ORIGINAL

静注用 Dexamethasone 製剤の生体内代謝および下垂体－副腎皮質系への効果

—— エステルによる差について ——

中 村 毅*

(受付: 1981 年 1 月 9 日)

Metabolism and Effect on Pituitary-adrenal Cortex of Injectable Dexamethasone—Difference between Steroid Esters—

Takeshi NAKAMURA*

* The 3rd Department of Internal Medicine, School of Medicine, Kanazawa University

The metabolic fate and pituitary-adrenal cortex-suppressibility of two injectable dexamethasone esters, 21-phosphate and 21-sulfate, were studied in ten healthy men. After i. v. injection in a dose of 20 mg free steroid alcohol, dexamethasone phosphate was efficiently hydrolyzed to free dexamethasone, reaching its peak plasma concentration within 5 minutes. 20-Dihydrodexamethasone, a metabolite of dexamethasone, reached its peak plasma concentration 2 hours after injection. About 6% of administered dose appeared in 24 hours urine as free dexamethasone. By contrast, virtually no free dexamethasone and 20-dihydrodexamethasone were found in plasma and urine after dexamethasone sulfate injection. Pharmacokinetic analysis showed that dexamethasone sulfate had shorter plasma half-life and greater metabolic clearance rate than did free dexamethasone. A large fraction (63%) of dexamethasone sulfate was quickly excreted unmetabolized in urine.

Plasma cortisol level was significantly suppressed over 24 hours after dexamethasone phosphate, while the plasma cortisol profile after dexamethasone sulfate showed mere physiological circadian variations. When the steroid esters were injected after pretreatment with metyrapone, a definite suppression of plasma

* 金沢大学医学部内科学第3講座

〒920 金沢市宝町 13 番地 1 号

ACTH was noted after dexamethasone phosphate. Here again, dexamethasone sulfate was ineffective.

The results cast a serious doubt on the clinical value of dexamethasone sulfate as an injectable glucocorticoid, and critical reevaluation on this preparation is needed.

Key words : dexamethasone, dexamethasone phosphate, dexamethasone sulfate, cortisol, ACTH

緒 言

1948年に初めて cortisone が関節リウマチに対して使用されて以来、副腎皮質ステロイド剤の使用は増加の一途をたどり、その間 prednisolone, dexamethasone, betamethasone, triamcinolone など多数の合成副腎皮質ステロイド剤が開発され、現在では临床上不可欠のものとして頻用されている。しかしヒトに合成副腎皮質ステロイド剤を薬物として投与した場合、特にステロイド剤の種類や投与法と効果・副作用の関係等については十分検討されておらず、経験的な面が主となっている。

1969年, Abraham¹⁾によりステロイドの測定に radioimmunoassay が使用されて以来、次々と種々のステロイドの radioimmunoassay が報告され, prednisolone や dexamethasone などの合成副腎皮質ステロイドの測定にも使用されて、本技法を駆使しての血中・尿中濃度の測定により合成ステロイドの体内代謝動態の検討が可能となった。

現在経口用合成ステロイド剤として頻用されている prednisolone について, radioimmunoassay を用いて体内での prednisone への可逆的变化や病的状態での代謝排泄の変化, 即ち肝障害時には代謝が遅く血中半減期の延長が見られ, また甲状腺機能亢進症では prednisolone の半減期が短縮し, 血中 prednisone が増加する²⁾ことが認められている。その投与法については正常人では1回経口投与では24 hr 後には下垂体—副腎皮質系の抑制は消失しているが, 同量でも分3投与すると著明な抑制が見られ³⁾, また withdrawal syndrome

の防止のために軽い内因性ステロイドの抑制で大きな効果を認める投与法が検討されている。

一方 dexamethasone の磷酸塩および硫酸塩は静注用合成副腎皮質ステロイド剤として, 特に経口投与の不可能な緊急例や重症例に対して抗炎症効果や抗ショック効果を期待して広く使用されているが, 両剤同等な効果を持つか否かについてはヒトでは客観的なデータは見られない。Kitagawa ら⁴⁾はラットにおける抗浮腫, 抗肉芽形成作用に磷酸塩と硫酸塩とは大きな差があり, 後者では殆んど効果がないとしている。また前者はステロイド代謝の面でも後者とは異なり速やかに水解されて遊離型ステロイドが出現するのに対し, 後者は水解されにくいとしている。しかし硫酸塩については実験的ショック時に効果ありとする報告⁵⁾⁶⁾もあり一定の見解に至ってはいない。ステロイドの効果や代謝の点で動物とヒトでは差があることは広く認められており, 動物での成績をそのままヒトにあてはめることには疑問がある。また Kitagawa ら⁴⁾のステロイド代謝の検討は古典的な 17-OH CS の測定を用いたものであり, 血中 dexamethasone 濃度とその効果との関連については明らかでない。Dexamethasone の磷酸塩と硫酸塩が体内でどのような形で存在し, 代謝されていくのかは不明である。

本研究ではヒトに dexamethasone の磷酸塩と硫酸塩の2種のエステルを投与し, その血中および尿中の動態を観察すると共に, 両エステルの glucocorticoid 作用の指標として下垂体—副腎皮質系の抑制について検討し, 代謝および作用の両面で大きな差があることを認めたので報告する。

対象および方法

1. 対象

対象は20～30歳（平均年齢24.0歳）の健常男子10名（平均体重67.7kg）で、予め問診、理学的検査、一般臨床検査に異常のないことを確認した後、実験の主旨および使用薬剤の薬理学的性質について理解を得た上で実験を行った。

2. 使用薬剤

Dexamethasone disodium phosphate (D-P) (Orgadron, Organon) および dexamethasone sodium sulfate (D-S) (Dexa-Scherosone, Schering G. A.) を使用した (Fig. 1)。

3. 薬剤投与および検体採取方法

(1)実験1：遊離型 dexamethasone (D-A) として20mgに相当するD-P 26.5mg, D-S 25.2mgを生理的食塩水で10mlとし、30secかけて静注した。D-PとD-Sの投与はrandom cross over法に従って行い、実験の間隔は2wk以上とした。内因性ステロイドホルモンの日内リズムを考え、実験は9:00に開始した。採血は静注前および静注後5, 15, 30min, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 48hrと経時的にEDTA加試験管(0.1W/V%)を用いて行い、採血後血漿は直ちに冷却遠心分離し、測定まで凍結保存した。また尿は0～2, 2～4, 4～8, 8～12, 12～24hrの5回に分けて採取し、尿量を測定後一部を測定まで凍結保存した。

(2)実験2：Metyrapone (Metopiron, Ciba-Geigy) を実験前日の8:00より4hrごとに500mgずつ6回、計3.0gを内服させ（最終内服は実験当日4:00）、9:00に実験1と同様にD-PあるいはD-Sを静注した。静注前30, 15min, 静注直前および静注後5, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120,

150min, 3, 4, 6, 8, 12, 24hrにEDTA採血を行った。血漿は直ちに冷却遠心分離して測定まで凍結保存した。またmetyrapone内服の対照として生理的食塩水のみ静注し、静注前15minより6hrまでの同時刻および24hr後にEDTA採血を行った。対照およびD-P, D-S投与の間隔は少なくとも2wk以上とした。

4. 測定項目

(1)実験1：D-A および D-S, 20-dihydrodexamethasone (20-OH Dex.) は血漿および尿で測定し、cortisol は血漿においてのみ測定した。

(2)実験2：cortisol および ACTH を測定した。

5. 測定方法

(1)溶媒、試薬、器機

溶媒は全て和光純薬製の特級試薬をそのまま使用した。

0.01M 磷酸緩衝液 (pH 7.4, PBS) は Nishina ら⁷⁾の方法で、dextran-coated charcoal suspension (DCC) および scintillation fluid は Abraham ら⁸⁾の方法で調整した。

標品ステロイドは全て Sigma 社より、1, 2-³H-cortisol (S. A. 47.69 Ci/m mol) および 6, 7-³H-dexamethasone (S. A. 32.71 Ci/m mol) は New England Nuclear 社より購入した。

20-OH Dex. は放射性、非放射性とも宮保ら⁹⁾の方法に従ってNaBH₄でD-AのC-20位を還元して得たもので、Bush type の paperchromatography、即ちBp (benzene:chloroform:methanol:water 50:50:50:50) および5% boric acid に浸して乾燥させた濾紙をB_s (benzene:methanol:water 1000:525:475) で展開して分離精製した。

Column chromatography には内径8mmの

Fig. 1 Structure of dexamethasone and its esters.

Fig. 2 Procedure of extraction of free dexamethasone and dexamethasone sulfate.

column に Sephadex LH-20 (Pharmacia Fine Chemicals) を 4.0 g 充填し、溶出液として dichlormethane : methanol (400 : 1) を使用する system と、内径 6 mm の column に Sephadex LH-20 を 2.0 g 充填し、溶出液には dichlormethane : methanol (50 : 1) を使用する system の 2 種類を用い、column はいずれも使用前に溶出液で十分に洗浄した。

Radioimmunoassay にはシオノギチューブを使用した。

Radioactivity は ALOKA LSC-651 liquid scintillation spectrometer で測定した。

(2)抽出方法

(a)D-A (Fig. 2) : 血漿あるいは尿 10 μ l に水 1 ml を加えて混和、dichlormethane 3 ml にて D-A を抽出し 2000 rpm で 10 min 遠心後水層を吸引除去し、dichlormethane 層を 1 ml ガラス試験管に移して乾固した。残渣に PBS を 1 ml 加え、その 0.1 ml を radioimmunoassay に供した。抽出による 3 回収率は $98.9 \pm 1.3\%$ (Av. $\pm$ S. E.) であったため、回収率による補正は行わなかった。

Fig. 3 Procedure of extraction of 20-dihydrodexamethasone.

(b)D-S (Fig. 2) : 血漿あるいは尿 10 μ l に水 1 ml を加えて混和後、dichlormethane 3 ml にて遊離型ステロイドを抽出し 2000 rpm で 10 min 遠心した。水層 0.3 ml をとり ethanol 1.5 ml にて除蛋白抽出し 3000 rpm で 30 min 遠心後上清 0.1

Fig. 4 Elution pattern of dexamethasone(D-A) and 20-dihydrodexamethasone through Sephadex LH-20 column.

ml を radioimmunoassay 用チューブに移して乾固し, PBS 0.1 ml を加えて radioimmunoassay に供した。

(c)20-OH Dex. (Fig. 3): 血漿 2~3 ml, 尿 1 ml に回収率測定用の ^3H -20-OH Dex. を約 6,000 cpm 加え dichlormethane 10 ml で抽出, その 5 ml を内径 6 mm の column に apply し, dichlormethane : methanol (50 : 1) で溶出した。溶出曲線は Fig. 4 に示したが, D-A は 15~30 ml, 20-OH Dex. は 35~50 ml に溶出され, D-A と 20-OH Dex. はきれいに分離された。溶出した 20-OH Dex. は乾固後 PBS を 1 ml 加え, 0.1 ml を radioimmunoassay に, 0.2 ml を回収率測定に供した。抽出分離操作での回収率は $70.7 \pm 1.3\%$ (Av. $\pm$ S. E.) であった。

(d)Cortisol (Fig. 5): 血漿 0.3 ml に回収率測定用の ^3H -cortisol を約 6,000 cpm 加え dichlormethane 10 ml で抽出, その 5 ml を内径 8 mm の column に apply し, dichlormethane : methanol (400 : 1) で溶出した。Fig. 6 に示した様に cortisol は 30~45 ml, D-A は 50~70 ml に溶出された。

Fig. 5 Procedure of extraction of cortisol.

溶出された cortisol は乾固後 PBS を 1 ml 加え, その 0.1 ml を radioimmunoassay に, 0.2 ml を回収率測定に供した。抽出分離操作での回収率は $63.7 \pm 2.1\%$ (Av. $\pm$ S. E.) であった。

(3)Radioimmunoassay

(a)D-A, D-S, 20-OH Dex., cortisol

Radioimmunoassay に使用した抗血清は, 当研究室で合成した¹⁰⁾¹¹⁾dexamethasone-21-hemisuc-

Fig. 6 Elution pattern of cortisol and dexamethasone(D-A) through Sephadex LH-20 column.

Tab. 1 Cross-reactivity(%) of Various Steroids with the Antisera of Dexamethasone, 20-Dihydrodexamethasone(20-OH Dex.) and Cortisol

Steroids	Anti-dexamethasone	-20-OH Dex.	-cortisol
Dexamethasone	100.0	0.2	11.8
Dex. sulfate	27.2		4.2
Dex. phosphate	0.2		0.1
20-OH dexamethasone	34.2	100.0	1.2
Prednisolone	5.6	0.1	72.8
Prednisone	0.7		12.4
Betamethasone	35.4		9.2
Cortisol	0.5	0.4	100.0
Cortisone	0.2	0.1	14.5
Corticosterone	0.5	0.1	18.2
THF	< 0.05	< 0.05	2.9
β -Cortol	< 0.05	0.2	< 0.05
U _R	0.1	0.5	0.2
E _R	0.4	0.7	1.2
DOC	0.5		2.4
Testosterone	0.2	< 0.05	0.2
Estradiol	< 0.05	< 0.05	< 0.05
Progesterone	0.4	< 0.05	0.3

cinat-BSA, 20-OH Dex.-3-oxime-BSA および cortisol-21-hemisuccinat-BSA をウサギに反復免疫して得たもので、それぞれの抗血清の内因性および合成ステロイドとの交差反応性は Tab.1

に示した。抗 dexamethasone 抗血清は D-S と 27.2%と大きな交差を示すことを利用し、D-A の radioimmunoassay における cold standard を D-S に変更することにより D-S の良好な標準曲

線を得ることができたため、D-S の測定には抗 dexamethasone 抗血清を使用した。抗 20-OH Dex. 抗血清および抗 cortisol 抗血清の D-A に対する交差は小さかったが、D-A の血中濃度は 20-OH Dex. および cortisol に比べて非常に高く測定値に影響を与えるため column による分離が必要であった。

抗血清は D-A で 20,000 倍、D-S では 30,000 倍、20-OH Dex. では 20,000 倍、cortisol では 12,000 倍に希釈して使用した。

Radioimmunoassay の概略は Fig. 7 に示した如く、全てのステロイドを同様の方法で行った。試料あるいは cold steroid の standard 0.1 ml に約 6,000 cpm の ^3H -steroid 0.1 ml, 次に 0.5 ml の

Fig. 7 Procedure of radioimmunoassay of steroids.

抗血清を加えて混和、4°C で一夜 incubation の後 ice bath 中で DCC 0.3 ml を加えて混和、再び ice bath 中に 10 min 静置後 3,000 rpm で 10 min 冷却遠心した。上清 0.5 ml を counting vial に移し、scintillation fluid を 8 ml 加えて攪拌後 radioactivity を測定した。

D-A および D-S は 40–10,000 pg/0.1 ml, 20-OH Dex. は 10–1,000 pg/0.1 ml, cortisol は 20–4,000 pg/0.1 ml の範囲で測定可能であった。

抽出分離および radioimmunoassay 操作全体での between-assay, within-assay および recovery は Tab. 2 に示したが、良好な値を示した。

(b) ACTH: ACTH は CIS 社 (CEA-IRE-SO-RIN, France) 製の RIA kit を用い、測定には 0.1 ml の血漿を使用した。

(4) 検定

有意差の検定には全て Student の t-検定を用いた。

結 果

1. 実験 1

(1) D-A

D-P および D-S 静注時の D-A の血中濃度を Fig. 8 に示した。D-P を静注した場合 5 min で $58.1 \pm 6.2 \mu\text{g/dl}$ (Av. $\pm$ S. E.) と頂値を示し、15 min $25.8 \pm 2.8 \mu\text{g/dl}$, 1 hr $17.6 \pm 0.7 \mu\text{g/dl}$, 4 hr $11.7 \pm 0.9 \mu\text{g/dl}$, 12 hr $2.9 \pm 0.7 \mu\text{g/dl}$ と 2 相性に減少し、24 hr 後には血中より消失した。Two compartment open model¹²⁾による解析では、半減期 ($T_{1/2\beta}$) は 4.74 ± 0.43 hr であり、f (bio-availability) を 0.1 とした場合 Vd (見かけの分布容積) は 88.32 ± 7.85 l, metabolic clearance rate (MCR) は 234.5 ± 19.5 ml/min であった。これに対し D-S 静注では、D-A は 3 例で 5 min に 3.6, 2.5,

Tab. 2 Coefficient Variation and Recovery through the Extraction, Purification and Radioimmunoassay of Steroids

	D-A	D-S	20-OH Dex.	Cortisol
Between-assay	13.8%	14.8%	13.9%	13.6%
Within-assay	6.4%	8.6%	5.6%	7.8%
Recovery	$98.2 \pm 2.8\%$	$96.5 \pm 2.4\%$	$96.8 \pm 2.4\%$	$92.3 \pm 3.5\%$

Fig. 8 Plasma free dexamethasone (Av. $\pm$ S. E.) following injection of dexamethasone phosphate (▼) and dexamethasone sulfate (●).

Fig. 9 Urinary excretion of free dexamethasone (Av. $\pm$ S. E.).

3.0 $\mu\text{g}/\text{dl}$ の値を示した以外は終始 0.5 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 以下であった。

尿中に排泄された D-A は Fig. 9 に示したが、D-P 静注で 0~2 hr で $339.6 \pm 48.1 \mu\text{g}$, 2~4 hr で $177.6 \pm 29.6 \mu\text{g}$, 4~8 hr で $262.1 \pm 46.3 \mu\text{g}$, 8~12 hr で $125.7 \pm 27.7 \mu\text{g}$, 12~24 hr で $260.1 \pm 77.8 \mu\text{g}$ で、静注後 24 hr 以内に投与量の 5.98 $\pm$ 0.93% に

当たる $1,196.2 \pm 186.0 \mu\text{g}$ が遊離型として排泄された。一方 D-S では 0~2 hr で $11.0 \pm 7.7 \mu\text{g}$ が排泄されただけでその後の尿中には出現せず、投与量の 0.06 $\pm$ 0.04% のみ遊離型で排泄された。

(2) D-S

D-S 静注後の D-S 血中濃度は Fig. 10 に示した。5 min で頂値 $188.4 \pm 34.8 \mu\text{g}/\text{dl}$ を示し、15 min $39.4 \pm 3.9 \mu\text{g}/\text{dl}$, 30 min $21.8 \pm 2.8 \mu\text{g}/\text{dl}$, 1 hr $14.4 \pm 1.6 \mu\text{g}/\text{dl}$, 2 hr $8.0 \pm 0.8 \mu\text{g}/\text{dl}$, 4 hr $4.8 \pm 0.9 \mu\text{g}/\text{dl}$ と 2 相性に減少し、12 hr 後には血中より消失した。Two compartment open model による解析では $T_{1/2\beta}$ は $2.35 \pm 0.71 \text{ hr}$, V_d は $91.16 \pm 20.97 \text{ l}$, 全 clearance は $438.2 \pm 35.3 \text{ ml}/\text{min}$ であった。

尿中 D-S は Fig. 11 に示したが、0~2 hr で $11.37 \pm 1.15 \text{ mg}$, 2~4 hr $2.35 \pm 0.56 \text{ mg}$, 4~8 hr $1.65 \pm 0.21 \text{ mg}$, 8~12 hr $0.45 \pm 0.09 \text{ mg}$, 12~14 hr $0.08 \pm 0.03 \text{ mg}$ で、静注後 24 hr 以内に投与量の 63.1 $\pm$ 4.7% に当たる $15.90 \pm 1.20 \text{ mg}$ がエステル型のまま排泄された。

(3) 20-OH Dex.

D-P 静注後の血漿中 20-OH Dex. 濃度は Fig.

Fig. 10 Dexamethasone sulfate in plasma (Av. $\pm$ S. E.) after intravenous injection of dexamethasone sulfate.

Fig. 11 Urinary excretion of dexamethasone sulfate (Av. $\pm$ S. E.).

12 に示したが, 15 min で 19.4 ± 15.6 ng/dl と少量出現し, 30 min 119.6 ± 18.5 ng/dl, 1 hr 183.7 ± 31.0 ng/dl と増加し, 2 hr 243.2 ± 36.5 ng/dl, 4 hr 264.0 ± 26.9 ng/dl, 6 hr 261.1 ± 23.0 ng/dl と plateau を形成した後 8 hr 195.4 ± 11.7 ng/dl, 12 hr 146.8 ± 13.8 ng/dl と減少したが 24 hr 後も 7.3 ± 7.3 ng/dl と極く少量存在した。一方 D-S を静注し

た時は 20-OH Dex. は終始血中に検出されなかった。

尿中 20-OH Dex. は Fig. 13 に示したが, D-P 静注時 0~2 hr で 2.66 ± 0.58 μ g, 2~4 hr 2.64 ± 0.52 μ g, 4~8 hr 6.76 ± 0.53 μ g, 8~12 hr 3.08 ± 0.62 μ g, 12~24 hr 4.97 ± 0.48 μ g が排泄され, 24 hr では合計 20.11 ± 1.69 μ g が排泄された。D-S 静注時の尿中には 0~2 hr 0.20 ± 0.03 μ g, 2~4 hr 0.09 ± 0.05 μ g, 4~8 hr 0.20 ± 0.06 μ g, 8~12 hr 0.84 ± 0.43 μ g, 12~24 hr 0.41 ± 0.40 μ g が排泄され, 24 hr では合計 1.75 ± 0.80 μ g であった。

(4) Cortisol

Fig. 14 に D-P, D-S 静注後の cortisol の変動を示した。D-P 静注時の cortisol は前値が 6.0 ± 0.9 μ g/dl, 5 min で 10.9 ± 2.8 μ g/dl と一時的に上昇したが有意差はなかった。その後徐々に低下し 2 hr 5.5 ± 1.0 μ g/dl, 4 hr 3.6 ± 0.9 μ g/dl, 8 hr で 1.7 ± 0.3 μ g/dl, 12 hr 1.0 ± 0.3 μ g/dl となり 24 hr でも 0.7 ± 0.2 μ g/dl と著明に抑制されたままであった。48 hr 後には 3.7 ± 0.9 μ g/dl となり前値に比べて低値ではあるが有意差は示さなかった。これに対して D-S では静注前が 9.3 ± 0.9 μ g/dl, その後徐々に低下し 1 hr 5.8 ± 1.0 μ g/dl, 4 hr $6.4 \pm$

Fig. 12 20-dihydrodexamethasone in plasma (Av. $\pm$ S. E.) after intravenous injection of dexamethasone phosphate.

Fig. 13 Urinary excretion of 20-dihydrodexamethasone (Av. $\pm$ S. E.).

1.0 $\mu\text{g/dl}$, 12 hr $3.0 \pm 0.8 \mu\text{g/dl}$ で 24 hr では $11.8 \pm 1.5 \mu\text{g/dl}$ とほぼ前値と同じ値をとり, cortisol の正常日内リズムと考えられる変動を示した. D-P と D-S 静注時の血漿 cortisol 値を比較すると, 3 hr 以降明らかに D-P 静注の場合に cortisol の抑制が見られた.

2. 実験 2

(1) Cortisol

Metyrapone 内服時の cortisol は, 対照で前値

が $4.0 \pm 0.6 \mu\text{g/dl}$ と抑制されていたが, 24 hr では $9.2 \pm 2.0 \mu\text{g/dl}$ と前値に比べて有意に上昇し正常に回復していた. これに対し D-P では前値 $4.3 \pm 0.9 \mu\text{g/dl}$ に対して 24 hr $1.1 \pm 0.2 \mu\text{g/dl}$ で, 前値および対照の 24 hr 値に比べて有意に抑制された. 一方 D-S では前値 $4.8 \pm 0.6 \mu\text{g/dl}$ に対し 24 hr $7.9 \pm 1.4 \mu\text{g/dl}$ と対照と同様に回復していた.

(2) ACTH

Metyrapone 内服時, 静注前の ACTH 濃度は対照で $234.0 \pm 35.5 \text{ pg/ml}$, D-P では $209.8 \pm 18.7 \text{ pg/ml}$, D-S では $156.5 \pm 19.4 \text{ pg/ml}$ で, 全体では $195.9 \pm 13.8 \text{ pg/ml}$, $80.4 \sim 422.4 \text{ pg/ml}$ と個人差が大きく, また同一人でもかなりの変動が見られるため, 2~3 回の前採血の平均を 100% とし, それに対する割合によって ACTH の推移を検討した結果を Fig. 15 に示した. 対照では 15 min $89.9 \pm 11.6\%$, 30 min $95.4 \pm 11.7\%$, 60 min $92.2 \pm 14.1\%$, 120 min $68.3 \pm 12.6\%$, 4 hr $36.1 \pm 6.4\%$ と時間と共に血漿 ACTH は低下した. D-P 静注時血漿 ACTH は 15 min $90.1 \pm 3.6\%$, 30 min $64.8 \pm 5.8\%$, 60 min $38.6 \pm 5.4\%$, 120 min $22.8 \pm 6.1\%$, 4 hr $19.3 \pm 6.5\%$ と, 対照に比べて 30 min 以降有意に

Fig. 14 Plasma cortisol level (Av. $\pm$ S.E.) in response to intravenous injection of dexamethasone phosphate (▼) and dexamethasone sulfate (●). Asterisks indicate the significance of the difference between corresponding group averages (* p < 0.05, ** p < 0.01).

Fig. 15 Plasma ACTH level (percent of average base line $\pm$ S.E.) in response to intravenous injection of dexamethasone phosphate (▼) and dexamethasone sulfate (●). Shaded area represents the time course of plasma ACTH in control (saline injection) experiment. Asterisks indicate the significance of the difference between averages of dexamethasone phosphate and dexamethasone sulfate groups (* p < 0.05).

抑制が見られた。これに対して D-S では 15 min $89.4 \pm 7.6\%$, 30 min $85.7 \pm 10.0\%$, 60 min $88.7 \pm 15.5\%$, 120 min $62.8 \pm 11.5\%$, 4 hr $41.3 \pm 4.7\%$ で対照と差を認めなかった。

考 案

Dexamethasone の静注用製剤として dexamethasone disodium phosphate (D-P) および sodium sulfate (D-S) が広く臨床に使用されている。しかしその代謝および作用については種々の検討が成されているが未だ明らかにされたとはいえず、また一定の見解も得られていない。近年 radioimmunoassay に代表される測定法の進歩により合成ステロイドについても多くの radioimmunoassay が報告されている。

本実験で使用した radioimmunoassay は D-S を除き D-A, 20-OH Dex., cortisol については specificity, accuracy, precision において満足すべき結果であった。D-S については抗血清が dexamethasone に対するものである点、また glucuronide との交差反応性が検討されていない点など specificity にやや問題があるが、抽出より測定までの全操作を通じての recovery は $96.5 \pm 2.4\%$ と満足できる結果であり、precision も良好であった。高い交差反応性を利用する radioimmunoassay については既に Sekihara ら¹³⁾が同様の方法を報告しており、著者の今回の方法に関しても特に問題はないと考えられる。

今回新たに開発した cortisol, D-A およびその代謝産物である 20-OH Dex., D-S の radioimmunoassay や更に ACTH 測定 kit を用いて D-P と D-S の代謝および作用における相違を検討したが、D-P および D-S 静注時の両者の血中および尿中代謝状態には大きな差が見られた。即ち D-P では静注後血中に速やかに D-A が出現するのに対し、D-S では血中に殆んど D-A が認められず、静注された D-S は殆んどが代謝されることなくそのまま尿中に排泄されている。D-P 静注時の D-A の血中動態については Melby ら¹⁴⁾は 17-OH CS の測定で、Tsuei ら¹⁵⁾は高速液体

chromatography で、また Hare ら¹⁶⁾および Hichens ら¹⁷⁾は radioimmunoassay によって測定を行い、いずれも静注後急速に D-A の血中濃度が上昇することを報告しており、今回の著者の成績とも一致している。また D-P 静注時の D-A 半減期は、Tsuei ら¹⁵⁾が平均 201 min とやや短い値を報告している以外、Hare ら¹⁶⁾は 255~320 min, Hichens ら¹⁷⁾は 3.2~5.6 hr としており、著者の成績 4.74 ± 0.43 hr とほぼ同様の値である。一方 D-A を経口投与した時の血中半減期については Meikle¹⁸⁾や Hichens ら¹⁷⁾, English ら¹⁹⁾がそれぞれ 240~270 min, 3.2~5.4 hr, 2.05~5.2 hr と報告しており、また Haque ら²⁰⁾によれば放射性 D-A 静注時の半減期は 252 ± 21 min という。D-A 投与時と D-P 静注時の D-A の半減期に殆んど差を認めないことは、Hare ら¹⁶⁾が D-P は静注後 90%以上が速やかに水解されると報告している様に、殆んど D-P がごく短時間で水解されて D-A に変換し、代謝排泄されていくことによると考えられる。水解の場合としては、Hare ら¹⁶⁾は D-P を全血と incubation しても水解される割合は 15%以下としており、著者の予備実験でも血漿との incubation では 6~15%であったことを考えると、一般的にはステロイドの代謝で重要な役割を果たす肝や腎が、ここでも大きな役割を果たしていると思われる。尿中への D-P の代謝産物としての D-A の排泄は 24 hr で投与量の $5.98 \pm 0.93\%$ で、大部分は代謝抱合されて排泄されと考えられ、6 mg の D-P を静注した Tsuei ら¹⁵⁾も尿中 D-A 排泄は $2.77 \pm 0.52\%$ としている。

一方 D-S 静注時に血中および尿中に D-A は殆んど検出されず、血中では未水解の D-S は静注 5 min 後に peak を示し、D-P 静注時の D-A と同様の pattern で減衰し、尿中には 24 hr で投与量の約 63%がエステル型のまま排泄されている。半減期は 2.35 ± 0.71 hr で D-A の半減期に比べて有意に短く、Vd は D-A とほぼ同じで MCR は極めて大きい。また尿中への D-S の排泄は 0~2 hr の間に投与量の $45 \pm 5\%$ を排泄しており、これらの

結果は D-S が D-P に比べて非常に水解され難く、静注後 D-S が未水解のまま速やかに排泄されることを示している。今まで glucocorticoid の硫酸抱合型の代謝についての報告は極めて少なく十分な検討は成されていない。宮保ら²¹⁾はヒトに 100 mg の D-S および prednisolone sulfate (P-S) 静注後の尿中代謝産物を検討し、共に未水解の硫酸抱合型が排泄初期に大量に排泄されることを、また Nakada ら²²⁾は ¹⁴C-cortisol sulfate の静注で同様の結果を報告している。また Kitagawa ら⁴⁾は D-S および P-S をウサギおよびイヌに静注した時に血中および尿中に遊離型ステロイドは増加しないと報告している。いずれの報告も著者とはほぼ同様の成績であり、D-P と D-S はその代謝様式に大きな差があり、D-P と D-S の作用に関しても大きな差がある可能性が十分に想像される。

内因性ステロイドの代謝は 1) A 環還元, 2) A 環還元と C-20 還元, 3) 側鎖離脱の順に多く、他に 4) C-11 酸化, 5) C-6 水酸化などが起こるとされている²³⁾が, dexamethasone は 1-2 二重結合, 16 α -methyl, 9 α -fluoro の形となっているため A 環の還元や側鎖離脱は起こりにくいとされ、C-20 還元および C-6 水酸化が主な代謝系路と考えられている^{24)~26)}。著者は主な代謝産物の 1 つと考えられている 20-OH Dex. の radioimmunoassay を開発して血中および尿中の遊離型 20-OH Dex. を測定した。D-P 静注後血中では 2~6 hr に peak が存在して血中 D-A に比べて著しく遅く、また血中および尿中とも 20-OH Dex. の濃度は D-A の濃度の $\frac{1}{50}$ ~ $\frac{1}{100}$ とわずかであり、20-OH Dex. の多くは抱合型となって排泄されるか、あるいは C-6 位の水酸化が主な代謝系路である可能性が考えられる。治療薬として dexamethasone など合成ステロイドを投与した場合、その効果において個人差が見られることや長期投与中に効果が小さくなるいわゆる escape の現象が見られること、また下垂体-副腎皮質系の抑制に疾患による差が見られることなど、各個人や各種疾患の治療効果にかなりの差があることはよく知られ

ており、この理由の 1 つとして投与したステロイドの代謝における差が考えられており、主な代謝産物を簡便な方法で測定することは意義のあることと考えられる。

今日ステロイドホルモンの作用機序²⁷⁾として、活性を持っているのは血中の非蛋白結合遊離型ステロイドであり、これらが特異的細胞質受容体に結合することにより作用を発現すると考えられている。この点で D-P 静注後に遊離型が殆んど血中に出現しないことより、果たして glucocorticoid としての活性を持つかどうかは疑問である。D-P と D-S の生物活性については種々の報告が見られるが、D-P に関しては一致して強い glucocorticoid 活性を有することが明らかにされているものの、D-S については見解が一致していない。Kitagawa ら⁴⁾はラットを用いて D-P と D-S の抗炎症効果を比較検討し、D-P には強い抗炎症効果があるにもかかわらず、D-S には殆んど効果を認めないとしており、また増岡ら²⁸⁾もラットの肉芽形成の比較によって D-S は D-P の $\frac{1}{5}$ の効果しかないと報告している。一方抗ショック効果に関しては意見が一致していない。末盛⁵⁾は drumming による外傷性ショックラットにおける死亡率およびライゾーム由来の蛋白分解酵素を D-P, D-S と同様に抑制する効果があるとしており、また江端ら⁶⁾はウサギにエンドトキシンを投与した際のヒスタミン、セロトニンを測定して、D-P, D-S とともにこれらの物質の遊離を抑制するとしている。これに対して今井ら²⁹⁾³⁰⁾はマウスでのエンドトキシンショックによる死亡率を D-P では著明に減ずるが D-S はあまり効果がないとしている。

ヒトにおける静注用ステロイドの臨床応用の報告は多数あるが、D-P と D-S の効果を客観的に比較した報告は現在まで見られない。ただ dexamethasone の異性体である betamethasone の磷酸塩 (B-P) と D-S について、pacemaker と植え込み部の発赤腫脹を指標として比較した成績を山科ら³¹⁾が報告しており、B-P では明らかな効果が見られるが D-S では殆んど効果を期待できない

としている。

ヒトにおいては抗炎症効果や抗ショック効果を客観的に比較することは極めて困難であることより、著者は D-P および D-S のより客観的かつ定量的な glucocorticoid 作用の比較をするために下垂体-副腎皮質系の抑制について検討した。まず D-P および D-S の静注後の cortisol の変動を調べたところ、D-S ではほぼ正常の cortisol 日内リズムと考えられる変動を示したのに対して、D-P 静注時には cortisol は D-S に比べて 3 hr 以降明らかに抑制され、24 hr 後も著明に抑制されており更に 48 hr 後も低値であった。D-P 静注時の cortisol は Czervinski ら³²⁾も報告しており、2 mg/kg の静注で 72 hr まで抑制を見たとしており、大量の D-P 静注時にかなり長時間に亘って cortisol 日内リズムの回復は見られない様である。

D-P および D-S の下垂体-副腎皮質系抑制効果の違いを確認するために血中 ACTH の反応を検討した。使用した ACTH 測定 kit では血中の抑制された ACTH を正確に測定するには感度が十分でないため、前日より metyrapone で前処置して血中 ACTH を上昇させ³³⁾た後³⁴⁾ D-P および D-S を静注した。血中 ACTH 濃度は D-P では 30 min 以降急速に低下し、対照と比べて有意の抑制が見られたのに反し、D-S は対照とほぼ同様の低下を示し抑制は見られなかった。更に血中 cortisol も 8 hr 後より D-P で有意差をもって低値を示すようになり、24 hr 後では D-P における cortisol は依然として抑制されているにもかかわらず、D-S では対照と同じく正常に回復していた。ここで ACTH と cortisol の抑制の時間に差を認めるのは血中の ACTH の半減期は³⁵⁾数 min であるのに対し cortisol の半減期²⁴⁾は 80~100 min であることから理解できる。この結果は下垂体-副腎皮質系に対する抑制効果より見た場合、D-P には D-A 経口投与と同様の作用が見られるが、D-S 20 mg の 1 回静注ではその効果が全く認められないことを示している。また下垂体-副腎皮質系の抑制効果は抗炎症効果とほぼ平

行すると考えられていることから推察すると、恐らく D-S は抗炎症効果も殆んどないと考えられる。ただし今回の D-S における成績は D-A として 20 mg の 1 回静注でのものであり、更に大量の D-S 投与では遊離された D-A が glucocorticoid 作用を発揮する可能性も否定できない。また炎症巣などの病的組織において D-S がより効率的に水解される可能性や、D-S そのものが何らかの作用を示すことも考えられる。事実、多くの steroid sulfate, 例えば dehydroepiandrosterone-sulfate や estrogen-sulfate がそれ自体遊離型のステロイドにない生物学的作用があることが報告されており³⁶⁾³⁷⁾、D-S についても更に追求する必要がある。

結 論

Dexamethasone の静注用製剤である磷酸塩 (D-P) および硫酸塩 (D-S) をヒトに投与し、その生体内代謝および下垂体-副腎皮質系に対する抑制効果について radioimmunoassay を利用して検討した。その結果両者には大きな差を認め、D-P は速やかに水解されて遊離型となり、下垂体-副腎皮質系を抑制する。これに対して D-S は殆んど水解されずに大部分がエステル型のまま排泄され、下垂体-副腎皮質系の抑制効果も認めない。静注用 glucocorticoid としてのより詳細な検討が必要であらう。

謝 辞

稿を終わるに臨み、御校閲を賜った服部駿一教授、ならびに直接御指導戴きました宮保進助教授、岸田繁先生に深く感謝いたします。

本論文の要旨は第 1 回臨床薬理学会において発表した。

文 献

- 1) Abraham, G. E.: Solid-phase radioimmunoassay estradio-17 β . J. Clin. Endocrinol. Metab., **29**: 866-870 (1969).
- 2) Gambertoglio, J. G., Amend, W. J. C., Benet, L. Z.: Pharmacokinetics and bioavailability of prednisone and prednisolone in healthy volunteers and patients: A review. J. Phar-

- macokin. Biopharm., 8 : 1-52 (1980).
- 3) 岸田 繁, 中村 毅 : 第119回東海・第105回北陸合同地方会, シンポジウム「ステロイドホルモン療法とその問題点」7) 各種合成ステロイドホルモン血中濃度と下垂体-副腎系の抑制・日内会誌, 69 : 1156 (1980).
 - 4) Kitagawa, H., Mohri, T. Kitagawa, M. : Comparative studies on anti-inflammatory effect and biological fate of 21-phosphate and-sulfate of dexamethasone and prednisolone. Arznei-Forsch., (Drug Res.) 22 : 402-410 (1972).
 - 5) 末盛郁男 : 外傷性ショックラットに対する副腎皮質ステロイドの効果—Hydrocortisone, dexamethasone, および betamethasone の効力比較—. 麻酔 26 : 1124-1131 (1977).
 - 6) 江端俊彰, 長内宏之, 小林謙二ほか : エンドトキシンショックにおけるデキサメサゾンの効果—Ester type による抗ショック作用の比較—. 麻酔, 27 : 355-359 (1978).
 - 7) Nishina, T., Tsuji, A., Fukushima, D. K. : Site of conjugation of bovine serum albumin to corticosteroid hormones and specificity of antibodies. Steroids, 24 : 861-874 (1974).
 - 8) Abraham, G. E., Manlimos, F. S., Garza, R. : Radioimmunoassay of steroids. Abraham, G. E. (Ed.) : Handbook of radioimmunoassay. Marcel Dekker Inc. N. Y., pp. 591-656 (1977).
 - 9) Miyabo, S., Kishida, S., Hisada, T. : Metabolism and conjugation of 20 β -dihydrocortisol by various dog tissues in vitro. J. Steroid Biochem., 6 : 143-146 (1975).
 - 10) Erlanger, B. F., Borek, F., Beiser, S. M. et al. : Steroid-protein conjugates. J. Biol. Chem., 228 : 713-727 (1957).
 - 11) Janoski, A. H., Shulman, F. C., Wright, G. E. : Selective 3-(α -carboxymethyl) oxime formation in steroidal 3, 20-diones for hapten immunospecificity. Steroids., 24 : 49-64 (1974).
 - 12) Greenblatt, D. J., Koch-Weiser, J. : Medical intelligence, drug therapy, clinical pharmacokinetics (First of two parts). New Eng. J. Med., 293 : 702-705 (1975).
 - 13) Sekihara, H., Ohsawa, N., Ibayashi, H. : A radioimmunoassay for serum dehydroepiandrosterone sulfate. Steroids., 20 : 813-824 (1972).
 - 14) Melby, J. C. and Cry, M. S. : Comparative studies on absorption and metabolic disposal of water-soluble corticosteroids esters. Metabolism, 10 : 75-82 (1961).
 - 15) Tsuei, S. E., Moor, R. G., Ashley, J. J. et al. : Disposition of synthetic glucocorticoids. I. Pharmacokinetics of dexamethasone in healthy adults. J. Pharmacokin. Biopharm., 7 : 249-264 (1979).
 - 16) Hare, L. E., Yeh, K. C., Ditzler, C. A. et al. : Bioavailability of dexamethasone. II. Dexamethasone phosphate. J. Clin. Pharmacol. Therap., 18 : 330-337 (1975).
 - 17) Hichens, M. and Hogans, A. F. : Radioimmunoassay for dexamethasone in plasma. Clin. Chem., 20 : 266-271 (1974).
 - 18) Meikle, A. W., Lagerquist, L. G., Tyler, F. H. : A plasma dexamethasone radioimmunoassay. Steroids., 22 : 193-202 (1973).
 - 19) English, I., Chakraborty, J., Marks, V. et al. : A radioimmunoassay procedure for dexamethasone. Europ. J. Clin. Pharmacol., 9 : 239-244 (1975).
 - 20) Haque, N., Thrasher, K., Werk, E. E. et al. : Studies on dexamethasone metabolism in man : Effect of diphenylhydantoin. J. Clin. Endocrinol. Metab., 34 : 44-50 (1972).
 - 21) 宮保 進, 久田友一郎, 岸田 繁ほか : ヒトにおける合成 corticosteroid 剤の代謝. 日内分泌会誌, 52 : 997-1007 (1976).
 - 22) Nakada, F., Fukushima, D. K., Bradlow, H. L. et al. : Metabolism of hydrocortisone-21-sulfate in man. J. Clin. Endocrinol. Metab., 29 : 1330-1334 (1969).
 - 23) 宮保 進 : 糖質と鉱質ステロイドの代謝, 新内分泌データブック. ホルモンと臨床, 24 特集号 : 239-241 (1977).
 - 24) Fotherby, L. and James, F. : Metabolism of synthetic steroids. Briggs, M. H. and Christie, G. A. (Ed.) : Advances in steroid biochemistry and pharmacology. Vol. 3. Academic Press. London, pp. 67-165 (1972).
 - 25) Butler, J. and Gray, C. H. : The metabolism of betamethasone. J. Endocr., 46 : 379-390 (1970).
 - 26) 嶺尾 徹 : ラットにおける合成 glucocorticoid の体内動態. 日内分泌会誌, 52 : 1243-1268 (1976).
 - 27) Baxter, J. D. and Forsham, P. H. : Tissue effect of glucocorticoids. Am. J. Med., 53 : 573-589 (1972).
 - 28) 増岡通夫, 近藤貴雄, 堀 龍彦ほか : Dexamethasone 21-phosphate および 21-sulfate の cotton-pellet 法による抗炎症作用ならびに酵

- 素による加水分解 (in vitro) の比較検討. 薬理と治療, **2** : 1611-1618 (1974).
- 29) 今井考祐, 桜谷憲彦 : Glucocorticoid の抗ショック作用の研究, 第1報 : Dexamethasone のエステル型による抗エンドトキシン効果の相異. 日内分泌会誌, **54** : 87-92 (1978).
 - 30) 今井考祐, 桜谷憲彦 : Glucocorticoid の抗ショック作用の研究, 第2報 : Dexamethasone の抗エンドトキシン効果と血中濃度—エステル型間における比較. 日内分泌会誌, **54** : 238-245 (1977).
 - 31) 山科秀機, 松浦雄一郎, 田村陸奥夫ほか : Pacemaker 植え込み創部の発赤, 腫脹に対する副腎皮質ホルモンの効果. 最新医学, **34** : 1774-1778 (1979).
 - 32) Czervinski, A. W., Czervinsky, A. B., Whissett, T. L. et al. : Effect of a simple, large, intravenous injection of dexamethasone. Clin. Pharmacol. Therap., **13** : 638-642 (1972).
 - 33) Strott, C. A., West, C. D., Nakagawa, K. et al. : Plasma 11-deoxycorticosteroid and ACTH response to metyrapone (Plasma metyrapone test). J. Clin. Endocrinol. Metab., **29** : 6-11 (1969).
 - 34) Liddle, G. W., Estep, E. L., Kendal, J. W. et al. : Clinical application of new test of pituitary reserve. J. Clin. Endocrinol. Metab., **19** : 875-894 (1959).
 - 35) Krieger, D. T. and Allen, W. : Relationship of bioassayable and immunoassayable plasma ACTH and cortisol concentration in normal subjects and in patients with Cushing's disease. J. Clin. Endocrinol. Metab., **40** : 675-687 (1975).
 - 36) Roberts, K. D. and Lieberman, S. : The biochemistry of the 3β -hydroxy- Δ^5 -steroid sulfates. In Bernstein, and Solomon, S. (Eds) : Clinical and biological aspects of steroid conjugation. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 219-290 (1970).
 - 37) Heer, Revesz, C., Manson, A. J. et al. : Biological properties of estrogen sulfate. In Bernstein, S. and Solomon, S. (Eds.) : Clinical and biological aspects of steroid conjugation. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 368-408 (1970).