ヒト尿由来 Kallidinogenase (SK-827) の体内動態に関する研究(3) ラットにおける胎仔移行性および乳汁中移行性

中山 幸晴・古田 禎之・井上 恒昭・黒野 昌庸

Metabolic Fate of Human Urinary Kallidinogenase (SK-827) (3): Feto-Plasental Transfer and Excretion into Milk in Rats

Yukiharu NAKAYAMA, Yoshiyuki FURUTA, Tsuneaki INOUE and Masayasu KURONO

Mie Laboratory, Sanwa Kagaku Kenkyusho Co., Ltd., Mie

Summary

The feto-placental transfer of ^{125}I -SK-827 or excretion with milk were investigated in rats on 12 or 18 days of gestation or lactating rats after a single intravenous bolus injection of ^{125}I -SK-827.

1. At 2 min after a single intravenous injection of ^{125}I -SK-827 at a dose of 5×10^{-3} PNAU (p-nitroaniline unit)/kg, the radioactivity in the fetus was 125~840 times lower than that in maternal blood, but most of that was TCA-soluble. This result suggested that ^{125}I -SK-827 administered to pregnant rats was not transferred to the fetus.

2. After a single intravenous injection of ^{125}I -SK-827 at a dose of 5×10^{-3} PNAU/kg, the TCA-insoluble radioactivity was detected in the milk at 5 hr and reached a maximum level at 24 hr. However, the properties of TCA insoluble radioactivity in the milk after injection were completely different from those of ^{125}I -SK-827 added to blank milk. TCA-insoluble radioactivity in the milk was considered to be endogenous high molecular weight compounds into which TCA-soluble radioactivity produced by degradation of ^{125}I -SK-827 was incorporated.

Key words: Human urinary kallidinogenase, Feto-placental Transfer, Excretion into milk, Rat

緒 言

ヒト尿由来 Kallidinogenase (SK-827)¹⁾は四肢循環に対する血流増加作用等²⁻⁴⁾, により末梢循環障害の進展防止や治療に対する有効性が期待され, 現在開発中の薬物である。

前報^{5,6)}においてラットに ^{125}I -SK-827を投与したときの血漿中動態, 分布, 排泄および代謝につ

いて確認し, 投与された ^{125}I -SK-827は速やかに肝臓にとりこまれて代謝され, 放射能のほとんどが ^{125}I として尿中に排泄されることを報告した。

今回 SK-827の体内動態解明の一環として ^{125}I -SK-827をラットに単回急速静脈内投与したときの胎仔移行性と乳汁中移行性について確認したので報告する。

実験材料および実験方法

1. 試薬および標識化合物

前報⁶⁾に従い, SK-827 (Lot. JSK-11, 比活性 6.63 PNAU/mg (自社測定値), 日本ケミカルリサーチ(株)) を lactoperoxidase 法により標識し実験に使用した(1 PNAU (p-nitroaniline unit) は, 37°C, pH 8.0の条件下において H-D-Val-Leu-Arg-p-nitroanilide を基質として, 1 分間に 1 μ mol の p-nitroaniline を遊離する kallidinogenase 量と定義した¹⁾). ¹²⁵I-SK-827 の比放射能は 607~881 kBq/ μ g 蛋白であり, ペーパークロマトグラフィーから求めた放射化学的純度は 97.3~97.5% であった. その他の試薬類は特記しない限り市販特級品を用いた.

2. 実験動物

(1) 胎仔および乳汁中移行性試験

妊娠12日目または18日目の Wistar 系雌性ラット (交配時11週齢) および同系の正常分娩後14日目の哺乳ラット (交配時11週齢) を使用した. 動物は日本クレア(株)より購入し, 温度 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 $60 \pm 15\%$ で予備飼育した. 前報⁵⁾と同様に, 投与4~7日前より実験終了時まで 10 mM KI 溶液を自由摂水させた. また, 飼料はラット用固形飼料 (CRF-1, 日本チャールス・リバー(株)) を与えた. 実験開始時の体重は妊娠12日目のラット 210~230 g, 妊娠18日目のラット 230~270 g であり, 哺乳ラットでは 260~280 g であった. 使用動物数は 1 群 3 匹とした.

(2) 全身オートラジオグラフィー (ARG)

Fischer 系雌性妊娠ラット (日本チャールス・リバー(株)) を購入し, 温度 $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 湿度 $60 \pm 10\%$ のコイトロン中で, 固形飼料 (CE-2, 日本クレア(株)), 10 mM KI 水溶液で約 1 週間予備飼育の後実験に使用した. 平均体重は妊娠12日目のラットで 151 ± 3 g, 妊娠18日目のラットで 173 ± 11 g であった. 使用動物数は 1 群 1 匹とした.

3. 投与量および薬液の調製と薬物の投与

投与量は, 5×10^{-3} PNAU/kg とした. ¹²⁵I-SK-827 投与液は非標識体を加えず, 0.05 M phosphate buffered saline (pH 7.4) で適宜希釈し調製した. 投与量 (PNAU) は, 前報⁵⁾と同様に投与放射能 (370~460 kBq/kg) から算出した.

投与方法は前報⁵⁾と同様に行った. ARG および乳汁中移行性試験では尾静脈により, 胎仔移行性試験では大腿静脈より ¹²⁵I-SK-827 を急速投与した. なお, 胎仔移行性試験に使用したラットは投与前に一晩絶食したが, 他の試験では絶食しなかった.

4. 全身オートラジオグラフィー

妊娠12日目, 18日目ラットに, ¹²⁵I-SK-827 を投与後 2, 5 分, 3 および 24 時間にエーテル麻酔死させ, 前報⁶⁾と同様に全身オートラジオグラムを作製した (この試験は(株)生体科学研究所において実施した).

5. 胎仔移行性試験

妊娠12日目および18日目のラットに ¹²⁵I-SK-827 を投与後 2 分, 1, 3 および 24 時間に, 前報⁶⁾と同様に脱血死させ, 組織および臓器を摘出した. 母獣からは子宮, 副腎, 脾臓, 腎臓, 肝臓, 大脳, 小脳および骨髄を摘出した. 妊娠12日目のラットについては子宮から受胎産物を摘出し, 羊水を採取後, 胎盤と胎仔を採取した. 妊娠18日目のラットについては子宮から受胎産物を摘出し約 500 μ l の羊水を採取した後, 胎仔を取り出した. 胎仔のうち 1 例は丸ごと採取した. 残りの胎仔の頸動脈より MICROPET® (Clay Adams) を用いて採血し, 5~10 例から脳, 肝臓, 消化管, 腎臓, 心臓および肺を採取した. 採取した血液, 血漿および組織の一部または全量をポリチューブ (SS-14, (株)マルエム) に秤り取り放射能を測定した. 放射能測定後 1 mM KI 溶液を 1 ml 加え細断後, ヒスコトロン® (日音医理科機器製作所) を用いホモジナイズした. このホモジネートを 8. 項に示す方法で TCA 処理し, TCA 不溶

性画分の放射能を測定した。

6. 乳汁中移行性試験

哺乳ラットに ^{125}I -SK-827を投与後 5, 10, 15, 30分, 1, 3, 5, 8, 12, 24および48時間に軽度エーテル麻酔下, 頸静脈よりヘパリン処理した注射筒で250 μl ずつ採血した。採血後直ちに, MICROPET®を用い乳汁を採取した。採取した血液および乳汁は以後の処理をするまで水冷した。血液の放射能測定は200 μl を用いて行い, その血液から血漿を分離し, 血漿100 μl の放射能を測定した。血漿の放射能測定後, 10 mM KI 溶液 1 ml 加え 8. 項に示す方法で TCA 処理を行い得られた不溶性画分の放射能を測定した。乳汁は, 30~100 mg を用い放射能測定後, 10 mM KI 溶液0.5 ml を加え TCA 処理し, 不溶性画分の放射能を測定した。なお, 乳汁分泌を促進させるために, オキシトシン (バルトシン注射液, (株)持田製薬) 5 U/kg を, ^{125}I -SK-827投与前1時間, 投与後 2, 4, 7, 11, 23および47時間に腹腔内へ投与した。

7. 乳汁中放射能の分布

(1) 乳汁採取

乳汁中に移行した放射性物質の性質を確認するため, 6. 項と同様に哺乳ラット 3 匹に ^{125}I -SK-827を投与し, 投与後12時間および24時間に可能な限り乳汁を採取し両乳汁を合わせた。また, 薬物投与前の哺乳ラットから, ブランク乳汁を採取した。得られた乳汁は処理を行うまで -20°C で保存した。

(2) 乳汁の処理

^{125}I -SK-827投与後に得られた乳汁約2.5 ml に 2 ml の精製水を加えさらに20%酢酸溶液を添加し pH を 4~5 に合わせた⁷⁾。この乳汁溶液の放射能を測定後, コニカルチューブ® (株)マルエム) に移し10,000 $\times$ g (20~25 $^{\circ}\text{C}$) で20~30分遠心分離し, カゼイン (casein) 層 (沈殿) と乳清 (Whey) 層 (上清) とに分画した。さらに乳清層は1,900 $\times$ g (4 $^{\circ}\text{C}$)あるいは10,000 $\times$ g (4 $^{\circ}\text{C}$) で

20分遠心し, 上清に浮かんた脂質層を除去した⁸⁾。

カゼイン層は 1 mM KI 溶液 1 ml を加え良く攪拌し, 放射能測定後 TCA 処理した。また脱脂した乳清層は50 μl をポリチューブに取り放射能測定後 1 mM KI 溶液を0.5 ml 加え TCA 処理した。各層の TCA 不溶性画分の放射能を測定し, 総放射能に対する TCA 不溶性放射能の割合を求めた。ブランク乳汁については, 乳汁 1 ml に ^{125}I -SK-827を約8,500 cpm 添加し, 精製水 1 ml を加え pH を 4~5 に合わせた後, 上記と同様の操作によりカゼイン層, 脱脂乳清層に分画し, 各層の TCA 不溶性放射能の割合を求めた。

^{125}I -SK-827を投与後採取した乳汁と ^{125}I -SK-827を添加したブランク乳汁とで各層に移行した TCA 不溶性画分の放射能の挙動を比較した。

8. TCA 処理

TCA 処理は, 前報⁶⁾と同様に行った。ただし, 1 mM KI 溶液を0.5 ml 添加したサンプルはスケールを1/2として処理した。また, 乳汁の TCA 処理は乳汁中の脂質が 4 $^{\circ}\text{C}$ では固化化し上清の分離が困難となるため10,000 $\times$ g (20 $^{\circ}\text{C}$) で10分遠心し, 上清を除去した。

9. 放射能の測定

放射能の測定は, γ -シンチレーションカウンター (AUTO-GAMMA 5780, Packard) を用いて行った。 ^{125}I の減衰補正は前報⁵⁾に従って行った。放射能濃度は, SK-827当量に換算し, ng SK-827当量 (ng eq.)/ml または g で示した。検出限界はバックグランド (B.G.) の count を含め B.G. の 2 倍とした。

結 果

1. 全身オートラジオグラフィー

妊娠12日目および18日目のラットに ^{125}I -SK-827を急速静脈内投与した後のオートラジオグラムを Fig. 1 および Fig. 2 に示した。

(1) 妊娠12日目

投与後 2 および 5 分は肝臓に最も高い放射能

2min

5min

Fig. 1-1

3hr

24hr

Fig. 1-2 Autoradiograms showing distribution of radioactivity at 2, 5 min, 3 and 24 hr after intravenous bolus injection of ^{125}I -SK-827 (5×10^{-3} PNAU/kg) to 12 th day pregnant rats

Abbreviations: br, brain; thyr, thyroid gland; h, heart; lu, lung; li, liver; k, kidney; sp, spleen; b. m, bone marrow; s. w, stomach wall; s. c, stomach contents; je, jejunum; ce, cecum; co, colon; bl, bladder; pl, placenta.

2min

5min

Fig. 2-1

Fig. 2-2 Autoradiograms showing distribution of radioactivity at 2, 5 min, 3 and 24 hr after intravenous bolus injection of ^{125}I -SK-827 (5×10^{-3} PNAU/kg) to 18 th day pregnant rats
 Abbreviations: br, brain; thyr, thyroid grand; h, heart; lu, lung; li, liver; k, kidney; sp, spleen; b. m, bone marrow; s. w, stomach wall; s. c, stomach contents; je, jejunum; ce, cecum; co, colon; bl, bladder; pl, placenta.

の分布が認められた。次いで血液、腎臓、肺、脾臓および骨髄の順に放射能の分布が認められた。投与後3時間は肝臓の放射能が減少し胃腔内の放射能の分布が顕著となった。これらの放射能の分布は雄性ラット⁶⁾の同時点と近似した。投与後24時間の放射能の分布も雄性ラットの同時点の分布像と近似し、肝臓、腎皮質、盲腸内容物および直腸内容物にわずかな放射能が認められた。

胎盤通過性の確認では、投与後2および5分は胎盤と子宮の放射能が骨髄よりやや低い程度であったが、胎仔内への放射能の分布は認められなかった。投与後24時間でも胎仔への放射能の分布は認められなかった。

(2) 妊娠18日目

投与後2および5分の放射能の分布は妊娠12日目の同時点の分布と近似し、胎盤と子宮の放射能は骨髄よりやや低かった。また、胎仔内への放射能の分布は認められなかった。投与後3および24時間の放射能の分布も妊娠12日目の分布と近似した。

2. 胎仔移行性試験

(1) 妊娠12日目

妊娠12日目のラットに ^{125}I -SK-827を急速静脈内投与したときの母獣および胎仔の総放射能濃度と TCA 不溶性画分の放射能濃度を **Table I** に示

Table I Tissue distribution of total or TCA-insoluble radioactivity after intravenous bolus injection of ^{125}I -SK-827 to 12th day pregnant rats (dose: 5×10^{-3} PNAU/kg)

Organ	Time	Total radioactivity (ng eq. of SK-827/g or ml)			
		2 min	1 hr	3 hr	24 hr
Maternal Adrenal		3.02 ± 0.16	0.811 ± 0.078	0.493 ± 0.075	$0.0318 \pm 0.0009^{\text{c}}$
Spleen		0.952 ± 0.041	0.669 ± 0.045	0.478 ± 0.032	0.0268 ± 0.0082
Kidney		1.40 ± 0.09	2.35 ± 0.13	1.16 ± 0.04	0.0843 ± 0.0157
Liver		16.6 ± 2.1	0.906 ± 0.055	0.662 ± 0.077	0.0810 ± 0.0119
Cerebrum		0.0297 ± 0.0037	0.0832 ± 0.0084	0.0504 ± 0.0028	— ^{a)}
Cerebellum		0.0440 ± 0.0069	0.0873 ± 0.0089	0.0570 ± 0.0047	—
Bone marrow		1.66 ± 0.13	1.07 ± 0.05	0.771 ± 0.062	0.0539^{b}
Placenta		0.355 ± 0.041	0.252 ± 0.016	0.193 ± 0.067	$0.0152 \pm 0.0010^{\text{c}}$
Blood		2.58 ± 0.40	1.48 ± 0.11	1.28 ± 0.10	0.0548 ± 0.0209
Plasma		4.14 ± 0.80	1.76 ± 0.12	1.50 ± 0.12	0.0663 ± 0.0259
Fetus Whole body		0.0206^{b}	0.0902 ± 0.0060	0.101 ± 0.019	$0.00411 \pm 0.00023^{\text{c}}$
Organ	Time	TCA-insoluble radioactivity (ng eq. of SK-827/g or ml)			
		2 min	1 hr	3 hr	24 hr
Maternal Adrenal		2.46 ± 0.17	0.162 ± 0.025	0.0238 ± 0.0038	—
Spleen		0.677 ± 0.040	0.0635 ± 0.0100	0.0192 ± 0.0023	—
Kidney		1.08 ± 0.08	0.147 ± 0.009	0.0839 ± 0.0015	0.0247 ± 0.0008
Liver		14.0 ± 2.0	0.165 ± 0.014	0.0786 ± 0.0047	0.0274 ± 0.0014
Cerebrum		0.0256 ± 0.0028	0.00587^{b}	—	—
Cerebellum		0.0377 ± 0.0049	0.0148^{b}	—	—
Bone marrow		1.21 ± 0.11	0.128 ± 0.008	—	—
Placenta		0.317 ± 0.038	$0.00941 \pm 0.00159^{\text{c}}$	—	—
Blood		2.27 ± 0.35	0.0817 ± 0.0016	0.0541 ± 0.0048	$0.00621 \pm 0.00010^{\text{c}}$
Plasma		3.73 ± 0.72	0.0364 ± 0.0041	0.0193 ± 0.0018	$0.00336 \pm 0.00005^{\text{c}}$
Fetus Whole body		0.0167^{b}	—	—	—

Each value represents the mean $\pm$ S.E. (n=3).

a): Not detected. b): n=1. c): mean $\pm$ S.E. (n=2).

Table II Tissue distribution of total or TCA-insoluble radioactivity after intravenous bolus injection of ^{125}I -SK-827 to 18th day pregnant rats (dose: 5×10^{-3} PNAU/kg)

Organ	Time	Total radioactivity (ng eq. of SK-827/g or ml)			
		2 min	1 hr	3 hr	24 hr
Maternal Adrenal		2.49 $\pm$ 0.08	0.730 $\pm$ 0.017	0.386 $\pm$ 0.028	0.0395 $\pm$ 0.0103
Spleen		0.840 $\pm$ 0.027	0.790 $\pm$ 0.033	0.549 $\pm$ 0.074	0.0515 $\pm$ 0.0149
Kidney		2.01 $\pm$ 0.32	2.74 $\pm$ 0.14	1.22 $\pm$ 0.09	0.156 $\pm$ 0.032
Liver		19.3 $\pm$ 0.3	1.05 $\pm$ 0.02	0.657 $\pm$ 0.064	0.112 $\pm$ 0.025
Cerebrum		0.0426 $\pm$ 0.0033	0.0980 $\pm$ 0.0030	0.0539 $\pm$ 0.0028	0.00687 ^{b)}
Cerebellum		0.0529 $\pm$ 0.0033	0.0977 $\pm$ 0.0038	0.0632 $\pm$ 0.0020	0.00624 ^{b)}
Bone marrow		1.43 $\pm$ 0.07	1.16 $\pm$ 0.06	0.814 $\pm$ 0.091	0.0972 ^{b)}
Placenta		1.01 $\pm$ 0.14	0.730 $\pm$ 0.031	0.716 $\pm$ 0.050	0.0742 $\pm$ 0.0214
Amniotic fluid	— ^{a)}		0.0620 $\pm$ 0.0311	0.144 $\pm$ 0.065	0.181 $\pm$ 0.037
Blood		3.34 $\pm$ 0.28	1.71 $\pm$ 0.02	1.37 $\pm$ 0.16	0.130 $\pm$ 0.044
Plasma		5.17 $\pm$ 0.38	2.04 $\pm$ 0.02	1.59 $\pm$ 0.17	0.147 $\pm$ 0.049
Fetus Whole body		0.00396 $\pm$ 0.00029	0.411 $\pm$ 0.010	0.600 $\pm$ 0.073	0.0635 $\pm$ 0.022
Brain	—		0.170 $\pm$ 0.006	0.207 $\pm$ 0.037	0.0158 $\pm$ 0.0058
Liver	—		0.239 $\pm$ 0.007	0.301 $\pm$ 0.046	0.0286 $\pm$ 0.0105
Intestine	—		0.261 $\pm$ 0.022	0.393 $\pm$ 0.052	0.169 $\pm$ 0.050
Kidney	—		0.131 $\pm$ 0.029	0.191 $\pm$ 0.010	0.0275 ^{b)}
Heart	—		0.163 $\pm$ 0.005	0.199 $\pm$ 0.018	0.0206 ^{b)}
Lung	—		0.192 $\pm$ 0.015	0.267 $\pm$ 0.022	0.0215 $\pm$ 0.0080
Blood	0.00514 ^{b)}		0.487 $\pm$ 0.023	0.850 $\pm$ 0.104	0.0794 $\pm$ 0.0346

Organ	Time	TCA-insoluble radioactivity (ng eq. of SK-827/g or ml)			
		2 min	1 hr	3 hr	24 hr
Maternal Adrenal		2.12 $\pm$ 0.07	0.173 $\pm$ 0.010	0.0219 $\pm$ 0.0008 ^{c)}	—
Spleen		0.631 $\pm$ 0.059	0.0912 $\pm$ 0.0092	0.0186 $\pm$ 0.0026	—
Kidney		1.59 $\pm$ 0.26	0.161 $\pm$ 0.007	0.0924 $\pm$ 0.0119	0.0362 $\pm$ 0.0010
Liver		17.1 $\pm$ 0.10	0.162 $\pm$ 0.011	0.0770 $\pm$ 0.0049	0.0318 $\pm$ 0.0050
Cerebrum		0.0369 $\pm$ 0.0027	—	—	—
Cerebellum		0.0456 $\pm$ 0.0032	—	—	—
Bone marrow		1.07 $\pm$ 0.09	0.0966 $\pm$ 0.0205 ^{c)}	—	—
Placenta		0.853 $\pm$ 0.115	0.0203 $\pm$ 0.0021	0.0511 $\pm$ 0.0385	—
Amniotic fluid	—		—	—	—
Blood		2.93 $\pm$ 0.28	0.0969 $\pm$ 0.0069	0.0523 $\pm$ 0.0044	0.0103 $\pm$ 0.0034
Plasma		4.57 $\pm$ 0.37	0.0471 $\pm$ 0.0084	0.0209 $\pm$ 0.0030	0.00476 $\pm$ 0.00011 ^{c)}
Fetus Whole body		0.00348 $\pm$ 0.00015	0.0101 $\pm$ 0.0020	0.0193 $\pm$ 0.0090	—
Brain	—		0.00647 $\pm$ 0.00148	0.00493 $\pm$ 0.00028 ^{c)}	—
Liver	—		0.0139 $\pm$ 0.0024	0.0106 $\pm$ 0.0023	0.00209 $\pm$ 0.00087 ^{c)}
Intestine	—		0.00634 ^{b)}	—	—
Kidney	—		—	—	—
Heart	—		—	—	—
Lung	—		0.00486 ^{b)}	—	—
Blood	—		0.0103 $\pm$ 0.0014	0.0139 $\pm$ 0.0040	0.00355 $\pm$ 0.00074

Each value represents the mean $\pm$ S.E. (n=3).a): Not detected. b): n=1. c): mean $\pm$ S.E. (n=2).

した。

投与後2分における母獣の総放射能濃度は肝臓が最も高く、次いで副腎、血液、骨髓、腎臓の順であった。各臓器の放射能の分布は雄性ラット⁶⁾と近似したが、肝臓、副腎および骨髓の濃度は1.2~1.6倍高い値を示した。肝臓の総放射能濃度は投与後1時間に投与後2分の1/18に低下した。投与後24時間では肝臓および副腎の総放射能濃度は投与後2分の1/100~1/200に低下した。他の組織でも投与後24時間では総放射能濃度は投与後2分の1/20~1/60に低下した。胎児への放射能の移行は投与後3時間に最高値(0.101 ng eq./g)を示したが、その濃度は母獣の血液中濃度の1/13以下であった。

投与後2分における母獣のTCA不溶性画分の放射能濃度は肝臓、副腎、血液、骨髓および腎臓それぞれ、14.0, 2.46, 2.27, 1.21, 1.08 ng eq./gであり肝臓が最も高かった。各臓器のTCA不溶性画分の放射能濃度は雄性ラット⁶⁾と近似したが、肝臓、副腎および骨髓の濃度は1.2~1.5倍高い値を示し、血液は約30%低かった。肝臓のTCA不溶性画分の放射能濃度は投与後1時間に投与後2分の1/85に低下し、雄性ラットの低下の程度と一致した。投与後24時間では、肝臓、腎臓および血液以外の組織はTCA不溶性画分の放射能濃度は検出されなかった。胎児におけるTCA不溶性画分の放射能濃度は投与後2分に1例認められたのみであった。

(2) 妊娠18日目

妊娠18日目のラットに¹²⁵I-SK-827を急速静脈内投与したときの母獣および胎児の放射能濃度とTCA不溶性画分の放射能濃度をTable IIに示した。

母獣の総放射能濃度推移、TCA不溶性画分の放射能濃度推移はともに妊娠12日目の結果と近似した。胎児への放射能の移行は投与後2分より認められたが(0.004 ng eq./g)同時点の母獣血液中濃度の1/840、胎盤中濃度の1/260であった。投与後1時間からは胎児の脳、肝臓、消化管、腎臓、心臓および肺に放射能が認められた。

また投与後3時間には大部分の臓器で最高値を示した。その濃度は同時点の母獣血液中濃度(1.37 ng eq./ml)の1/2以下であった。投与後3時間以降の各臓器の放射能の消失は母獣血液と同じか、それより速かった。

胎児組織中TCA不溶性画分の放射能は投与後2分では検出されなかったが、1時間以降、脳、肝臓、消化管および肺に認められた。投与後24時間においても血液および肝臓にTCA不溶性画分の放射能が認められたが、母獣の血液中濃度の2/5以下であった。

3. 乳汁中移行性試験

哺乳ラットに¹²⁵I-SK-827を急速静脈内投与したときの血漿中、乳汁中の総放射能濃度推移とTCA不溶性画分の放射能濃度推移をFig. 3に示した。

哺乳ラットの血漿中総放射能濃度は投与直後より15~30分まで速やかに低下したが、その後、投与後1時間まで上昇し(1.96 ng eq./ml)、そ

Fig. 3 Concentrations of total or TCA insoluble radioactivity after intravenous bolus injection of ¹²⁵I-SK-827 (5×10^{-3} PNAU/kg) to lactating rats. Each point represents the mean $\pm$ S.E. of three animals. ○: Total radioactivity in plasma, ●: TCA insoluble radioactivity in plasma, △: Total radioactivity in milk, ▲: TCA insoluble radioactivity in milk.

れ以降緩やかに低下した。乳汁中では投与後5分から放射能が検出され徐々に上昇し、投与後1時間に総放射能濃度は1.08 ng eq./mlとなり、24時間で最高(1.50 ng eq./ml)となった。投与後48時間の濃度は投与後24時間の1/2に低下した。

哺乳ラットの血漿中TCA不溶性画分の放射能濃度は投与後2分に最高値(6.72 ng eq./ml)を示し、以後2相性で速やかに低下した($t_{1/2\beta}$: 115分)。これに対し乳汁中TCA不溶性画分の放射能は、投与後3時間までは1例に検出されたのみであったが、投与後5時間の濃度は0.046 ng eq./mlとなり、以降、TCA不溶性画分の放射能濃度は徐々に上昇し、投与後24時間で最高(1.24 ng eq./ml)となった。このときのTCA不溶性画分の放射能は総放射能の82%を占めた。以後の推移は総放射能濃度推移と一致した。

次に、乳汁を乳清層およびカゼイン層に分画しTCA処理した結果をFig. 4に示した。 ^{125}I -SK-827をブランク乳汁へ添加した場合、添加した放射能の94.5%が乳清層に移行した。また、乳清層に移行した放射能のうち92.3%がTCA不溶性画分に存在した。これに対し ^{125}I -SK-827を投与し得られた乳汁では、乳汁中放射能の60.2%が乳清層に移行したが、乳清層に移行した放射能はすべてTCA可溶性画分に存在した。一方、カゼイン層に移行した放射能(39.8%)のうち58.1%が

TCA不溶性画分に存在した。

考 察

妊娠12日目(妊娠中期)のラットに ^{125}I -SK-827を急速静脈内投与したとき、投与後2分の胎仔中総放射能濃度は母獣血液中濃度の1/125と低かった。この時点の母獣血液中総放射能のうち88%がTCA不溶性であったことより ^{125}I -SK-827の胎仔への移行は血液-胎盤関門により胎盤でその大部分が阻止されていることが明らかとなった。投与後1時間以降、胎仔中総放射能濃度は上昇し、3時間に最高(母獣血液中放射能濃度の約1/13)に達したが、TCA不溶性画分の放射能は検出されなかった。同時点の母獣血液および胎盤中の放射能は96%以上がTCA可溶性であったことより、胎仔中には ^{125}I -SK-827が代謝⁶⁾されて生成した低分子の代謝物または遊離の ^{125}I が移行したものと推察された。

妊娠18日目(妊娠後期)のラットでは、投与後2分の胎仔中の総放射能濃度およびTCA不溶性画分の放射能濃度は母獣血液中濃度の1/840、胎盤中濃度の1/250~1/260であった。また、胎仔1匹当りの放射能の移行量は投与量の0.0026%とわずかであった。この結果は妊娠12日目と同じであり、妊娠18日目のラットにおいても ^{125}I -SK-827の胎仔への移行は血液-胎盤関門でその大部分が阻止されていることが明らかと

Fig. 4 Distribution of radioactivity in the milk added ^{125}I -SK-827 or in the milk obtained after intravenous bolus injection of ^{125}I -SK-827 (5×10^{-3} PNAU/kg) to lactating rats

なった。胎仔中総放射能濃度は投与後1時間以降上昇し、投与後3時間に最高値（母獣血液中総放射能濃度の約1/2）に達した。この時の胎仔中 TCA 不溶性画分の放射能濃度は総放射能濃度の1/30と低く、同時点の母獣血液および胎盤中の放射能は93~96%が TCA 可溶性であったことより、胎仔中には ^{125}I -SK-827の低分子代謝物または遊離の ^{125}I が移行したものと推察された。前述のごとく ^{125}I -SK-827は血液-胎盤関門で大部分が阻止されていることより、TCA 不溶性画分として胎仔中に認められた放射能は胎仔中に移行した低分子代謝物または遊離の ^{125}I が胎仔中で生体高分子に取り込まれ生成したものと推察された。この現象は ^{125}I で標識した rt-PA⁹⁾ や rhG-CSF¹⁰⁾でも報告されており、 ^{125}I -SK-827に特徴的なものではないと考える。

哺乳ラットに ^{125}I -SK-827を急速静脈内投与したとき、血漿中 TCA 不溶性画分の放射能濃度は投与後2分に最高値（6.72 ng eq./ml）を示し以後2相性で速やかに消失したのに対して、乳汁中 TCA 不溶性画分の放射能は投与後3時間まで検出されなかった。このことより、 ^{125}I -SK-827は乳汁中に移行しないことが示唆された。乳汁中 TCA 不溶性画分の放射能は投与後5時間から上昇し、投与後24時間に最高値を示した。このときの TCA 不溶性画分の放射能の割合は総放射能の82%に達していた。しかし、 ^{125}I -SK-827投与後12時間と24時間に採取した乳汁とブランク乳汁に ^{125}I -SK-827を添加した乳汁とをそれぞれカゼイン層、乳清層に分画して TCA 処理した結果、 ^{125}I -SK-827投与後の乳汁中 TCA 不溶性画分の放射能はカゼイン層に認められたのに対し、 ^{125}I -SK-827を乳汁に添加した場合、乳汁中の TCA 不溶性画分の放射能はカゼイン層に認められず、乳清層のみに認められた。このように乳汁中における TCA 不溶性画分の放射能の挙動が異なったことより、 ^{125}I -SK-827投与後の乳汁中に認められた TCA 不溶性画分の放射能は ^{125}I -SK-827ではないことが確認された。無機ヨウ素は能動的に乳汁に移行すること¹¹⁾、また、無機ヨウ

素あるいは低分子ヨウ素化合物を哺乳ラットに投与すると、蛋白と結合した高分子ヨウ素化合物が乳汁に移行することが知られている¹²⁾。これらのことより乳汁中の TCA 不溶性画分の放射能は ^{125}I -SK-827が代謝され生成した低分子代謝物あるいは遊離の ^{125}I が乳汁へ移行し、それらが乳汁生成過程で高分子に取り込まれたか、あるいは移行後、乳汁中の高分子化合物と結合したことによるものと推察された。このような現象は ^{125}I で標識した rt-PA⁹⁾ や rhG-CSF¹⁰⁾についても認められている。 ^{125}I -SK-827投与後12時間と24時間に採取した乳汁を乳清層とカゼイン層に分画し TCA 処理した結果、TCA 不溶性画分の放射能はカゼイン層に認められたことより、低分子代謝物あるいは遊離の ^{125}I が乳汁中のカゼイン（あるいはカゼインミセル）に結合あるいは取り込まれた可能性が示唆される。

要 約

^{125}I -SK-827を妊娠および哺乳ラットに急速静脈内投与し、SK-827の胎仔移行性および乳汁中移行性を確認した。

1. 妊娠12および18日目のラットに ^{125}I -SK-827を急速静脈内投与（ 5×10^{-3} PNAU/kg）したとき、投与後2分において、胎仔中には母獣血液中濃度の1/125~1/840の放射能しか移行せず、また移行した放射能の大部分は TCA 可溶性であった。このことより ^{125}I -SK-827の胎仔移行性は極めて低いことが確認された。

2. 哺乳ラットに ^{125}I -SK-827を急速静脈内投与したとき（ 5×10^{-3} PNAU/kg）、乳汁中には投与後3時間まで TCA 不溶性画分の放射能は検出されず、 ^{125}I -SK-827は乳汁中に移行しないことが示された。また、この TCA 不溶性画分の放射能はブランク乳汁に添加した ^{125}I -SK-827の挙動とは全く異なり生体成分に取り込まれたものであることが確認された。

謝 辞

ARG 試験を実施して頂きました(株)生体科学研究所の重松昭世博士および泉二奈緒美主任研究員に深謝致します。

文 献

- 1) 中西晃一郎, 野村啓一, 浅田亜希, 柴田こずえ, 西室悟司, 加藤和夫, 平谷 一, 山口忠志, 富谷昇, 栗谷寿一, 黒野昌庸: ヒト尿由来カリジノゲナーゼ (SK-827) の一次構造, 物理化学的及び酵素化学的性質. 医薬品研究, **24**(6): 575-591 (1993).
- 2) 鈴木常正, 広岡清隆, 中村繁良, 林 元英, 吉本信彦, 友栗徹士: ヒト尿由来 Kallidinogenase (SK-827) の薬理学的研究 (第1報) —血流増加作用—. 応用薬理, **45**(4): 367-373 (1993).
- 3) 鈴木常正, 長野 弘, 林 元英, 友栗徹士, 田上哲也: ヒト尿由来 Kallidinogenase (SK-827) の薬理学的研究 (第3報) —末梢循環障害改善作用—. 応用薬理, **45**(4): 383-393 (1993).
- 4) 長野 弘, 鈴木常正, 広岡浩子, 林 元英: ヒト尿由来 Kallidinogenase (SK-827) の薬理学的研究 (第4報) —血液性状に関する作用—. 応用薬理, **45**(4): 395-400 (1993).
- 5) 見藤泰臣, 中山幸晴, 古田禎之, 井上恒昭, 黒野昌庸, 馬場茂雄: ヒト尿由来 Kallidinogenase (SK-827) の体内動態に関する研究(1)—ラット単回投与 (急速あるいは持続静脈内投与) 時の血中濃度推移および排泄, ラット反復投与 (急速静脈内投与) 時の蓄積性—. 薬物動態, **9**(1): 1-14 (1994).
- 6) 中山幸晴, 見藤泰臣, 古田禎之, 祖父江彰洋, 井上恒昭, 黒野昌庸: ヒト尿由来 Kallidinogenase (SK-827) の体内動態に関する研究(2)—ラットに単回または反復投与した時の組織内分布, 蓄積性および単回投与後の尿-胆汁中排泄—. 薬物動態, **9**(1): 15-39 (1994).
- 7) Nishikawa, I. and Kawanishi, G.: Chemical composition of cynomolgus monkey milk. *Exp. Anim.*, **25**(4): 253-264 (1976).
- 8) 日本生化学会編: 生化学実験講座 4, 糖質の化学 (上). 東京化学同人, pp. 62 (1976).
- 9) 岩本正人, 鈴木将之, 久永紀子, 飯田成宇: GMK-527 (rt-PA) の体内動態に関する研究—ラットにおける胎仔移行性および乳汁中移行性—. 薬理と治療, **16**(5): 1259-1268 (1988).
- 10) 美細津 正, 新開 寛, 広沢智恵, 菊池和子, 常盤知宣: KRN8601の体内動態—ラットにおける¹²⁵I-KRN8601単回静脈内投与後の胎仔および乳汁移行. 薬物動態, **5**(3): 307-314 (1990).
- 11) 伊藤隆太: 母乳への薬物移行. ファルマシア, **14**: 53-56 (1978).
- 12) 高坂和弘, 江角凱夫, 三次孝一, 関 英昌, 高尾厚志, 木村和枝, 白水直美, 神谷恵子, 大坪美和: 遺伝子組換え型ヒトエリスロポエチン (SNB-5001) の体内動態 (Ⅲ). ¹²⁵I-SNB-5001投与後のラットにおける全身オートラジオグラフィ, 胎仔および乳汁移行性. 薬物動態, **8**(2): 195-220 (1993).