イヌにTZP-4238を投与した時の副腎皮質ホルモンへの影響

帝国臓器製薬株式会社¹⁾, 食品薬品安全センター秦野研究所²⁾

太田昌宏¹⁾, 湊宏一¹⁾, 星野敏也¹⁾,
平林尚之²⁾, 本間誠次郎¹⁾

The Effect of Antiandrogen TZP-4238 on Corticosteroid Hormone in the Dog

Yoshihiro Ohta¹⁾, Kouichi Minato¹⁾, Toshiya Hoshino¹⁾,
Naoyuki Hirabayashi²⁾ and Seijirou Honma¹⁾

1) Teikoku Hormone Research

2) Hatano Research Food and Drug Safety Center

We studied the adrenosuppressive effect of antiandrogen TZP-4238 and its metabolites. The binding affinity for the corticosteroid receptor using rat hepatic cytosol was in the order 11-OH TZP-4238 > 11, 15-(OH)₂ TZP-4238 >> TZP-4238 ≥ 15-OH TZP-4238 > 11-keto TZP-4238.

Male beagle dogs aged 1-6 years were randomly divided into TZP-4238 (0.05, 0.5mg/kg) treatment groups and CMA (0.5mg/kg) treatment group. Each group was administered the drug per os every day for 8 weeks. Plasma cortisol, TZP-4238 and its metabolite levels were measured by on-line coupling of liquid chromatography with thermospray or atmospheric pressure ionization mass spectrometry using selective ion monitoring (LC-MS/SIM). LC-MS/SIM provided a sensitive and reliable method of unequivocal confirmation of the presence of steroidal drugs in the plasma. The plasma cortisol level was lowered below 1 ng/ml at 1 week after oral administration of TZP-4238 at 0.5mg/kg or CMA at 0.5mg/kg. The decline continued throughout the treatment for 8 weeks. Upon termination of administration, the cortisol level returned to the normal level (6ng/ml) by 4 weeks. However in the group given 0.05mg/kg TZP-4238, the cortisol level remained within the normal range. To analyze the cortisol decreasing mechanism, we administered TZP-4238 at 0.5mg/kg for 7 days to one beagle dog. When the plasma 11-OH TZP-4238 level was increased, the cortisol level decreased time dependently and the concentration of plasma 11-OH TZP-4238 which induced 50% inhibition was 2ng/ml. The decrease in the plasma cortisol level was highly correlated to the extent of the increase of the plasma 11-OH TZP-4238 ($r^2=0.840$).

We conclude that the adrenosuppressive effect of antiandrogen TZP-4238 is not due to TZP-4238 itself but its metabolite 11-OH TZP-4238.

Keywords: TZP-4238, antiandrogen, adrenosuppressive effect, liquid chromatography-mass spectrometry, cortisol

緒 言

ホルモン依存性疾患の治療薬として抗ホルモン薬が一般的に用いられる。前立腺肥大症もその一つで、抗アンドロゲン薬chlormadinone acetate (以下CMA), アリルエストレノール等が前立腺の縮小および排尿障害改善を目的として用いられる。

CMAの代謝についてはヒトおよび動物で詳細に検討されており、主な代謝経路はステロイド核のC-2位の水酸化およびその抱合形成で、これら代謝物はいずれも抗アンドロゲン作用を示さないと報告されている¹⁾²⁾。ステロイド性抗アンドロゲンが代謝により不活化されることを防ぐ目的でデザインされ、合成された化合物の中から、 17α -acetoxy-6-chloro-2-oxa-4, 6-pregnadiene-3, 20-dione (Fig.1 以下TZP-4238) が最も強い抗アンドロゲン作用を示す化合物として選定された³⁾。TZP-4238は前立腺において強い抗アンドロゲン作用を示し、実験的および自然発症前立腺肥大イヌの前立腺を萎縮させることから、前立腺肥大治療薬として臨床応用が期待されている⁴⁾⁵⁾。Cyproterone acetateおよびmedroxyprogesterone acetate等の合成黄体ホルモン薬は抗アンドロゲン作用の他に、副腎皮質抑制作用を持つことが知られている⁶⁾⁷⁾。一般的にC-21ステロイドには副腎抑制作用があることが知られており、脳下垂体へのnegative feedback作用および副腎皮質ステロイド合成酵素抑制を介して副腎皮質抑制を引き起こすと考えられている⁸⁾⁹⁾。TZP-4238はC-21ステロイドと類似骨格を有することから、副腎皮質抑制作用を持つ可能性が示唆される。しかし、TZP-4238投与によりイヌ¹⁰⁾およびマウス (未発表データ) で副腎の萎縮が認められたが、ラットではこの作用がほとんど認められなかった¹¹⁾¹²⁾。これら動物間で副腎萎縮作用に違いが見られる原因として代謝の違いが考えられる。

Fig. 1 Metabolic pathways of TZP-4238.

そこで今回、副腎抑制作用とTZP-4238の代謝との関係を明らかにすることを目的として、TZP-4238およびその代謝物の、コルチコイドリセプターとの親和性について検討を行った。また、イヌにTZP-4238を投与し血漿中cortisolの変動とTZP-4238の主代謝物の濃度推移について検討を加えた。

実験材料および方法

1. 化合物およびその略名

[2,3- $^{18}\text{O}_2$, 1 α - $^2\text{H}_1$]-17 α -Acetoxy-6-chloro-11 β -hydroxy-2-oxa-4, 6-pregnadiene-3, 20-dione ([$^{18}\text{O}_2$, $^2\text{H}_1$]-11-OH TZP-4238) および [11 α ,12,12- $^2\text{H}_1$]-cortisol (cortisol- d_3) はいずれも当社で合成した。2つの化合物の安定同位元素の標識率を Table 1 に示した。他の標識化合物についてはすでに報告した¹³⁾。これらは定量時の内部標準物質 (I.S.) として用い、その同位元素の含有量は質量分析計 (直接導入法による EI-MS, GC-MS および LC-MS) にて測定した。

Table 1 Stable isotopic labeled ratio of [$^{18}\text{O}_2$, $^2\text{H}_1$]-11-OH TZP-4238 and [$^2\text{H}_3$]-cortisol

Compounds	Stable isotopic labeled ratio (%)							
	M^+	M^++1	M^++2	M^++3	M^++4	M^++5	M^++6	M^++7
[$^{18}\text{O}_2$, $^2\text{H}_1$]-11-OH TZP-4238	2.7	0.0	0.0	19.8	0.5	69.8	0.0	7.1
[$^2\text{H}_3$]-cortisol	0.0	0.0	10.0	90.0	0.0	0.0	0.0	0.0

17 α -Acetoxy-6-chloro-11 β -hydroxy-2-oxa-4, 6-pregnadiene-3, 20-dione (11-OH TZP-4238), 17 α -acetoxy-6-chloro-15 β -hydroxy-2-oxa-4, 6-pregnadiene-3, 20-dione (15-OH TZP-4238), 17 α -acetoxy-6-chloro-11-keto-2-oxa-4, 6-pregnadiene-3, 20-dione (11-keto TZP-4238), 17 α -hydroxy-6-chloro-2-oxa-4, 6-pregnadiene-3, 20-dione (17-OH TZP-4238), 17 α -acetoxy-6-chloro-21-hydroxy-2-oxa-4, 6-pregnadiene-3, 20-dione (21-OH TZP-4238), TZP-4238 および CMA は当社で合成した。17 α -Acetoxy-6-chloro-11 β , 15 β -dihydroxy-2-oxa-4, 6-pregnadiene-3, 20-dione (11,15-(OH) $_2$ TZP-4238) は TZP-4238 投与マウス尿から精製, 単離して作成した。[^3H]-Triamcinolone acetonide (1.11-1.85GBq/mM) は第一化学より購入した。

2. 試薬

Bond Elut C18 は Varian 社より購入, その他の試薬はすべて特級を用いた。

3. 動物

1~6才の雄性ビーグル犬15頭を用いた。1日1回, 午後1時に固形飼料 (CD-1: 日本クレア) 約250gを与え, 温度23 $\pm$ 2 $^{\circ}\text{C}$, 湿度55 $\pm$ 15%, 照明時間8~20時の条件下で飼育した。なお, 水は自由に摂取させた。動物の例数は1群4~5頭とした。

4. 投与薬物の調製

TZP-4238 を乳糖で20%に希釈後, 乳鉢で均一化した希釈TZP-4238を2.5mg/kgの割合でカプセルに充填し, TZP-4238 0.5mg/kgを作製した。同様に, TZP-4238を乳糖で2%に希釈した希釈TZP-4238を2.5mg/kgの割合でカプセルに充填し, TZP-4238 0.05mg/kgを作製した。CMAを乳糖で20%に希釈後, 乳鉢で均一化した希釈CMAを2.5mg/kgの割合でカプセルに充填し, CMA 0.5mg/kgを作製した。

5. 測定機器

(1) ガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリー／セレクトッドイオンモニターリング (GC-MS/SIM) によるTZP-4238の定量

GC-MS/SIM装置は日立M-80型で、カラムはOV-1 (1m), その温度は250℃に設定した。定量時の質量数はTZP-4238に対して m/z 303 (d_0), および $[^{18}O_2, 1 \alpha -^3H]$ -TZP-4238に対して308 ($^{18}O_2, d_1$) を用いた。

(2) 液体クロマトグラフィー・マススペクトロメトリー／セレクトッドイオンモニターリング (LC-MS/SIM)

1) 11-OH TZP-4238 および15-OH TZP-4238の定量

LC-MS/SIMの液体クロマトグラフィー (LC) は日立L-6000型を、LCのカラムはInertsil ODS-2 (4.6×150mm, 5 μ m) を用いた。移動相として、50mM酢酸アンモニウム・アセトニトリル (7:3) を用い、流速は1.0ml/minとした。質量分析計 (MS) は大気圧化学イオン化法 (APCI) の日立M-2000型を用い、MSの霧下温度を260℃, 脱溶媒室温度を400℃に設定した。定量の質量数は $[M^+ + 1]$ でそれぞれモニターリングした。

2) Cortisolの定量

LC-MS/SIMのLCはQP-1000A型を、カラムはInertsil ODS-2 (4.6×150mm, 5 μ m) を用いた。移動相として、50mM酢酸アンモニウム・アセトニトリル (7:3) を用い、流速は1.0ml/minとした。質量分析計はサーモスプレイ法 (TSP法) の島津QP-1000型を用い、霧下温度を200℃, 脱溶媒室温度を350℃に設定した。定量時の質量数は $[M^+ + 1]$ でそれぞれモニターリングした。

6. 動物実験

(1) TZP-4238およびCMAを8週間投与した時の血漿中cortisolの変動と薬物未変化体、代謝物濃度

TZP-4238の0.05mg/kg, 0.5mg/kg およびCMAの0.5mg/kg カプセルを水10mlで1群5頭のビーグル犬にそれぞれ連日8週間、午前8-10時に経口投与した。薬物投与前および薬物投与期間中、投与中止後6週まで1週間毎に午前9-10時に桡側皮静脈より10mlを採血した。血液を常法に従って遠心分離を行い、得られた血漿を分析まで-20℃に保存した。血漿中のcortisolを下記に述べるLC-MS/SIM法で、血漿中11-OH TZP-4238および15-OH TZP-4238を下記に述べるLS-MS/SIM法でそれぞれ測定した。

(2) TZP-4238およびCMAを連日7日間投与した時の血漿中cortisolの変動と薬物未変化体、代謝物濃度

TZP-4238の0.5mg/kg およびCMAの0.5mg/kg カプセルを水10mlで1群4頭のビーグル犬に連日7日間経口投与を行った。薬物投与前、初回投与2, 12, 24その後24時間毎に同様に10mlを採血し、血漿を得た。前述の方法と同様に血漿中のcortisol, 11-OH TZP-4238および15-OH TZP-4238をそれぞれ測定した。

7. 液体クロマトグラフィー・マススペクトロメトリー／セレクトッドイオンモニターリング(LS-MS/SIM) による血漿中cortisolの定量

血漿1mlにI.S.として、cortisol- d_3 (30ng/50 μ lメタノール), 2N-塩酸100 μ lおよび精製水2mlを加えてボルテックスで混和後、10分間放置し、あらかじめメタノール6mlおよび精製水6mlで洗浄したBond Elut C18(3ml)に血漿混液を添加した。吸着後、精製水2mlおよび20%アセトニトリル水2mlで順次洗浄後、70%アセトニトリル水1.5mlで溶出した。溶媒を50℃の遠心エバポレーターで留去後、残渣を50mM酢酸アンモニウム・アセトニトリル (7:3) の混液100 μ lに溶解し、全量をLC-MSに注入した。なお、検量線は副腎摘出したラット血漿0.5mlにcortisol- d_3 (30ng/50 μ lメタノール) およびcortisol (0.32~10ng) を加え、上記同様に抽出後、LC-MSに注入した。LC-MS/SIMで定量後、縦軸 (y) にcortisolの d_0/d_3 比、横軸 (x) に添加したcortisolの濃度をプロットし検量線を作成した。

8. 液体クロマトグラフィーマスマスペクトロメトリー／セレクトディオンモニターリング (LC-MS/SIM) による血漿中15-OH TZP-4238および11-OH TZP-4238の定量

血漿1mlにI.S.として, $[^{18}\text{O}_2, ^3\text{H}_1]$ -15-OH TZP-4238を25ng, および $[^{18}\text{O}_2, ^3\text{H}_1]$ -11-OH TZP-4238を50ngを加えた後, 精製水1ml, 2N-塩酸0.5mlをそれぞれ加えボルテックスで混和後, 室温に10分間放置した。あらかじめメタノール6mlおよび精製水6mlで洗浄したBond Elut C18(3ml)に混液を添加した。吸着後, 精製水4ml, ついで30%アセトニトリル水2mlで順次洗浄後, 60%アセトニトリル水2.5mlで目的物を溶出した。溶媒を45℃の遠心エバポレーターで留去後, 残渣をメタノール100 μ lに溶解し, その半分をLC-MS/SIMに注入した。検量線はイヌ血漿に15-OH TZP-4238, 11-OH TZP-4238 (1.6-25ng) およびI.S.として $[^{18}\text{O}_2, ^3\text{H}_1]$ -15-OH TZP-4238を25ng, および $[^{18}\text{O}_2, ^3\text{H}_1]$ -11-OH TZP-4238を50ngを加え上と同様に作成した。

9. コルチコイドリセプターアッセイ法

コルチコイドリセプターアッセイはAgawal¹⁴⁾らの方法に従って行った。ラットを副腎摘出し1週間飼育後に瀉血したのち, 門脈より氷冷生理食塩水 (30ml) で肝臓を灌流した。摘出した肝臓をハサミで細かくしたのち, 3倍量のTEND buffer (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, 0.5mM dithiothreitol, 10mM Na_2MoO_4 , 0.1mM phenylmethanesulphonyl fluoride, 10% glycerol) でホモジネート後, 2,000gで10分遠心分離した。上清を105,000xgで60分2回遠心分離し, 上清をcytosol画分としリセプター画分とした。総非特異結合測定は, ^3H -triamcinolone acetonide (1850Bq/25 μ l), 10^{-2}M triamcinolone acetonide 25 μ l, propyleneglycol 50 μ lを, 特異的結合チューブには, ^3H -triamcinolone acetonide, 検体 ($10^{-3}\text{M} \sim 10^{-7}\text{M}$), propyleneglycol 50 μ lを加え攪拌後, 遠心エバポレーターで10~20分減圧し, エタノールを留去した。ついで両チューブにcytosol画分を各200 μ l加え, 振盪後4℃で一夜放置し, ついで各チューブに0.05% DCC (Dextran 0.25%, Norit A 2.5%, 1mM EDTA, 10mM Tris, pH8.0) 500 μ l加えて振盪し, 氷冷下30分放置後, 4℃, 10分間冷却遠心分離を行い, 上清500 μ lをバイアルにとり, インスタゲルを10ml加えて, 放射能を測定した。

結 果

1. ラット肝cytosol画分のコルチコイドリセプターへの各化合物の親和性

TZP-4238, その代謝物およびCMAについてのコルチコイドリセプターアッセイの結果を, Fig.2に示した。リセプターに強い親和性を示したのが, triamcinolone acetonideで, ついで11-OH TZP-4238であり, 11-keto TZP-4238, 15-OH TZP-4238, TZP-4238およびCMA等はtriamcinolone acetonideの1/10以下の弱い親和性を示すのみであった。

Fig. 2 Corticosteroid receptor binding assay of corticosteroids, TZP-4238 and its metabolites.

2. LC-MS/SIMによる血漿中のcortisolの定量

副腎摘出ラット血漿(ブランクとして用いた)およびその血漿にcortisolを30ng, cortisol-d₃を10ng添加した時のLC-MS/SIMのパターンを, Fig.3に示した。また, 副腎摘出ラット血漿にcortisolを0.82~7.5ngまで添加した時の検量線を, Fig.4に示した。検量線は相関係数($r^2=0.999$)の良好な直線性を示した。測定値の変動係数は5.6%で, 定量限界は0.5ng/mlであった。

Fig. 3 LC-MS selective ion chromatogram of cortisol (m/z 363) and cortisol-d₃ (m/z 366).

Fig. 4 Standard curve of cortisol by LC-MS/SIM.

3. LC-MS/SIMによる11-OH TZP-4238および15-OH TZP-4238の定量

無投与イヌ血漿（ブランク）に11-OH TZP-4238および15-OH TZP-4238のI.S.を50ng添加した抽出物およびTZP-4238投与イヌ血漿にそれぞれのI.S.を50ng添加した抽出物のLS-MS/SIMパターンをFig.5に、11-OH TZP-4238および15-OH TZP-4238の検量線をFig.6にそれぞれ示した。いずれも良好な相関係数を示した。11-OH TZP-4238の測定の変動係数は2.57%で、定量限界は0.5ng/mlであった。

Fig. 5 LC-MS selective ion chromatograms of TZP-4238 and its metabolites.

A) Control plasma + I.S., B) TZP-4238 administered dog plasma + I.S.

Fig. 6 Standard curve of TZP-4238 (A) and 15-OH TZP-4238 (B) by LC-MS/SIM.

4. TZP-4238 7日間経口投与時の血漿中cortisol, その主代謝物の濃度

TZP-4238を0.5mg/kg連日7日間経口投与した。初回投与後2, 12, 24時間ついで24時間毎に連日投与期間中の血漿中cortisolおよび11-OH TZP-4238, 15-OH TZP-4238を測定した平均血漿中濃度推移の結果を, Fig.7に示した。血漿中cortisolが50%減少する時間はTZP-4238投与4日目で, その時の血漿中11-OH TZP-4238の濃度は2ng/mlであった。

Fig. 7 Plasma concentration of cortisol and TZP-4238 metabolites in dog. TZP-4238 (0.5mg/kg) was treated for 7 days per os. (mean $\pm$ SD)

5. TZP-4238 およびCMA を連日8週間投与した時の血漿中cortisol およびTZP-4238 およびその代謝物の濃度

TZP-4238 およびCMA を8週間投与中および投与後6週間までの血漿中cortisolの濃度を、Fig.8に示した。TZP-4238 を0.05mg/kg 投与した時には血漿中cortisol濃度に影響が認められなかったが、TZP-4238 およびCMA を0.5mg/kg 投与した時には、投与後1週間より血漿中cortisol濃度は著しく減少し、その減少は投与期間中続いた。4週間の休薬によりcortisolは投与前値まで回復した。

Fig. 8 Changes of plasma concentration of cortisol in dog during and after TZP-4238 administration (8 weeks). (mean $\pm$ SD)

TZP-4238 を0.5mg/kg経口投与した時の血漿中未変化体、11-OH TZP-4238 および15-OH TZP-4238 の平均血漿中濃度推移を、Fig.9に示した。投与5週間で血漿中濃度は最大に達したのち定常状態となり、投与を中止するとTZP-4238 および代謝物は減少した。血漿中のcortisol値と血漿中11-OH TZP-4238との間に良好な負の相関 ($r^2=0.840$) が認められた (Fig.10)。しかし、血漿中cortisol値と血漿中TZP-4238 および15-OH TZP-4238との間に相関は認められなかった。

Fig. 9 Changes of plasma concentration of TZP-4238 and metabolites during and after TZP-4238 administration (8 weeks). (mean $\pm$ SD)

Fig. 10 Correlation of plasma concentrations between 11-OH TZP-4238 and cortisol.

考 察

一般に血中cortisolの定量にはラジオイムノアッセイ法が広く用いられている。しかし、TZP-4238等のC-21ステロイド薬を投与した場合には、未変化体はもちろん種々な代謝物等がcortisolの抗体と交叉反応を示し、cortisolの定量に影響すると考えられた。そこで今回の実験では最近開発されたLC-MSによる定量を行った。その結果、従来のGC-MS利用の定量法と異なり、誘導体に導く必要もなく、また外因性のステロイドの存在に影響されることなく、血中のcortisolを感度よく正確に定量できた。最近、Steffenradら¹⁵⁾も血中cortisolの定量について種々の面より検討している。

Medroxyprogesterone acetate, cyproterone acetateはヒトおよびラットにおいて血漿中cortisolを低下させることが知られている。一方、CMAはラットで血漿中副腎皮質ホルモンを低下させるが、ヒトでは低下させないと報告されている¹⁶⁾。この様に合成抗アンドロゲン薬でも副腎皮質ホルモンに対する作用が異なり、その抑制機序の詳細は不明である。TZP-4238についても副腎抑制作用に動物種差が認められ、イヌおよびマウスにおいては副腎を萎縮させるが、ラットでは大きな影響は認められないと報告されている¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾。また、ヒトに長期にわたりTZP-4238を投与しても血漿中cortisolに変化は認められない¹⁷⁾ことから、TZP-4238投与後の副腎におよぼす作用には著しい動物種差があると考えられる。この現象はTZP-4238の代謝の差によると推測されたため、ヒトを含めこれら動物でTZP-4238の代謝について詳細に検討が行われた。Fig.1に示したようにTZP-4238の代謝にはステロイド核のC-11β位を主として水酸化するマウス、イヌ型と、C-15β位を主として水酸化するラット型の存在が確認されている¹⁵⁾。そこで今回、TZP-4238およびその主要代謝物についてコルチコイドリセプターへの親和性について検討を加えた。その結果、TZP-4238およびヒトの主要代謝物である15-OH TZP-4238, 17-OH TZP-4238, 21-OH TZP-4238およびCMA等はコルチコイドリセプターに対する親和性が弱かったが、マウスの血液、尿、糞中の主要代謝物である11-OH TZP-4238および11, 15-(OH)₂ TZP-4238は強い親和性を示した。また、11-keto TZP-4238はコルチコイドリセプターに対する親和性が認められなかった。これらのことから、TZP-4238の副腎皮質機能に対する作用に動物種差が存在する原因として代謝における差、すなわち血漿中11-OH TZP-4238及び11, 15-(OH)₂ TZP-4238の濃度推移の違いが考えられた。さらに副腎皮質ホルモンに変動が認められなかったヒトの血漿、尿および糞中から11-OH TZP-4238および11, 15-(OH)₂ TZP-4238はほとんど検出されないと報告されており¹⁸⁾ヒトにおいて副腎皮質抑制作用が認められないのはこのためであると推察された。

また、ラットでは、雌において軽度の副腎皮質ホルモン抑制が認められたが、雄では抑制が認められなかった。TZP-4238投与時において雌の血漿中には11-OH TZP-4238は15-OH TZP-4238の約6分の1の存在が確認されているのに対し、雄の血漿中では約20分の1しか認められなかった。11 β -水酸化酵素は副腎内において副腎皮質ホルモンの濃度を調整する重要な酵素であるが、この酵素は副腎のみに存在するのではなく、脳、肝にも存在することが最近報告され注目を集めている。ラットの11 β -水酸化酵素の活性に性差が存在し、それにより血漿中の11-OH TZP-4238量に性差が生じたと考えられる。

マウスおよびイヌ血漿中において11-OH TZP-4238および11-keto TZP-4238が検出され、その割合はマウスで最も多く、イヌでは15-OH TZP-4238の約1/2程度であった。イヌに反復投与した時に血漿中cortisolが50%低下した時点での11-OH TZP-4238の血漿中濃度は約2ng/mlであった。イヌ尿中には11-OH TZP-4238は極めて少なく、逆に11-keto TZP-4238が多かった。このことは、腎の11 β -hydroxysteroid dehydrogenaseにより11-OH TZP-4238が11-keto TZP-4238へと変換されたと考えられた。

11-keto TZP-4238はコルチコイドリセプターへの親和性が認められなかった。同様に11-keto構造を持つcortisoneは11-OH構造を持つcortisolと比較して、リセプターの結合は極めて弱く、かつ、副腎皮質ホルモン作用もほとんどない¹⁹⁾ことより、TZP-4238の代謝物である11-keto TZP-4238にはほとんどコルチコイド作用がないと推察される。

ヒトに1.25mgを7日間反復投与しても血漿中および尿中からは11-OH TZP-4238および11-keto TZP-4238は、ほとんど検出されないことより、TZP-4238はヒトに対して副腎抑制作用がないことが薬物動態の面からも強く支持される。CMAが副腎皮質ホルモン抑制作用を有することはラットに加え今回新たにイヌでも確認された。CMAの副腎皮質抑制作用はヒトではほとんど認められない¹⁹⁾ことから、ヒトを含め動物間での差は代謝の違いによるという可能性が強く示唆される。

TZP-4238の11 β -水酸化代謝がどの器官で行われるのかについては内分泌代謝等にとり重要であると考えられる。副腎摘出マウスにTZP-4238を投与したところ、尿および糞中からこれらの11-OH代謝物がかなりの量認められた²⁰⁾。また、肝ホモジネートとTZP-4238をインキュベートしたところ、11-OH TZP-4238の生成が確認されたので²⁰⁾、TZP-4238の11 β -水酸化反応は肝でも行われると考えられる。肝の薬物代謝酵素、P-450には多くの分子種の存在が確認され、かつ、この酵素には動物差が認められていることから、TZP-4238の肝における代謝には動物種差が存在すると考えられる。

TZP-4238は体内で広範囲に代謝され、その中で11 β -水酸化代謝物の生成量により副腎皮質ホルモン抑制作用に差が生じることが強く示唆された。この様に一つのホルモン薬が数種のホルモン作用を示す過程に動物種差が認められることを代謝面から明らかにした例は、本報告が初めてであろう。

結 語

合成antiandrogenであるTZP-4238の副腎皮質抑制作用と代謝の関係を明らかにすることを目的として、TZP-4238および代謝物のコルチコイドリセプターに対する親和性の検討およびTZP-4238投与後のイヌ血漿中cortisolとTZP-4238主代謝物の濃度推移について検討を行った。

- 1) コルチコイドリセプターへの親和性は11-OH TZP-4238および、11, 15-(OH)₂ TZP-4238が最も強く、TZP-4238および他の代謝物はコルチコイドリセプターへの親和性は弱かった。
- 2) イヌにTZP-4238を投与した時の血漿中TZP-4238および主代謝物である15-OH TZP-4238はcortisolの低下と相関しなかったが、11-OH TZP-4238とcortisolの血漿中濃度との間に相関が認められた。

以上により、TZP-4238投与時の副腎皮質抑制作用にみられる動物種差は代謝の違いによるものであり、その作用本体はTZP-4238ではなく11 β 位が水酸化された代謝物であることが示唆された。

文 献

- 1) Honma S., Iwamura S., Iizuka K., Kambegawa A. and Shida K., Identification and antiandrogenic activity of the metabolites of 17 α -acetoxy-6-chloro-pregna-4, 6-diene (chlormadinone acetate) in rat, rabbit, dog and man. *Chem. Pharm. Bull.*, 1977;25:2019-2031
- 2) Abe T. and Kambegawa A., Urinary and biliary metabolites of 17 α -acetoxy-6-chloro-4, 6-pregnadiene-3, 20-dione in the rabbit. *Chem. Pharm. Bull.*, 1974;22:2824-2829
- 3) Shibata K., Takegawa S., Koizumi N., Yamakoshi N. and Shimazawa E. Antiandrogen. 1.2-Azapregnane and 2-oxapregnane steroids. *Chem. Pharm. Bull.*, 1992;40:935-941
- 4) Takezawa Y., Fukabori Y., Yamanaka H., Mieda M., Honma S., Kushitani M. and Hamataki N. Effects of the new steroidal antiandrogen TZP-4238 on hormone-induced canine prostatic hyperplasia. *Prostate*, 1992;24:315-319
- 5) Takezawa Y., Suzuki K., Fukabori Y., Yamanaka H., Honma S., Mieda M., Hamataki N. and M. Kushitani. Effects of a new steroidal antiandrogen, TZP-4238 (17 α -acetoxy-6-chloro-2-oxa-4, 6-pregnadiene-3, 20-dione), on spontaneously developed canine benign prostatic hyperplasia. *Prostate*, 投稿中1993
- 6) Migally N. Effect of cyproterone acetate on mouse adenohipophysis. 1. The adrenocorticotrophs. *Arch. Androl.*, 1980;4:189-193
- 7) Labrie C., Cusan L., Plante M., Lapointe S. and Labrie F. Analysis of the androgenic activity of synthetic 'progestins' currently used for the treatment of prostate cancer. *J. Steroid Biochem. (United Kingdom)*, 1987;28:379-384
- 8) Labert A., Mitchell R.M. and Robetson W.R. On the site of action of the anti-adrenal steroidogenic effect of cyproterone acetate. *Biochem. Pharmacol.*, 1985;34:2091-2095
- 9) Svec F. and Rudis M. Interactions of antiglucocorticoids with glucocorticoid receptors. *J. Steroid Biochem.*, 1982;16:135-140
- 10) 桑山典之, 中山隆治, 村越正典, 磯部充威, 佐藤敦子, 江口勝也, 牧野正雄, 飯塚和弘, 稲田理恵, 伊藤清子, 増田修治, 鈴木 稔: 抗アンドロゲン剤 Osaterone acetate (TZP-4238) のビーグル犬における3ヶ月反復経口投与毒性試験, 1993, 応用薬理投稿中
- 11) 牧野正雄, 村越正典, 磯部充威, 佐藤敦子, 桑山典之, 山本敏之, 小川哲朗, 江口勝也, 岩城利夫, 飯塚和弘, 星野敏也, 中山隆治, 鈴木 稔: 抗アンドロゲン剤 Osaterone acetate (TZP-4238) のラットにおける1年間反復経口投与毒性試験, 1993, 応用薬理投稿中
- 12) Mieda M., Oota Y., Saito T., Takahashi H., Simazawa E. and Miyasaka K. Antiandrogenic activity and endocrinological profile of a novel antiandrogen, TZP-4238 in the rat. *Endocrine J.* 1994;41:445-452
- 13) 本間誠次郎, 湊 宏一, 星野敏也, 三枝 衛, 川辺勝弘: 抗アンドロゲン剤 TZP-4238 の体内動態 (第一報) 雄性ラットおよび雄性マウスにおける単回投与時の吸収, 排泄, 血中濃度推移, 応用薬理投稿中
- 14) M.K. Agawall, G. Lombardo, N. Eliezer and V.K. Moudgil. Activation of rat glucocorticoid receptor bound to the antiglucocorticoid RU38486. *Biochem. Biophys. Commun.*, 1985;133:745-752
- 15) S. Steffenrad and G. Maylin, Thermospray liquid chromatography-mass spectrometry of corticoids. *J. Chromato.*, 1992;577:221-227
- 16) 伊藤善一, 黒沢 功, 山中英寿, 小屋 淳, 今井強一, 古作 望, 志田圭三: 酢酸クロロマジノンのアンチアンドロゲン作用特にその作用機序解明に関する研究, 日本泌尿器科学会誌, 1977;68:537-552
- 17) 今井強一, 黒川公平, 山中英寿: 抗アンドロゲン剤 TZP-4238 の臨床第 I 相試験-連続投与試験-臨床医薬, 1993;10:2273-2286
- 18) 本間誠次郎, 湊 宏一: 抗アンドロゲン剤 TZP-4238 の体内動態 (第5報) ヒトおよび動物における TZP-4238 の代謝物の構造, 応用薬理, 1994 投稿中
- 19) Wolff Me, J.D. Baxter, P.A. Kollman, D.L. Lee. I.D. Kuntz, E. Bloom, D.T. Matulich and J. Morris Nature of steroid-glucocorticoid receptor interactions. Thermodynamic analysis of the binding reaction. *Biochemistry*, 1978;17:3201-3208
- 20) 湊 宏一, 本間誠次郎, 小泉直之: 前立腺肥大症治療薬, TZP-4238 の代謝 (II) 各種実験動物における代謝および排泄, 日本薬学会報 112 年会議演要旨集 4, 1992:44

(受付日: '94.2.7)

(採択日: '94.4.4)