	2.6 ± 0.2 (5.1)	—	—
Volatile fraction	1.9 ± 0.2 (2.7)	2.4 ± 0.5 (3.2)	2.4 ± 0.1 (4.7)	2.3 ± 0.2 (9.2)	1.3 ± 0.1 (11.2)
Protein fraction	49.4 ± 3.5 (71.5)	59.6 ± 2.3 (80.0)	44.9 ± 1.7 (88.0)	23.0 ± 0.5 (92.4)	10.5 ± 0.1 (90.5)
Total	62.8 (90.9)	70.3 (94.5)	50.6 (99.2)	25.3 (101.6)	11.8 (101.7)

Date are expressed as the mean values $\pm$ S.E. of three animals.

— : Not determined

Table IV Radioactivity concentrations of angiotensin II, its metabolites, volatile fraction and protein fraction in kidney after single intravenous infusion of ^3H -angiotensin II to male rats (dose: $1\mu\text{g/kg/min}$, 15min infusion)

	Radioactivity concentration (ng equiv. of angiotensin II/g) (% of tissue activity)				
	Just after	5 min	30 min	24 hr	168 hr
A II	2.6 ± 0.5 (4.5)	0.5 ± 0.2 (0.9)	0.2 ± 0.0 (0.4)	—	—
A III	N.D.	N.D.	N.D.	—	—
Tyr	5.8 ± 0.2 (10.0)	3.6 ± 0.2 (6.8)	1.6 ± 0.1 (3.0)	—	—
<i>p</i> -HPPA	7.8 ± 0.5 (13.5)	4.5 ± 0.4 (8.5)	3.3 ± 0.2 (6.2)	—	—
Volatile fraction	5.1 ± 0.8 (8.8)	4.0 ± 0.5 (7.5)	7.7 ± 0.5 (14.4)	10.0 ± 0.5 (30.7)	6.3 ± 0.1 (46.0)
Protein fraction	22.8 ± 5.4 (39.4)	28.1 ± 1.9 (53.0)	34.5 ± 2.6 (64.5)	25.1 ± 1.7 (77.0)	9.2 ± 0.2 (67.2)
Total	44.0 (76.1)	40.7 (76.8)	47.3 (88.4)	35.1 (107.7)	15.5 (113.1)

Data are expressed as the mean values $\pm$ S.E. of three animals.

N.D. : Not detected

— : Not determined

Table V Radioactivity concentrations of angiotensin II, its metabolites, volatile fraction and protein fraction in lung after single intravenous infusion of ^3H -angiotensin II to male rats (dose: $1\mu\text{g/kg/min}$, 15min infusion)

	Radioactivity concentration (ng equiv. of angiotensin II/g) (% of tissue activity)				
	Just after	5 min	30 min	24 hr	168 hr
A II	0.2 ± 0.1 (1.0)	0.1 ± 0.1 (0.6)	N.D.	—	—
A III	N.D.	N.D.	N.D.	—	—
Tyr	2.9 ± 0.2 (14.3)	1.9 ± 0.2 (10.9)	0.5 ± 0.1 (3.3)	—	—
<i>p</i> -HPPA	2.5 ± 0.1 (12.3)	1.1 ± 0.2 (6.3)	0.6 ± 0.1 (4.0)	—	—
Volatile fraction	3.9 ± 0.4 (19.2)	3.8 ± 0.4 (21.7)	3.7 ± 0.1 (24.5)	6.9 ± 0.5 (42.9)	4.3 ± 0.5 (48.9)
Protein fraction	8.8 ± 0.2 (43.3)	9.9 ± 0.3 (56.6)	11.5 ± 0.3 (76.2)	11.5 ± 0.4 (71.4)	5.7 ± 0.2 (64.8)
Total	18.3 (90.1)	16.8 (96.0)	16.3 (107.9)	18.4 (114.3)	10.0 (113.6)

Data are expressed as the mean values $\pm$ S.E. of three animals.

N.D. : Not detected

— : Not determined

Table VI Radioactivity concentrations of angiotensin II, its metabolites, volatile fraction and protein fraction in heart after single intravenous infusion of ^3H -angiotensin II to male rats (dose: $1\mu\text{g/kg/min}$, 15min infusion)

	Radioactivity concentration (ng equiv. of angiotensin II/g) (% of tissue activity)				
	Just after	5 min	30 min	24 hr	168 hr
A II	0.1 ± 0.1 (0.6)	N.D.	—	—	—
A III	N.D.	N.D.	—	—	—
Tyr	4.2 ± 0.3 (23.5)	1.8 ± 0.1 (12.9)	0.4 ± 0.1 (3.0)	—	—
<i>p</i> -HPPA	3.6 ± 0.8 (20.1)	3.3 ± 0.2 (23.6)	2.1 ± 0.3 (15.6)	—	—
Volatile fraction	3.0 ± 0.3 (16.8)	3.4 ± 0.6 (24.3)	3.9 ± 0.1 (28.9)	7.2 ± 0.2 (46.2)	5.2 ± 0.6 (47.3)
Protein fraction	5.1 ± 1.0 (28.5)	4.7 ± 0.2 (33.6)	8.8 ± 0.2 (65.2)	10.8 ± 0.1 (69.2)	8.2 ± 0.6 (74.5)
Total	16.0 (89.4)	13.2 (94.3)	15.2 (112.6)	18.0 (115.3)	13.4 (121.8)

Date are expressed as the mean values $\pm$ S.E. of three animals.

N.D. : Not detected

— : Not determined

Table VII Radioactivity concentrations of angiotensin II, its metabolites, volatile fraction and protein fraction in pancreas after single intravenous infusion of ^3H -angiotensin II to male rats (dose: $1\mu\text{g/kg/min}$, 15min infusion)

	Radioactivity concentration (ng equiv. of angiotensin II/g) (% of tissue activity)				
	Just after	5 min	30 min	24 hr	168 hr
A II	N.D.	—	—	—	—
A III	N.D.	—	—	—	—
Tyr	15.1 ± 0.4 (19.8)	10.7 ± 1.8 (13.3)	1.0 ± 0.2 (0.8)	—	—
<i>p</i> -HPPA	16.3 ± 0.6 (21.4)	10.7 ± 1.3 (13.3)	2.4 ± 0.2 (2.0)	—	—
Volatile fraction	5.9 ± 0.5 (7.8)	10.4 ± 1.7 (12.9)	3.7 ± 0.1 (3.0)	8.0 ± 0.3 (37.0)	3.4 ± 0.4 (41.0)
Protein fraction	29.9 ± 6.4 (39.3)	49.3 ± 4.9 (61.1)	112.2 ± 9.4 (92.3)	17.2 ± 0.8 (79.6)	6.0 ± 0.8 (72.3)
Total	67.2 (88.3)	81.1 (100.5)	119.3 (98.1)	25.2 (116.7)	9.4 (113.3)

Date are expressed as the mean values $\pm$ S.E. of three animals.

N.D. : Not detected

— : Not determined

Table VII Radioactivity concentrations of angiotensin II, its metabolites, volatile fraction and protein fraction in cerebrum after single intravenous infusion of ^3H -angiotensin II to male rats (dose: $1\mu\text{g/kg/min}$, 15min infusion)

	Radioactivity concentration (ng equiv. of angiotensin II/g) (% of tissue activity)				
	Just after	5 min	30 min	24 hr	168 hr
A II	N.D.	—	—	—	—
A III	N.D.	—	—	—	—
Tyr	1.9 ± 0.2 (25.3)	1.4 ± 0.1 (17.1)	0.6 ± 0.1 (7.4)	—	—
<i>p</i> -HPPA	1.4 ± 0.1 (18.7)	1.2 ± 0.1 (14.6)	1.7 ± 0.3 (21.0)	—	—
Volatile fraction	1.7 ± 0.1 (22.7)	2.1 ± 0.2 (25.6)	2.5 ± 0.2 (30.9)	4.2 ± 0.3 (43.3)	4.6 ± 0.3 (64.8)
Protein fraction	1.3 ± 0.1 (17.3)	3.1 ± 0.1 (37.8)	4.3 ± 0.5 (53.1)	4.8 ± 0.2 (49.5)	3.2 ± 0.2 (45.1)
Total	6.3 (84.6)	7.8 (95.1)	9.1 (112.3)	9.0 (92.8)	7.8 (110.0)

Date are expressed as the mean values $\pm$ S.E. of three animals.

N.D. : Not detected

— : Not determined

Table VIII Radioactivity concentrations of angiotensin II, its metabolites, volatile fraction and protein fraction in skeletal muscle after single intravenous infusion of ^3H -angiotensin II to male rats (dose: $1\mu\text{g/kg/min}$, 15min infusion)

	Radioactivity concentration (ng equiv. of angiotensin II/g) (% of tissue activity)				
	Just after	5 min	30 min	24 hr	168 hr
A II	N.D.	—	—	—	—
A III	N.D.	—	—	—	—
Tyr	2.8 ± 0.4 (30.8)	2.6 ± 0.1 (25.5)	0.7 ± 0.1 (6.9)	—	—
<i>p</i> -HPPA	2.3 ± 0.3 (25.3)	2.2 ± 0.3 (21.6)	1.6 ± 0.6 (15.7)	—	—
Volatile fraction	0.8 ± 0.1 (8.8)	1.6 ± 0.1 (15.7)	2.1 ± 0.2 (20.6)	4.7 ± 0.2 (38.5)	3.3 ± 0.1 (39.3)
Protein fraction	1.9 ± 0.3 (20.9)	2.9 ± 0.2 (28.4)	5.4 ± 0.8 (52.9)	6.7 ± 0.1 (54.9)	4.9 ± 0.3 (58.3)
Total	7.8 (85.7)	9.3 (91.2)	9.8 (96.1)	11.4 (93.4)	8.2 (97.6)

Date are expressed as the mean values $\pm$ S.E. of three animals.

N.D. : Not detected

— : Not determined

54.4%) および蛋白画分 (64.6 および 51.5%) に認められた。

肝臓中では投与終了直後に放射能が、A II (3.8%), A III (0.1%), Tyr (2.7%), *p*-HPPA (10.6%) および揮発性画分 (2.7%) にわずか、蛋白画分 (71.5%) に多量に認められた。時間の経過とともに A II, A III, Tyr および *p*-HPPA は徐々に消失し、投与終了後 24 および 168hr では、放射能の大部分が揮発性画分 (9.2 および 11.2%) および蛋白画分 (92.4 および 90.5%) に認められた。肝臓中における A II の消失半減期は 8.9 min であった。

腎臓中では投与終了直後に放射能が、A II (4.5%), Tyr (10.0%), *p*-HPPA (13.5%), 揮発性画分 (8.8%) および蛋白画分 (39.4%) に認められた。時間の経過とともに A II, Tyr および *p*-HPPA は徐々に消失し、揮発性画分および蛋白画分中の放射能の割合は増加し、投与終了後 24 および 168hr では、放射能の大部分が揮発性画分 (30.7 および 46.0%) および蛋白画分 (77.0 および 67.2%) に認められた。腎臓中における A II の消失半減期は 10.1 min であった。

肺中では投与終了直後に放射能が、A II (1.0%), Tyr (14.3%), *p*-HPPA (12.3%), 揮発性画分 (19.2%) および蛋白画分 (43.3%) に認められた。時間の経過とともに A II, A III, Tyr および *p*-HPPA は徐々に消失し、揮発性画分および蛋白画分中の放射能の割合は増加し、投与終了後 24 および 168hr では、放射能の大部分が揮発性画分 (42.9 および 48.9%) および蛋白画分 (71.4 および 64.8%) に認められた。肺中における A II の消失半減期は 3.2 min であった。

心臓中では投与終了直後に放射能が、A II (0.6%) のほか、Tyr (23.5%) および *p*-HPPA (20.1%) に比較的多くの割合で、さらに揮発性画分 (16.8%) および蛋白画分 (28.5%) に認められた。時間の経過とともに A II は速やかに、Tyr および *p*-HPPA は徐々に消失し、揮発性画分および蛋白画分中の放射能の割合は増加し、投与終了後 24 および 168hr では、放射能の大部分が揮発性画分 (46.2 および 47.3%) および蛋白画分 (69.2 および 74.5%) に認められた。

脾臓中では投与終了直後に放射能が、A II およ

び A III には認められず、Tyr (19.8%) および *p*-HPPA (21.4%) に比較的多くの量および割合で、さらに揮発性画分 (7.8%) および蛋白画分 (39.3%) に認められた。時間の経過とともに Tyr および *p*-HPPA は徐々に消失し、揮発性画分および蛋白画分中の放射能の割合は増加し、投与終了後 24 および 168hr では、放射能の大部分が揮発性画分 (37.0 および 41.0%) および蛋白画分 (79.6 および 72.3%) に認められた。

大脳中では投与終了直後に放射能が、A II および A III には認められず、Tyr (25.3%) および *p*-HPPA (18.7%) に比較的多くの割合で、さらに揮発性画分 (22.7%) および蛋白画分 (17.3%) に認められた。時間の経過とともに Tyr および *p*-HPPA は徐々に消失し、揮発性画分および蛋白画分中の放射能の割合は増加し、投与終了後 24 および 168hr では、放射能の大部分が揮発性画分 (43.3 および 64.8%) および蛋白画分 (49.5 および 45.1%) に認められた。

骨格筋中では投与終了直後に放射能が、A II および A III には認められず、Tyr (30.8%) および *p*-HPPA (25.3%) に比較的多くの割合で、さらに揮発性画分 (8.8%) および蛋白画分 (20.9%) に認められた。時間の経過とともに Tyr および *p*-HPPA は徐々に消失し、揮発性画分および蛋白画分中の放射能の割合は増加し、投与終了後 24 および 168hr では、放射能の大部分が揮発性画分 (38.5 および 39.3%) および蛋白画分 (54.9 および 58.3%) に認められた。

4. 血漿蛋白への結合

(1) *In vitro*

^3H -A II の最終濃度を 0.1, 1 および 10 ng/ml とした際の血漿蛋白結合率は、Table X で示すように、雄性ラットでは 54.6~56.3%, 雄性イスでは 51.6~55.0%, 成人男子では 52.7~55.7% であった。

(2) *In vivo*

雄性ラットに ^3H -A II を 1 $\mu\text{g/kg/min}$ で 15 分間持続静脈内投与した際の血漿中総放射能の蛋白結合率は Table XI で示すように、投与終了直後では 30.9%, 投与終了後 5 min では 25.3%, 30 min では 68.4%, 24hr では 62.0%, 168hr で

Table X Binding of ^3H -angiotensin II to male rat, dog and human plasma proteins at concentrations of 0.1, 1 and 10 ng/ml (*in vitro*)

Concentration (ng/ml)	Ratio of binding (%)		
	Rat plasma	Dog plasma	Human plasma
0.1	54.6 $\pm$ 0.4	51.6 $\pm$ 0.2	52.7 $\pm$ 0.3
1	56.3 $\pm$ 1.5	55.0 $\pm$ 0.3	55.7 $\pm$ 0.7
10	55.2 $\pm$ 1.4	54.3 $\pm$ 0.5	55.5 $\pm$ 0.9

Date are expressed as the mean values $\pm$ S.E. of three experiments.

Table XI Binding of radioactive substances to plasma proteins after single intravenous infusion of ^3H -angiotensin II to male rats (dose: 1 μg /kg/min, 15min infusion)

Time	Ratio of binding (%)
Just after	30.9 $\pm$ 0.5
5 min	25.3 $\pm$ 0.6
30	68.4 $\pm$ 1.0
24 hr	62.0 $\pm$ 1.1
168	35.3 $\pm$ 2.1

Date are expressed as the mean values $\pm$ S.E. of three animals.

は35.3%であった。

5. 尿, 糞, 呼気中への排泄および体内残存率

雌雄ラットに ^3H -A IIを1 μg /kg/minで15分間持続静脈内投与した際の放射能の尿, 糞, 呼気中排泄率および体内残存率を Table XIIに, 尿および糞中のA IIおよびその代謝物等の分析結果を Table XIII, XIVに示す。

雄性ラットに持続静脈内投与した際, 尿中には投与開始後4hrまでに投与量の3.0%, 24hrまでに6.9%, 96hrまでに16.8%, 168hrまでに24.3%が排泄された。糞中には投与開始後24hrまでに投与量の1.0%, 96hrまでに6.1%, 168hrまでに9.8%が排泄された。呼気中には投与開始後24hrまでに投与量の0.8%, 96hrまでに3.6%, 168hrまでに5.8%が排泄された。投与開始後168hrまでの尿, 糞および呼気中総排泄率は投与量の39.8%であった。また, 投与開始後168hrにおける体内残存率は投与量の56.6%であった。

雌性ラットに持続静脈内投与した際, 尿中には

投与開始後4hrまでに投与量の3.0%, 24hrまでに7.6%, 96hrまでに20.7%, 168hrまでに30.5%が排泄された。糞中には投与開始後24hrまでに投与量の1.1%, 96hrまでに6.3%, 168hrまでに9.2%が排泄された。呼気中には投与開始後24hrまでに投与量の1.1%, 96hrまでに3.9%, 168hrまでに5.5%が排泄された。投与開始後168hrまでの尿, 糞および呼気中総排泄率は投与量の45.2%であった。また, 投与開始後168hrにおける体内残存率は投与量の52.2%であった。

尿中放射能にA IIおよびA IIIは認められず, 投与終了後初期に Tyr および *p*-HPPA が認められた。排泄された総放射能に対するそれらの割合は, 投与終了後24hrまでにそれぞれ1.6および5.3%であった。その他排泄された放射能の大部分は揮発性画分に認められ, 投与終了後168hrまでに81.5%となった。また, 2.9%が蛋白画分中に認められた。

糞中放射能にA IIおよびA IIIは認められず, 投与終了後初期に Tyr および *p*-HPPA がわずかに認められ, 排泄された総放射能に対するその割合は, 投与終了後24hrまでに1.0%であった。排泄された放射能の大部分は揮発性画分および蛋白画分としてであり, 投与終了後168hrまでにそれぞれ70.4および29.6%を示した。

6. 胆汁中への排泄

雄性ラットに ^3H -A IIを1 μg /kg/minで15分間持続静脈内投与した際の胆汁中排泄率を Table XVに, 胆汁中のA IIおよびその代謝物等の分析結果を Table XVIに示す。

胆汁中には投与終了時までに投与量の0.2%,

Table XII Cumulative excretion of radioactivity in urine, feces and expired air as ^3H -water after single intravenous infusion of ^3H -angiotensin II to rats (dose: $1\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, 15min infusion)

Time (hr)	Excretion of radioactivity (% of dose)							
	Male				Female			
	Urine	Feces	Expired air	Total	Urine	Feces	Expired air	Total
0—4	3.0 ± 0.2	—	<0.05	3.1 ± 0.2	3.0 ± 0.2	—	0.1 ± 0.0	3.1 ± 0.2
0—8	4.2 ± 0.5	—	0.1 ± 0.0	4.3 ± 0.4	4.1 ± 0.2	—	0.2 ± 0.0	4.3 ± 0.2
0—24	6.9 ± 0.4	1.0 ± 0.4	0.8 ± 0.0	8.8 ± 0.1	7.6 ± 0.8	1.1 ± 0.3	1.1 ± 0.0	9.8 ± 0.8
0—48	10.5 ± 0.7	2.9 ± 0.4	1.8 ± 0.1	15.2 ± 0.7	11.9 ± 0.9	3.3 ± 0.3	2.1 ± 0.2	17.3 ± 1.2
0—72	14.0 ± 0.6	4.4 ± 0.4	2.7 ± 0.1	21.1 ± 0.8	16.5 ± 1.0	4.9 ± 0.2	3.1 ± 0.3	24.5 ± 1.4
0—96	16.8 ± 0.7	6.1 ± 0.3	3.6 ± 0.2	26.5 ± 0.9	20.7 ± 0.9	6.3 ± 0.3	3.9 ± 0.5	30.9 ± 1.5
0—120	19.8 ± 0.7	7.5 ± 0.4	4.4 ± 0.3	31.7 ± 0.9	24.8 ± 1.3	7.4 ± 0.4	4.5 ± 0.6	36.7 ± 2.0
0—144	22.3 ± 0.9	8.7 ± 0.2	5.2 ± 0.4	36.1 ± 1.1	27.5 ± 1.1	8.4 ± 0.5	5.0 ± 0.7	40.9 ± 1.9
0—168	24.3 ± 1.0	9.8 ± 0.2	5.8 ± 0.5	39.8 ± 1.2	30.5 ± 1.2	9.2 ± 0.5	5.5 ± 0.8	45.2 ± 2.0

Residual radioactivity in carcass at 168 hr: $56.6\pm 0.8\%$ of dose (Male), $52.2\pm 2.3\%$ of dose (Female).Data are expressed as the mean values $\pm$ S.E. of three animals.

—: Not determined

Table XIII Cumulative urinary excretion of radioactivity derived from angiotensin II, its metabolites, volatile fraction and protein fraction after single intravenous infusion of ^3H -angiotensin II to male rats (dose: $1\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, 15min infusion)

Time (hr)	Excretion of radioactivity (% of dose)				
	A II and A III	Tyr	p-HPPA	Volatile fraction	Protein fraction
4	N.D.	0.3 ± 0.1	0.8 ± 0.1	1.0 ± 0.2	0.1 ± 0.0
8	N.D.	0.3 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.7 ± 0.4	0.1 ± 0.1
24	N.D.	0.4 ± 0.2	1.3 ± 0.1	3.8 ± 0.4	0.2 ± 0.1
48	—	—	—	6.9 ± 0.5	0.3 ± 0.1
72	—	—	—	10.1 ± 0.4	0.4 ± 0.1
96	—	—	—	12.8 ± 0.4	0.5 ± 0.1
120	—	—	—	15.5 ± 0.5	0.6 ± 0.1
144	—	—	—	17.9 ± 0.7	0.7 ± 0.1
168	—	—	—	19.8 ± 0.8	0.7 ± 0.1
0—168 % of excreted radioactivity	N.D.	0.4 ± 0.2 (1.6)	1.3 ± 0.1 (5.3)	19.8 ± 0.8 (81.5)	0.7 ± 0.1 (2.9)

Data are expressed as the mean values $\pm$ S.E. of three animals.

N.D.: Not detected

—: Not determined

投与終了後30min までに3.4%, 4hr までに6.8%, 8hr までに8.1%, 24hr までに12.7%, 48hr までに15.2%が排泄された。尿中には8hr までに5.2%, 24hr までに9.5%, 48hr までに11.1%が排泄された。糞中には24hr までに0.7%, 48hr までに1.2%が排泄された。投与終了後48hr における体内残存率は投与量の68.1%であっ

た。

胆汁中放射能にA II およびA III は認められず、投与終了後初期に Tyr および p-HPPA としてわずかに排泄され、その排泄された総放射能に対する割合は、投与終了後2hr までにそれぞれ2.0および2.0%であった。排泄された放射能の大部分は、揮発性画分および蛋白画分に存在し、投

Table XV Cumulative fecal excretion of radioactivity derived from angiotensin II, its metabolites, volatile fraction and protein fraction after single intravenous infusion of ^3H -angiotensin II to male rats (dose: $1\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, 15min infusion)

Time (hr)	Excretion of radioactivity (% of dose)				
	A II and A III	Tyr	p-HPPA	Volatile fraction	Protein fraction
24	N.D.	<0.05	0.1 ± 0.0	0.6 ± 0.3	0.5 ± 0.2
48	—	<0.05	0.1 ± 0.0	1.6 ± 0.3	1.3 ± 0.4
72	—	—	—	2.5 ± 0.2	1.9 ± 0.5
96	—	—	—	3.8 ± 0.2	2.3 ± 0.4
120	—	—	—	5.0 ± 0.2	2.6 ± 0.4
144	—	—	—	6.0 ± 0.3	2.8 ± 0.4
168	—	—	—	6.9 ± 0.3	2.9 ± 0.4
0-168 % of excreted radioactivity	N.D.	<0.05	0.1 ± 0.0 (1.0)	6.9 ± 0.3 (70.4)	2.9 ± 0.4 (29.6)

Date are expressed as the mean values $\pm$ S.E. of three animals.

N.D. : Not detected

— : Not determined

Table XV Cumulative excretion of radioactivity in bile, urine and feces during and after single intravenous infusion of ^3H -angiotensin II to bile-duct cannulated male rats (dose: $1\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, 15min infusion)

Time	Excretion of radioactivity (% of dose)		
	Bile	Urine	Feces
Time after the start of infusion			
0-15 min	0.2 ± 0.1	—	—
Time after the end of infusion			
0-30 min	3.4 ± 0.1	—	—
1 hr	4.1 ± 0.2	—	—
2	5.6 ± 0.5	—	—
4	6.8 ± 0.4	—	—
6	7.5 ± 0.4	—	—
8	8.1 ± 0.4	5.2 ± 2.6	—
24	12.7 ± 0.5	9.5 ± 0.7	0.7 ± 0.3
48	15.2 ± 0.4	11.1 ± 1.0	1.2 ± 0.3

Residual radioactivity in carcass at 48 hr: $68.1 \pm 0.8\%$ of dose

Data are expressed as the mean values $\pm$ S.E. of three animals.

— : Not determined

与終了後168hr までにそれぞれ57.9および28.3 %が排泄された。

考 察

ペプチド性生理活性物質の体内トレーサー実験には、ペプチドを ^{125}I 標識して用いることが多い

が、この場合には、生体内で代謝されて生成した遊離の ^{125}I をトレースする可能性が高い。また、 ^{125}I 標識化によりペプチドの生理活性が低下し^{5,6)}、体内動態が変わることも知られている⁷⁾。一方、 ^3H 標識A II では生理活性が保持されることが報告されている^{5,8)}。そこで、本試験では Tyr

Table XI Cumulative biliary excretion of radioactivity derived from angiotensin II, its metabolites, volatile fraction and protein fraction after single intravenous infusion of ^3H -angiotensin II to male rats (dose: $1\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, 15min infusion)

Time (hr)	Excretion of radioactivity (% of dose)				
	A II and A III	Tyr	p-HPPA	Volatile fraction	Protein fraction
0.25	N.D.	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
0.5	N.D.	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.6 ± 0.2	0.2 ± 0.1
1	N.D.	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.9 ± 0.3	0.6 ± 0.1
2	—	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	1.5 ± 0.2	1.5 ± 0.4
4	—	—	—	2.2 ± 0.3	2.2 ± 0.4
6	—	—	—	2.7 ± 0.3	2.6 ± 0.4
8	—	—	—	3.1 ± 0.3	2.8 ± 0.3
24	—	—	—	6.8 ± 0.2	3.8 ± 0.3
48	—	—	—	8.8 ± 0.5	4.3 ± 0.3
0—48 % of excreted radioactivity	N.D.	0.3 ± 0.1 (2.0)	0.3 ± 0.1 (2.0)	8.8 ± 0.5 (57.9)	4.3 ± 0.3 (28.3)

Date are expressed as the mean values $\pm$ S.E. of three animals.

N.D. : Not detected

— : Not determined

残基の3,5位の水素原子をトリチウムで置換して標識したA IIを, ラットに急速静脈内投与あるいは持続静脈内投与し, その分布, 排泄および代謝について検討した.

雌雄ラットに ^3H -A IIを $1\mu\text{g}/\text{kg}$ で急速静脈内投与した際, 血漿中放射能濃度は投与後初期には半減期1.1および1.0minで速やかに減少したものの, 投与後10から30min頃より増加傾向を示し, その後わずかに減少傾向を示した. このような血漿中の放射能のパターンは, ^3H や ^{14}C などで内部標識されたほかのペプチド類^{6,8-10)}でも認められており, A IIに特有の現象ではないものと考えられる.

一方, 投与後15secに雌雄それぞれで総放射能の11.8および14.1%しか未変化のA IIは認められず, 代謝物であるA III (2.7および3.4%), Tyr (21.6および15.8%) および p-HPPA (18.8および15.5%) が認められた. それぞれの血漿からの半減期は, 雌雄それぞれ9.0および8.5sec, 9.5および7.5sec, 5.3および5.2min 並びに5.7および5.9minであった. このA IIの消失半減期はRIA法により測定した値 (雌雄それぞれ15.1および15.8sec)³⁾より短いものの, いずれも血漿からの消失半減期は極めて短かった. さらに, 投与

されたA IIは速やかに代謝され, A IIIなどのペプチドを経て, Tyrなどのアミノ酸となった後, さらに代謝が進むことが明らかとなった. 雌雄の放射能濃度推移および代謝を比較した場合, 生成する代謝物の濃度およびその消失半減期とも差は認められず, A IIの代謝に性差はないと考えられる.

雄性ラットに ^3H -A IIを $1\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ で15分間持続静脈内投与した際, 血漿中総放射能濃度は持続注入中増加を続けたが, 投与終了後は急速投与群とはほぼ同様なパターンを示した. 投与終了後初期の消失の割合は急速投与群の約1/2であった. これはA IIより消失の遅い代謝物が血漿中に生成されること, および急速投与後20から30min頃より血漿中放射能濃度が増加傾向を示すことより, これらのことが15分間持続静脈内投与終了後初期の血漿中放射能の消失に一部影響したものと推察される.

一方, 雌雄それぞれ投与開始後1minでは, 20.1および30.0%しか未変化のA IIは認められず, その他に代謝物であるA III (2.7および4.8%), Tyr (10.7および13.6%) および p-HPPA (7.2および12.9%) が認められた. その後A IIおよびA IIIは, それぞれ2~4および0.4~0.9ng/

ml と持続注入中はほぼ一定の濃度を示したが、総放射能に対する割合は徐々に低下した。一方、Tyr および *p*-HPPA は、持続注入により血漿中濃度は上昇し、総放射能に対する割合は、投与開始後 5 min 以降それぞれ 18~24 および 16~18 % とほぼ一定の値を示した。したがって、投与された ^3H -A II は速やかに分解されるものの、持続注入により平衡状態となり、一定の A II 濃度を示し、A II に比べ半減期の長い代謝物である Tyr および *p*-HPPA は持続注入に伴って増加し、総放射能と並行して推移するものと考えられる。投与開始後 15 min には、A II は雌雄それぞれ総放射能の 6.7 および 10.5 % しか認められず、その他に代謝物である A III (3.1 および 2.0 %), Tyr (21.7 および 18.4 %) および *p*-HPPA (18.1 および 15.9 %) が認められた。持続投与終了後それぞれの血漿からの半減期は、雌雄それぞれ 16.1 および 12.1 sec, 7.6 および 6.7 sec, 7.0 および 6.8 min 並びに 8.5 および 7.8 min であった。この A II の消失半減期は、RIA 法により測定した持続投与時の値 16.1 および 17.5 sec³⁾ とほぼ同様であり、いずれも血漿からの消失が極めて速かった。持続投与時は急速投与時と比較して、A II の総投与量が 15 倍多いものの、いずれの場合も消失が極めて速く、持続投与による代謝に及ぼす影響は少ないものと考えられる。また、持続投与においても急速投与同様、代謝物の推移に性差は認められなかった。

雄性ラットへの ^3H -A II の持続静脈内投与終了後 24 hr までの全血中放射能濃度は、血漿中放射能濃度より低く、放射能の血球移行は少ないものと考えられた。しかし、持続静脈内投与終了後 168 hr では、全血中放射能濃度は血漿中放射能濃度の約 1.7 倍であり、放射能の血球移行は多くなったが、これは造血組織である骨髓に放射能が多く認められたことと関連するものと推察される。

血漿中の放射能は投与終了後、A II の代謝物のみならず、揮発性画分 (9.1 %) および蛋白画分 (25.3 %) にも認められ、時間の経過とともにこの両画分中の割合が増加した。投与終了後 30 min 以降は、揮発性画分が約 36~54 %, 蛋白画分が 52~66 % を示し、この両画分で放射能の大部分を占めた。したがって、A II は速やかに代謝され、

Tyr およびその他の代謝物となり、生体内で再利用され、また、さらにトリチウム水にまで分解され、長時間体内に滞留し、徐々に排泄されるものと考えられる。また、 ^3H -A II 静脈内投与後 10 から 30 min 頃より血漿中放射能濃度が増加傾向を示したのは、組織に取り込まれた放射性物質が代謝され、主として蛋白に再合成された後、再び血漿中に現れたためと推察される。

雄性ラットに ^3H -A II を持続静脈内投与した際、放射能は肝臓、腎臓、新陳代謝の大きな組織 (骨髓、腸、毛根など) および分泌腺に多く分布する傾向が認められた。さらに各組織からの放射能の消失は極めてゆっくりであり、投与終了後 168 hr においても、それぞれの組織における最高濃度の 6.8~73.5 % を示した。この分布傾向は放射性標識アミノ酸をラットおよびマウスに投与した際の分布^{11~15)} とよく似たパターンであった。

雄性ラットへの ^3H -A II の持続静脈内投与終了後 30 min の組織内放射能濃度は、ほとんどの組織で持続静脈内投与終了後 5 min と同程度か、わずかに増加する程度であったが、体のなかで大きな割合を占め、かつ高い放射能濃度を示した肝臓では減少していた。このことから、肝臓に取り込まれた放射性物質は蛋白に再合成されて、血漿等に移行するものと考えられる。

A II 持続投与終了後、肝臓および腎臓に血漿中と同程度の A II、また肺および心臓にわずかな A II の存在が認められた。この A II の消失半減期は肝臓で 8.9 min、腎臓で 10.1 min であり、血漿からの消失半減期に比べ 40~50 倍の値となった。A II の代謝については、A II はペプチドであることから、生体内の代謝においてペプチダーゼによる分解⁴⁾ のほか、代謝組織において endocytosis などの機構により細胞内へ取り込まれた後、リソゾーム酵素による分解過程もあると考えられる⁶⁾。血漿中では、この両過程の結果、A II の消失が速く、組織中では取り込み過程の後分解されることから、血漿に比べ A II が長く存在するものと推察される。また、A II 濃度は肝臓および腎臓で高く、肺および心臓で低く、その他の臓器では認められず、各組織の放射能濃度分布とは一致しなかった。投与初期に放射能濃度が最も高い脾臓でも A II が認められなかったため、A II の組織分

布はAⅡレセプターの存在¹⁷⁾に影響されるものと推察される。

各組織における放射能濃度は、肝臓においては投与終了直後から蛋白画分での割合が高く、投与終了後168hrでは、揮発性画分で11.2%、蛋白画分で90.5%であった。その他の臓器も比較的蛋白画分の割合が高く、揮発性画分は時間経過とともに徐々に増加し、投与終了後168hrでは揮発性画分で39~65%、蛋白画分で45~75%を占めた。また、投与終了直後に心臓、脾臓、骨格筋および大脳において、Tyrおよびp-HPPAの割合が比較的高く、特に脾臓においてはその濃度も臓器中で最も高かった。マウスに¹⁴C-Tyrを静脈内投与したときも、脾臓中に最も高い放射能分布が認められ、投与後30minではその大部分が酸不溶性画分(蛋白画分)であることが報告されている¹¹⁾。したがって、AⅡは速やかに代謝され、Tyrおよびその他の代謝物にまで分解されて生体内で再利用され、蛋白合成能の高い組織および新陳代謝の速い組織ほど取り込まれるため、放射能濃度が高くなるものと考えられる。

雄性ラットに³H-AⅡを持続静脈内投与した際、投与開始後168hrまでに放射能が、尿中に投与量の24.3%、糞中に9.8%、呼気中に5.8%排泄されたが、この時点では投与量の56.6%が体内に残存した。このように放射能が体内に残存する傾向は、内部標識されたほかのペプチド類^{6,8~10)}およびアミノ酸類^{11~15,18)}と同様な傾向であった。

尿中放射能にはAⅡおよびAⅢは認められず、投与終了後24hrまでには、Tyrおよびp-HPPAがわずかに排泄されたほかは、揮発性画分(トリチウム水が主成分と考えられる)が大部分であった。また、糞中排泄においてもAⅡおよびAⅢは認められず、わずかなTyrおよびp-HPPAと29.6%の蛋白画分以外は揮発性画分であった。したがって、AⅡは生体内で代謝され、再利用された後、最終的には尿、糞および呼気より、主としてトリチウム水などの分解物として徐々に排泄されるものと考えられる。

投与終了後48hrまでの胆汁中に投与量の15.2%、同時に採取した糞中に1.2%の放射能が排泄されたが、胆汁を採取しない試験群においても糞

中に約1%しか排泄されなかった。このことより、胆汁中に排泄された放射性物質は、そのほとんどが再吸収されるものと考えられる。また、胆汁中放射能にはAⅡおよびAⅢは認められず、揮発性画分が主であり、尿および糞と同様、代謝物として排泄されることが明らかとなった。

雌性ラットに³H-AⅡを持続静脈内投与した際、投与開始後168hrまでの尿中排泄率は雄の約1.3倍と高かったものの、糞中排泄率および呼気中排泄率は雄とほぼ同様であった。また、投与開始後168hrにおける体内残存放射エネルギーが投与量の半分以上であったことは、雄と同様であった。これらのことより、³H-AⅡ投与後の放射能の排泄にも顕著な性差はないものと考えられる。

AⅡの蛋白結合における種差を検討するために、ラット、イヌおよびヒト血漿に³H-AⅡを添加したところ、蛋白結合率は同様であったので、蛋白結合における種差はないものと考えられる。また、*in vivo*における血漿蛋白結合率は、血漿中蛋白画分の比率と一致しており、未変化のAⅡおよびその代謝物は投与後速やかに消失していることから、*in vivo*における血漿蛋白結合率は、放射能の蛋白に取り込まれた割合を反映したものと考えられる。

投与されたAⅡは生体内において、各種のペプチダーゼおよび細胞内のリソゾーム酵素などにより、構成アミノ酸、アミノ酸の代謝物、さらにTCAサイクルなどを經由してトリチウム水にまで代謝され、これらの多くは生体内において再利用されて長く体内に貯留した後、徐々に尿、糞および呼気中に排泄されるものと考えられる。

要約

ラットに³H-AⅡを静脈内投与したときの分布、代謝および排泄について検討した。さらに未変化のAⅡ、その代謝物のAⅢ、Tyrおよびp-HPPA、並びに揮発性画分および蛋白画分の放射能濃度を測定した。

1. 急速静脈内投与した際の血漿中放射能濃度は、投与後15secに雌雄それぞれ7.6および8.4 ng/mlを示した後、2.5minまで半減期1.1および1.0minで減少した。投与後10~20minより一旦上昇した後、再度半減期1.1および3.0day

で減少した。

雄性ラットにおいて、AⅡおよびAⅢは投与後15secにそれぞれ総放射能の14.1%（以下同じ）および3.4%を示した。その後速やかに消失し、そのときの半減期は、それぞれ8.5および7.9secであった。Tyrおよびp-HPPAは、投与後15secにそれぞれ15.7%および15.5%を示した後、それぞれ半減期5.2および5.9minで消失した。雌性ラットにおける推移も同様であった。

2. 持続静脈内投与したときの血漿中放射能濃度は、投与開始後徐々に増加し、投与開始後15minでは、雌雄それぞれ28.3および36.5ng/mlであった。投与終了後2.5minまで半減期2.4および2.2minで減少し、投与終了後10minより一旦上昇した後減少した。

AⅡおよびAⅢは、持続注入中はほぼ一定の濃度を示し、Tyrおよびp-HPPAは、持続注入とともに増加した。投与終了後はいずれも急速投与と同様に速やかに血漿中から消失した。

3. 持続静脈内投与後の全身オートラジオグラムでは、腸内容物、膀胱内尿、脾臓、腎臓、骨髓、皮膚（毛根部）、副腎（表面および髄質部）、胃壁、鼻腔に最も高い放射能が認められ、ついで腸壁、精嚢（壁）、肺、肝臓、松果体、下垂体、甲状腺、顎下腺、眼球（水晶体周辺）、脾臓、ハーダー腺、心臓、包皮腺が高かった。

4. 持続静脈内投与後の組織内放射能濃度は、それぞれ投与直後から24hrに最高濃度を示し、脾臓で最も高く、以下肝臓、骨髓、胃、腎臓、十

二指腸、副腎、下垂体の順であった。各組織からの放射能の消失は極めて緩やかであった。

5. 持続静脈内投与後の血漿中放射性物質は、AⅡの代謝物のみならず、揮発性画分および蛋白画分に存在した。揮発性画分および蛋白画分は時間の経過とともに割合が増加した。

6. AⅡ持続投与終了後、AⅡ濃度は肝臓および腎臓で比較的高く、肺および心臓ではわずかであった。AⅡの消失半減期は肝臓で8.9min、腎臓で10.1minであった。各組織における放射能は、時間経過とともに揮発性画分および蛋白画分で徐々に増加した。

7. *In vitro*における血漿蛋白結合率は、雄性ラット、雄性イヌおよび成人男子で51.6~56.3%であった。

8. *In vivo*における血漿中総放射能の蛋白結合率は、投与終了直後では、30.9%、投与終了後5minでは25.3%、30minでは68.4%、24hrでは62.0%、168hrでは35.3%であった。

9. 持続静脈内投与したとき、投与開始後168hrまでの尿中に放射能が、雌雄それぞれ投与量の30.5および24.3%、糞中に9.2および9.8%、呼吸に5.5および5.8%が排泄されたが、この時点では投与量の52.2および56.6%が体内に残存した。一方、投与終了後48hrまでの胆汁中に投与量の15.2%が排泄された。尿、糞および胆汁中には、AⅡおよびAⅢは認められず、Tyrおよびp-HPPAがわずかに排泄されたほかは、大部分が揮発性画分として排泄された。

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) 星 正彦, 佐藤春彦, 漆山昌伸, 杉山克郎, 石塚圭一, 涌井 昭: Dynamic CTを用いたTY10721(ヒト型 angiotensin II)昇圧による腫瘍組織到達性の検討. *Drug Delivery System*, 5(3): 197 (1990).
- 3) 長井晶彦, 千田 敏: ヒトアンギオテンシンIIの生体内動態に関する研究(I). 薬物動態, 5, 639-649 (1990).
- 4) 千田 敏, 長井晶彦: ヒトアンギオテンシンIIの生体内動態に関する研究(II). 薬物動態, 5, 651-660 (1990).
- 5) Morgat, J.L. Hurg, L.T. and Fromageot, P.: Preparation of highly labeled [^3H] angiotensin II. *Biochim. Biophys. Acta*, 207: 374-376 (1970).
- 6) 加藤安之, 西峯秀夫, 三浦誠二, 衛藤公様: Cargutocinの生体内動態(I), ^3H -標識 Deamino-Dicarba-[Gly 7]-oxytocin (^3H -Cargutocin)の雌ラットにおける分布, 代謝及び排泄. 医薬品研究, 12: 433-441 (1981).
- 7) Sato, H., Sugiyama, Y., Sawada, Y., Iga, T. and Hanano, M.: *In vivo*

- evidence for the specific binding of human β -endorphin to the lung and liver of the rat. *Biochem. Pharmacol.*, **37** : 2273-2278 (1988).
- 8) Osborne, M.J., Pooters, N., Angles d'Auriac, Epstein, A.N., Worcel, M. and Meyer, P. : Metabolism of tritiated angiotensin II in anaesthetized rats. *Pflügers Arch.*, **326** : 101-114 (1971).
 - 9) 堀坂和敬, 武藤彬彦, 南保俊雄, 潮田浩司, 三次孝一, 横島徹熹 : Carnosine の吸収, 分布, 排泄及び代謝に関する実験. 応用薬理, **11** : 475-485 (1976).
 - 10) 河村成男, 川井龍太郎, 大藪新太郎, 高市松夫, 稲田優味子, 横島徹熹 : ラットにおける静脈内投与時のグルタチオンの生体内動態について. 基礎と臨床, **15** : 1253-1271 (1981).
 - 11) Goto, H., Matsushima, M., Kanayama, T. and Kihara, T. : The distribution of radioactive carbon from L-[^{14}C]tyrosine in mice. *Acta Histochem. Cytochem.*, **20** : 557-567 (1987).
 - 12) 鍋島彰宏, 堤 一彦, 大溝治正, 内藤真策, 上田信彦, 杉本 比 : 新しい総合アミノ酸輸液の生体内動態に関する研究, 正常ラットに静脈内投与された TEO-10の分布及び排泄について. 医薬品研究, **15** : 985-1002 (1984).
 - 13) 植村家顕, 大谷勇作, 太田真一, 矢島多恵, 篠沢直子, 柳田由紀, 向山裕子, 古厩泰子 : 新アミノ酸輸液 TA-3712の生体内動態. 基礎と臨床, **20** : 965-975 (1986).
 - 14) 松沢淑雅, 小原祐一, 市村正道 : 成分栄養剤 (ED-AC) のラットにおける生体内運命. 薬理と治療, **7** : 3445-3458 (1979).
 - 15) 松沢淑雅, 関根征吉, 漁野宏和 : チロシンエチル塩酸塩のラットにおける利用性. 基礎と臨床, **19** : 993-1001 (1985).
 - 16) Urata, H., Khosla, M.C., Bumpus, F.M. and Husain, A. : Evidence for extracellular but not intracellular generation of angiotensin II in the rat adrenal zone glomerulosa. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **85** : 8251-8255 (1988).
 - 17) Rogenberg, E., Russo, C., Kiron M.A. and Soffer, R.L. : Biochemical and immunological similarity of soluble angiotensin II-binding proteins in different organs. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **156** : 1230-1236 (1988).
 - 18) 新宮平三, 大溝治正, 内藤真策, 上田信彦, 堤 一彦 : アミノ酸輸液の生体内動態に関する研究 (第1報), 正常ラットに静脈内投与されたアミノ酸輸液 (GO-80) の分布及び排泄. 医薬品研究, **13** : 702-715 (1982).