薬物代謝に関する実験的ならびに臨床的研究

山下 亀 次 郎*

I. 緒 言

薬物は生体内、ことに肝においてある種の抱合、たとえばグルクロン酸抱合、硫酸抱合をうけ、無毒化されることは古くから知られている。しかしこれとは別に、1958年 Quinn¹⁾はテストステロンを雌シロネズミに連続投与したところ、肝ミクロゾームに存在するある種の酵素活性が上昇する結果、薬物の作用時間が短縮するのを見出した。このような肝における薬物の代謝過程は Remmer²⁾, Conney³⁾, Kato⁴⁾ らによつて研究され、現在肝ミクロゾームに局在し、薬物を NADPH_2 と酸素の存在下で酸化し、あるいは NADPH_2 により還元する酵素系を薬物代謝酵素 (drug-metabolizing enzyme) と総称され、ある種の薬物の代謝にこの酵素系が重要な役割を果たしている。またこの酵素系の活性は薬物の投与により変動しうる⁵⁻⁹⁾。

一方、種々の慢性疾患に対して数多くの薬物が使用されており、そのあるものはきわめて長期間にわたつて連用される。その代表的なものは経口抗糖尿病剤であり、数年あるいは十年にもわたる。当然その間には他の薬物が投与されることも予想される。このような場合、薬物代謝酵素活性に変動が起こつておれば、次に投与された薬物の代謝にも変動をきたすことになり、薬剤効果の持続時間あるいは副作用が通常とは異なつた形で現われる可能性がある。

著者は経口抗糖尿病剤など日常臨床に広く使われている、いくつかの薬物を取りあげ、その直接

の薬理作用とは別に、これらの薬物が肝の薬物代謝に与える影響、またそのような薬物代謝酵素活性の変動が生体にとつてどのような意味をもつかについて、実験的に、また臨床の面から検討した。肝障害時の薬物代謝についても合わせ考察を加えた。

II. 実験方法

1. 実験動物

動物はすべて Wistar 系雄シロネズミ (体重 80~150 g), 飼料はオリエンタル固形飼料を使用した。

アロキサン糖尿病シロネズミは 24 時間絶食後アロキサン 50 mg/kg を静注し、注射後 1 週ないし 2 週で血糖 200 mg/dl 以上のものを用いた。

四塩化炭素肝障害は 2 倍オリーブ油希釈四塩化炭素 (2 ml/kg) を皮下注射し、注射後 24 時間で実験に供した。

閉塞性黄疸はエーテル麻酔下に開腹し、総胆管を結紮、結紮後 2 日および 6 日で実験を行なつた。

2. 使用薬剤および投与法

トルブタマイド Na 塩の 5% 水溶液、500 mg/kg 1 回経口投与後 12 時間および 24 時間、100 mg/kg または 300 mg/kg 連続 5 日経口投与後 24 時間で実験に供した。ただし過酸化脂質の測定には 300 mg/kg 1 回経口投与のシロネズミを用いた。

ジメチルビグアナイドはトルブタマイドと同様に投与した。

アミノピリンは 100 mg/kg 1 日ないし 3 日連続経口投与し、24 時間後に実験に供した。ただし過酸化脂質の測定は 200 mg/kg 1 回投与によつた。フェナセチンはアミノピリンと同様に投与し、アスピリンは 300 mg/kg 投与した。

クロラムフェニコールは 100 mg/kg を筋肉内に注射した。

* K. Yamashita: 東京大学吉利内科 (指導: 吉利和教授)。

受稿: 昭和 42 年 1 月 16 日。

3. 測定方法

1) 薬物代謝酵素活性の測定

in vivo ではペントバルビタールによる睡眠時間を測定し, in vitro では肝ミクロゾームによるペントバルビタールの代謝量から測定した。

a) in vivo の測定法: ペントバルビタール 40 mg/kg ないし 50 mg/kg をシロネズミの腹腔内に注射し, 頭をあげなくなる時を睡眠の開始とし, 頭を自然にあげるまでの時間を測定し, これを睡眠時間とした。

b) in vitro の測定法: 一定量のペントバルビタールを肝ミクロゾームを含む上清と incubate し, その前後のペントバルビタール量の差 (代謝量) から測定した。シロネズミを断頭屠殺, 瀉血後, 肝をあらかじめ冷却した 3 倍量の 0.154 M KCl で homogenize し, 9,000 g, 2°C で 20 分間遠沈し, その上清を試料とした。試料 3.0 ml を glucose-6-phosphate 20 μ moles, NADP 0.4 μ moles, nicotinamide 50 μ moles, $MgCl_2$ 25 μ moles, KCl 77 μ moles, pentobarbital 1.5 μ moles, phosphate buffer (pH 7.4) 280 μ moles を含む reaction mixture (2.5 ml) に添加後, これを 37°C で 30 分間振盪した。つぎに氷水につけて反応を停止させ, その 2 ml を 60 ml 共栓試験管にとり, 1.5% isoamylalcohol を加えた hexan 25 ml, 1 M acetate buffer (pH 5.0) 2 ml を加えて 30 分間室温にて振盪し, ペントバルビタールを hexan にうつし室温で 3,000 r. p. m, 5 分間遠沈した。遠沈後上層の hexan 層 20 ml を 60 ml 共栓試験管にとり, これに 0.4 M phosphate buffer (pH 11.0) 4 ml を加えて 3 分間振盪し, ペントバルビタールを phosphate buffer 層にうつし, 室温 3,000 r. p. m 5 分間遠沈した。phosphate buffer 層をとり, Beckman 型 spectrophotometer にて 241 m μ および 261 m μ の紫外部吸収からペントバルビタール量を測定した。O-time を blank 1 (O. D. (1)), ペントバルビタールのかわりに蒸留水で同様の処置を行なったものを blank 2 (O. D. (2)) とし,
$$\frac{(O. D. - O. D. (2)) \times 4 \times 1.5}{(O. D. (1) - O. D. (2)) \times 3}$$
 (ただし 1.5 はペントバルビタールの量を示す) の式から残りのペントバルビタール量を算出し, もとのペントバルビタール量との差から, 代謝量を求めた。薬物代謝酵素の活性は μ moles/g·liver/30 min. を単位として表現してある。

2) uridine diphosphate glucose (UDPG) dehydrogenase 活性の測定¹⁰⁾

UDPG より uridine diphosphate glucuronic acid の生成に伴う NAD の還元を 340 m μ の吸光度の増加

で測定した。肝を 9 倍量の 0.154 M KCl で homogenize し, 2°C にて 10 分間遠沈, ついで 2°C にて 18,000 $\times$ g, 90 分間遠心分離を行ない, その上清を試料とした。UDPG 0.1 μ moles, NAD 0.5 μ moles, glycine buffer (pH 8.7) 75 μ moles に試料 0.05 ml を加え, total volume 1.0 ml にて測定した。単位は Δ O. D./5mg liver/min. で表現してある。

3) glucuronyl transferase 活性の測定¹⁰⁾

グルクロナイド抱合による *p*-ニトロフェノールの減少を 400 m μ の吸光度から測定した。肝を 4 倍量の 0.154 M KCl で homogenize し, 2°C にて 2,000 $\times$ g, 10 分間遠沈し, その上清を 18,000 $\times$ g, 90 分間 2°C にて遠心分離を行ない, ミクロゾームをとり, 0.154 M KCl でもとの量とする。p-nitrophenol 0.102 μ moles, UDPGA 0.1 μ moles, phosphate buffer (pH 7.3) 30 μ moles (volume 0.3 ml) に試料 0.3 ml (60 mg wet liver wt. に相当する) を加え, 37°C 30 分間 incubate した後, 0.1 N TCA 2.4 ml を加え, 遠沈後上清を 10 N KOH 0.06 ml に加え, 400 m μ で吸光度を測定した。単位は Δ O. D./60 mg wet liver wt./min. で表現してある。

4) 過酸化脂質の測定¹¹⁾

過酸化脂質から生じる マロンアルデヒドと 2-チオバルビツール酸 (TBA) との反応生成物を 530 m μ の吸光度により測定した。肝を 2 倍量の蒸留水で homogenize し, 10 分間静置後, 10% TCA 2 ml (肝 1 g につき) を加え遠沈した。上清 4 ml をとり, 0.75% TBA 1.25 ml を加え, 正確に 10 分間 100°C にて煮沸し, 冷却後 530 m μ の吸光度を測定した。単位は O. D./g·liver で表現してある。

5) クロラムフェニコール (C. P) の測定

肝スライス約 160 mg をグルコースおよび C. P 12.5 γ /ml または 25 γ /ml を含む Krebs-Ringer-phosphate buffer (pH 7.4) 6 ml にとり, 37°C 60 分間 incubate し, 2 分間煮沸後メジウム中の C. P の活性を測定した。肝ミクロゾームの場合は薬物代謝酵素活性測定のためのメジウムに G-6-P dehydrogenase を加え, ペントバルビタールのかわりに C. P を加えたものを使用して測定した。

C. P の測定は溶連菌 cook 株を用い, M. I. 寒天培地, pH 7.2, 鳥居氏重層法により生物学的活性を測定した¹²⁾。

6) たんぱくは Lowry 法¹³⁾により測定した。

7) フェニールブタゾンの定量

Burns 法¹⁰⁾により測定した。血清 2 ml を 60 ml 共栓試験管にとり、3 N HCl 0.5 ml と *n*-ヘプタン 20 ml を加え 30 分間振盪し遠沈した。上清 15 ml を、2.5 N NaOH 5 ml を入れた 60 ml 共栓試験管にうつし、5 分間振盪後遠沈した。アルカリ層をとり、Beckman 型 Spectrophotometer にて 265 m μ の吸光度を 2 ml の蒸留水で同様の処置したものを blank として測定し、あらかじめ作成したフェニールブタゾンの基準曲線から濃度を求め、単位は mg/dl で表現した。

III. 実験成績

1. 経口抗糖尿病剤の薬物代謝酵素に及ぼす影響

トルブタマイド投与後のペントバルビタールによる睡眠時間は対照群 59 $\pm$ 5 分に対して 100 mg/kg 連続 5 日投与群では 48 $\pm$ 7 分、300 mg/kg 連続 5 日投与群では 33 $\pm$ 7 分と明らかな短縮が認められた (図 1)。肝の薬物代謝酵素活性は対照群 0.45 $\pm$ 0.03 μ moles/g·liver/30 min. であるのに対して、100 mg/kg 投与群 0.55 $\pm$ 0.05, 300 mg/kg 投与群 0.68 $\pm$ 0.08 とそれぞれ 22%, 51% の活性の増加を認め (図 2)、これらは有意の差であった ($p<0.05$)。300 mg/kg 投与群の肝重量/体重は対照群と比較して 5.3% の増加を示し、肝たんばくおよび 9,000 g 上清たんばくもやや増加の傾向を示した (表 2)。

トルブタマイド 500 mg/kg 1 回経口投与後 12 時間、

24 時間の薬物代謝酵素活性は対照群 0.46 $\pm$ 0.04 μ moles/g·liver/30 min. に対して、それぞれ 0.60 $\pm$ 0.05(+23%), 0.68 $\pm$ 0.07(+48%) と有意の差を認めた ($p<0.05$) (図 3)。

ジメチルビグアナイド 100 mg/kg および 300 mg/kg 連続 5 日経口投与群では睡眠時間は対照 57 $\pm$ 5 分に対して、それぞれ 59 $\pm$ 8 分、61 $\pm$ 10 分、薬物代謝酵素活性は対照群 0.52 $\pm$ 0.05 μ moles/g·liver/30 min, 投与群ではそれぞれ 0.50 $\pm$ 0.07, 0.49 $\pm$ 0.05 で対照群と比較して差を認めなかった。

2. 下熱鎮痛剤の薬物代謝酵素に及ぼす影響

アミノピリン 100 mg/kg 1 日ないし 3 日経口投与 24 時間後のペントバルビタールによる睡眠時間は、対照群平均 40 分に対して 1 日投与群 31 分、2 日投与群 28 分、3 日投与群 28 分と短縮を認めた (表 1)。肝の薬物代謝酵素活性は対照群 0.51 μ moles/g·liver/30 min. に対して投与群ではそれぞれ 0.62, 0.67, 0.76 と有意の増加を認めた ($p<0.05$) (表 1)。3 日投与群の肝重量/体重、肝たんばくおよび 9,000 g 上清たんばくは対照群と比較して増加の傾向を認めた (表 2)。

アスピリン 300 mg/kg およびフェナセチン 100 mg/kg 連続 3 日投与群の薬物代謝酵素活性は、それぞれ 0.43, 0.45 であり、対照群 0.48 μ moles/g·liver/30 min と比較して有意の変化は認められなかった。

図 1.

Pentobarbital による睡眠時間に対する tolbutamide の影響
(雄シロネズミ: tolbut., 連続 5 日経口投与)

図 2.

Tolbutamide 投与による肝ミクロゾーム薬物代謝酵素活性の変動
(雄シロネズミ: 連続 5 日経口投与)

図 3.

Tolbutamide 投与による薬物代謝酵素活性の変動
(幼若雄シロネズミ: 500 mg/kg 1 回投与)

表 1. Aminopyrine 前処置シロネズミにおける pentobarbital 睡眠時間と肝ミクロゾームにおける pentobarbital の代謝

前 処 置	用 量 mg/kg	睡眠時間 (分)	Pentobarbital $\mu\text{moles/g}\cdot\text{liver}/30'$
Control	—	40 $\pm$ 5(12)	0.51 $\pm$ 0.08(10)
Aminopyrine	100 $\times$ 1回	31 $\pm$ 6(8)	0.62 $\pm$ 0.10(7)
Aminopyrine	100 $\times$ 2回	28 $\pm$ 5(8)	0.67 $\pm$ 0.12(7)
Aminopyrine	100 $\times$ 3回	28 $\pm$ 10(10)	0.76 $\pm$ 0.10(8)

数値は平均値 $\pm$ 標準偏差を表わし、()内はシロネズミの数を表わす。以下の表も同様。

表 2. Aminopyrine および tolbutamide 投与後の肝重量/体重、たんぱく量(シロネズミ)

	肝重量/体重 (%)	肝たんぱく (mg/g・肝)	9000 $\times$ g 上清 たんぱく (mg/g)
Control	3.8 $\pm$ 0.4 (8)	189 $\pm$ 15 (8)	90 $\pm$ 12 (8)
Aminopyrine (100 mg/kg・ 3日投与)	4.0 $\pm$ 0.4 (7)	213 $\pm$ 14 (7)	104 $\pm$ 16 (7)
Tolbutamide (300 mg/kg・ 5日投与)	4.0 $\pm$ 0.5 (8)	203 $\pm$ 17 (8)	106 $\pm$ 12 (8)

3. クロラムフェニコールの薬物代謝酵素に及ぼす影響

クロラムフェニコール 100 mg/kg 筋注射後の薬物代謝酵素活性は対照群と比較して、注射後1時間および4時間では活性の著しい低下を認め、16時間後に対照群のレベルに回復し、24時間および48時間には活性の増加を認めた(図4)。

図 4.

Chloramphenicol 前処置による肝ミクロゾームの pentobarbital の代謝の変化

薬物代謝酵素の incubation system にクロラムフェニコール 50 γ /ml を加えた場合には対照群と比較して、薬物代謝酵素の活性は 31% の減少を認めた(図5)。

つぎにクロラムフェニコールの代謝について検討した成績では、シロネズミにフェノバルビタール 50 mg/kg を腹腔内に注射し、24 時間後の肝ミクロゾームにおけるクロラムフェニコールの代謝量を測定した。対照群の代謝量は 10% 以下であつたが、フェノバルビタール前処置群では著しい代謝量の増加が認められた(図6)。肝スライスをを用いた場合にも、クロラムフェニコールの不活性化率はフェノバルビタール前処置群で増加しているのが認められた(図7)。

4. アロキサン糖尿病シロネズミの薬物代謝酵素活性

表3に示すようにアロキサン糖尿病シロネズミは対照群と比較して睡眠時間の延長と薬物代謝酵素活性の低下の傾向を認めたが、有意の差ではなかつた。アロキサン糖尿病シロネズミにトルブタミドの投与を行なうと、

表 3. アロキサン糖尿病シロネズミにおける pentobarbital による睡眠時間と肝ミクロゾームの薬物代謝酵素活性

	睡眠時間(分)	Pentobarbital $\mu\text{mole/g}\cdot\text{liver}/30'$
Control	72 $\pm$ 6(8)	0.54 $\pm$ 0.07(8)
アロキサン糖尿病	90 $\pm$ 22(6)	0.50 $\pm$ 0.12(8)
アロキサン糖尿病 Tolbutamide 500 mg/kg 投与	57 $\pm$ 13(7)	0.73 $\pm$ 0.10(8)
アロキサン糖尿病 Insulin 2U 注射	—	0.51 $\pm$ 0.08(5)

図 5.

肝ミクロゾームにおける pentobarbital の代謝におよぼす chloramphenicol の影響

図 6.

シロネズミ肝薬物代謝酵素による chloramphenicol の不活性化

図 7.

シロネズミ肝スライスにおける chloramphenicol の不活性化率

図 8.

シロネズミ肝 UDPG dehydrogenase 活性におよぼす phenobarbital, tolbutamide, CCl₄ の影響

図 9.

シロネズミ肝 glucuronyl transferase 活性におよぼす phenobarbital, CCl₄ の影響

正常シロネズミの場合と同様に、睡眠時間の短縮（対照 72 分に対して 57 分）と薬物代謝酵素活性の上昇（対照 0.54 μ moles/g·liver/30 min. に対して 0.73）が認められた。regular insulin 2 単位の皮下注射後 2 時間では薬物代謝酵素活性に変化が認められなかった。

5. 肝障害シロネズミの薬物代謝酵素活性

四塩化炭素注射 24 時間後には睡眠時間は著しい延長（+81%）を示し、肝の薬物代謝酵素活性の低下（-70%）が認められた（表 4）。同時に測定した血清 GOT は 430 以上、GPT は 150 以上であり、組織所見では広汎な肝細胞の変性、壊死を認めた。また肝スライスに

表 4. CCl₄ 障害、閉塞性黄疸 シロネズミにおける pentobarbital による睡眠時間と肝ミクロゾームの薬物代謝酵素活性

	処置後	睡眠時間 (分)	Pentobarbital μ moles/g·liver/30'
Control	—	72 $\pm$ 6(8)	0.54 $\pm$ 0.07 (8)
CCl ₄ 障害	24時間	130 $\pm$ 25(6)	0.16 $\pm$ 0.03 (6)
閉塞性黄疸	48時間	—	0.36 $\pm$ 0.05 (5)
"	6 日	—	0.08 $\pm$ 0.03 (4)

におけるクロラムフェニコールの不活性化は正常の 20% であつた（図 7）。

閉塞性黄疸シロネズミの肝の薬物代謝酵素活性は総胆管結紮 48 時間後に 33% の低下が認められた（表 4）。このさいの血清 GOT, GPT は軽度の上昇を示した。総胆管結紮 6 日後には薬物代謝酵素活性は著しい低下が認められ、血清 GOT, GPT はそれぞれ 520, 210 以上

を示し、組織所見では胆管の増生と軽度の細胞浸潤を認めた。

6. UDPG dehydrogenase および glucuronyl transferase 活性の変動

図 8 および図 9 に示すように両酵素活性はフェノバルビタール処置により、軽度上昇または不変であり、四塩化炭素障害により活性の低下を認めた。トルブタミド投与は UDPG dehydrogenase 活性に変化を与えなかった。

7. 薬物投与による過酸化脂質の変動

アミノピリンまたはトルブタミド投与 3 時間後には肝の過酸化脂質量は対照と比較して差は認められなかったが、18 時間後には対照 O. D. 530 m μ 0.105 に対してそれぞれ 0.128 (+22%), 0.126 (+20%), 24 時間後には対照 0.117 に対してそれぞれ 0.126 (+7.7%), 0.133 (+14%) と増加が認められた（表 5）。

表 5. 薬剤投与による肝の TBA 値の変動

薬 剤	O. D. 530 m μ		
	3 時間後	18 時間後	24 時間後
Control	0.108 $\pm$ 0.012 (8)	0.105 $\pm$ 0.010 (8)	0.117 $\pm$ 0.009 (8)
Aminopyrine	0.111 $\pm$ 0.010 (7)	0.128 $\pm$ 0.011 (8)	0.126 $\pm$ 0.010 (7)
Tolbutamide	0.112 $\pm$ 0.007 (7)	0.126 $\pm$ 0.008 (8)	0.133 $\pm$ 0.006 (7)

8. ヒトの血中フェニールブタゾンの半減期

臨床的に薬物代謝酵素の影響をみるために、薬物代謝

酵素によって代謝され、かつ血中停滞時間のながいフェニールブタゾンを用いて、正常者、糖尿病患者、肝および腎疾患患者における血中フェニールブタゾンの半減期を検討した。

特殊な薬剤を使用しているものはあらかじめ除外し糖尿病患者でトルブタミド使用者はフェニールブタゾンの投与にさいし、前日または当日よりトルブタミドの投与を中止し、薬剤の併用を行なわないようにした。フェニールブタゾンは早朝空腹時に 300 mg を経口投与し、

投与後 2, 4, 24, 48, 96 時間後に採血して血中フェニールブタゾンの濃度を測定した。

正常者 5 例の半減期の平均は 48 時間であり、糖尿病未治療患者 6 例の平均は 51 時間で正常群と有意の差は認められなかつた(表 6)。糖尿病患者でトルブタミドの 3 カ月ないし 3 年 8 カ月の使用者 8 例の平均は 35 時間と短縮が認められた(表 7)。トルブタミド投与群は正常群および糖尿病未治療群に対して有意の差で半減期の短縮を認めた ($p < 0.05$)。

表 6 血中 Phenylbutazone の半減期(症例)

正 常 群	半減期(時間)	MG	GOT	GPT	Al-P	TTT	ZST	BSP(%)
M. N. 21才 女	46	5	17	26	1.1	4	9	—
M. K. 35 男	34	3	38	17	2.4	2	8	—
T. T. 26 女	46	7	44	44	1.7	2	4	—
E. M. 36 女	52	4	12	5	2.2	5	12	0
S. I. 44 男	60	5	20	13	1.7	1	6	—

糖尿病(未治療)	半減期(時間)	血糖 (Gl. 50g) 前 — 1' — 2'	MG	GOT	GPT	Al-P	TTT	ZST	BSP
T. M. 62才 男	72	116 249 172	3	9	5	2.6	2	8	7.5
K. S. 46 男	42	123 234 233	6	27	33	3.5	4	14	5
F. Y. 70 男	60	105 213 240	5	5	5	2.4	2	9	—
M. S. 62 女	70	184 294 248	7	16	13	1.7	5	11	2.5
Y. Y. 61 男	27	168 — —	6	12	11	2.0	2	3	—
M. T. 45 男	36	203 380 330	4	10	10	2.4	3	6	—

表 7.

糖 尿 病 (Tolbutamide 使用群)	使用量 g/日	期間	半減期 (時間)	MG	GOT	GPT	Al-P	TTT	ZST	BSP
Y. T. 62才 男	1.0~1.5	約 1 年 6 月	30	5	15	12	1.7	2	4	—
M. H. 57 男	1.5	1 年	32	3	23	21	1.4	3	1	0
H. K. 41 男	1.0	1 年 8 月	30	4	37	7	1.7	2	7	—
Y. H. 55 女	1.0~1.5	3 年 8 月	22	—	—	—	—	—	—	—
K. F. 55 男	1.0	3 年 4 月	50	4	13	13	2.0	1	5	—
M. M. 66 男	1.5	3 年	36	5	17	8	1.4	—	—	—
S. E. 62 男	1.5	3 月	24	4	12	5	1.4	4	10	—
T. R. 36 男	1.0~1.5	2 年	54	4	26	24	2.8	3	9	—

肝 疾 患	診 断	半減期(時間)	MG	GOT	GPT	Al-P	TTT	ZST	BSP
H. S. 40才 男	慢性肝炎	36	6	126	146	2.3	9	16	7.5
M. K. 37 男	慢性肝炎	58	3	67	28	3.0	2	10	7.5
S. I. 40 男	肝硬変症	48	6	43	22	2.1	7	17	12.5
M. S. 62 女	肝硬変症	108	10	49	21	2.7	10	24	27.5

表 8.

腎 疾 患	診 断	半減期(時間)	肝機能	PSP(%) 15' 2'	Fishberg max. Uosm/l	GFR	RPF	FF
R. N. 60才 男	糖尿病性腎症	30	正 常	5 30	429	52	292	0.18
T. T. 48 男	慢 性 腎 炎	46	正 常	5 20	367	25	130	0.19

慢性肝炎および肝硬変患者で肝障害の軽度のものは半減期に変化は認められなかつた(表7). やや進行した肝硬変症1例に半減期の延長が認められた. 肝機能に異常を認めない腎不全2例は半減期に変化を認めなかつた(表8).

IV. 考 察

Remmer¹⁵⁾はイヌにトルブタミドを投与するとヘキシバルビタールの血中からの消失がすみやかにおこることを認め, また Seltzer¹⁶⁾はトルブタミド投与イヌがバルビタール麻酔に著しい抵抗性を示すことを報告している. トルブタミドの生体内の代謝は動物により異なっており, ヒトやシロネズミでは最初にトルブタミドのメチル基がカルボン酸に酸化されるといわれる^{17, 18)}(図10). このような代謝過程からするとヒトにおいてはトルブタミドの代謝に薬物代謝酵素の関与する可能性が考えられ, 一方臨床的にみられるトルブタミドの二次無効の一因として, このようなトルブタミド投与による薬物代謝酵素活性の増加, したがってトルブタミドがすみやかに代謝されるための作用時間の短縮も考慮されよう.

シロネズミにトルブタミドを投与すると図1および図2に示すようにペントバルビタールによる睡眠時間の短縮と肝ミクロゾームにおける薬物代謝酵素によるベン

トバルビタールの代謝の促進が認められ, また薬物代謝酵素活性の亢進に一致して肝重量/体重の増加および肝たんぱくあるいは9,000g上清たんぱくの軽度の増加が認められた(表2). この成績はトルブタミドの投与により薬物代謝酵素の活性上昇, おそらくは基質誘導による酵素たんぱくの増加がおこっていることを示すものであろう. しかしこれが薬物代謝酵素系のみを特異的に誘導したものであるのか, あるいはもつと一般的に肝, とくにミクロゾームのたんぱく合成を促進したものであるのかはなお検討を要する問題であらう. Orrenius¹⁹⁾はフェノバルビタールの投与によつて肝ミクロゾームのNADPH₂-cytochrome c reductase 活性の上昇, ATPase および G-6-Pase 活性の軽度の低下などを報告しているが, Remmer²⁰⁾はフェノバルビタールによりCO-cytochrome の増加, G-6-Pase 活性の軽度上昇を報告している. 著者はトルブタミド投与後15時間, 26時間のG-6-Pase 活性を測定し, 活性の低下を認めた. これはトルブタミドにより分泌されたインスリンの作用を介するものとも考えられるが, 肝ミクロゾームに局在するG-6-Pase 活性の上昇がみられなかつたことはミクロゾームのすべての酵素たんぱくの合成を促進しているものではないことを示唆している. また薬物代謝酵素活性の上昇が in vivo では hexose monophosphate pathway の促進によるNADPH₂ の増加に基因し

図 10. Tolbutamide の代謝

ていることも考えられるが、トルブタミドによりこの経路の key enzyme である G-6-PDH 活性はほとんど変化しなかつたことにより、この点は否定できると思われる。

トルブタミドに代表されるスルファニール尿素剤とともに広く経口抗糖尿病剤として用いられているビグアナイド剤では実験成績でのべたように、その連続投与により肝ミクロゾームのペントバルビタールの代謝は変化をうけず、睡眠時間にも変化は認められていない。この成績からビグアナイド剤は薬物代謝酵素の基質ではないことを、あるいは基質誘導をおこさないことを示すものといえよう。

つぎに薬剤としてしばしば用いられる数種の下熱鎮痛剤について検討したが、表 1 に示したようにアミノピリンは 1 回ないし連続投与により、トルブタミドと同様にペントバルビタールによる睡眠時間を短縮させ、また肝の薬物代謝を促進させた。一方アスピリン、フェナセチンはビグアナイド剤と同様になら薬物代謝に影響を与えなかつた。このように薬物の投与により薬物代謝酵素の活性増加をきたすものとまったく変化を与えないものがあり、前者に属する薬物の代謝にはそれらの化学構造式は互に相当異なっているにもかかわらず、少なくとも部分的には共通した酵素系、すなわち薬物代謝酵素が働くものであることが考えられる。

抗生物質クロラムフェニコールの場合もトルブタミドやアミノピリンと同様に肝ミクロゾームにおけるペントバルビタールの代謝の促進が認められたが、この場合こまかく時間を追つてその変化を追求すると、薬物代謝酵素活性は二相性に变化し、投与後 1 時間ないし 4 時間には顕著な抑制を認め、活性の増加は 24 時間以降にみられた (図 4)。すなわちクロラムフェニコールにより薬物代謝酵素活性は初期には抑制され、後期には誘導されている。これはクロラムフェニコールが初期にはペントバルビタールと競合的に働き、後に誘導をおこすことも考えられ、図 5 に示すように *in vitro* にクロラムフェニコールを加えた場合にはペントバルビタールの代謝は明らかに抑制されているが、Dixon ら²¹⁾の成績によれば、クロラムフェニコールによる阻害は non-competitive なものであるとされており、初期にみられる阻害と後に認められる誘導との関連は明らかでない。

クロラムフェニコールの代謝をフェノバルビタール処置シロネズミでみると、無処置シロネズミに比較して、肝ミクロゾームの薬物代謝酵素によるクロラムフェニコ

ールの不活化も肝スライスでの不活化もともに促進がみられ (図 6, 7), またグルクロナイド抱合に関係ある glucuronyl transferase, UDPG dehydrogenase の酵素活性も平常または軽度上昇が認められた (図 8, 9)。したがってフェノバルビタール処置後のクロラムフェニコールの代謝にはグルクロナイド抱合とともに薬物代謝酵素が関与しているものと考えられる。

ヒトにおいてもいろいろな薬剤により薬物代謝酵素活性が亢進することが認められており、Chen ら²²⁾はフェニールブタゾンを使用したヒトではアミノピリンの代謝が促進していることを認め、Remmer ら²³⁾はドリデンなどの睡眠薬を多量に服用したヒトではノバルギン注射後の尿中アミノアンチピリンの排泄が促進していることを報告している。逆に多量の薬物使用後、薬物代謝が抑制されたとの報告もみられる²⁴⁾。

ヒトにおけるトルブタミドの代謝はシロネズミと同じであると考えられており (図 10), また実験成績でのべたようにアロキサン糖尿病シロネズミにトルブタミドを投与すると、薬物代謝酵素活性を亢進させることを認めたので、当然ヒトにおいてもトルブタミドの薬物代謝酵素への影響が考えられる。そこで著者は糖尿病患者についてトルブタミドの長期連用者と未使用者にフェニールブタゾンを投与し、その血中濃度の半減期を測定した。未使用者では正常者と比較して変化はみられないが、トルブタミド使用者では血中フェニールブタゾンの半減期が短縮していることを認めた (表 6, 7)。

以上の結果から、トルブタミドのように長期間服用しなければならない薬物の投与によつて、薬物代謝酵素の活性が変動し、他の薬物の作用時間の変動をきたすことは日常臨床において各種薬剤を併用する機会の多い今日、十分考慮しなければならない点であると考えられ、予期以上に他の薬物の代謝が促進されてその効果がえられない場合も生じうるし、逆に両剤の競合によつて著しく体内に薬物の蓄積をきたし、生体に悪影響を生じうることも考えられる。さらにパラチオンのように本酵素による代謝産物であるパラオクソンがより毒性を示すことがあり、薬物代謝酵素による代謝がかならずしも解毒を意味しないことは注意すべき点であると思われる。

糖尿病患者におけるトルブタミドによる二次無効は臨床上一しばしば経験されることであるが、その一因として薬物代謝酵素活性の亢進により、投与された薬物の生体内での半減期の短縮が効果の減退を結果するかもしれない。二次無効例のほとんど経験されないビグアナイド

剤が本酵素による代謝をうけず、したがって本酵素活性を亢進させないことは、逆にトルブタミドの二次無効とトルブタミドによる薬物代謝酵素活性の亢進との関連を間接的に支持するものと考えられる。

薬物代謝酵素系は NADPH_2 を介して肝ミクロゾームの電子伝達系に関係するものであり、Orrenius ら²⁴⁾ は *in vitro* で肝ミクロゾームにおける過酸化脂質の生成がアミノピリンの添加により抑制されることを報告し、両者の反応に共通の酵素 (NADPH_2 -oxidizing enzyme または Horecker²⁵⁾ のいう NADPH_2 -cytochrome c reductase) に競合して作用すると考えている。著者はアミノピリンまたはトルブタミド投与後の肝の過酸化脂質を検討したところ、薬物投与3時間後には肝の過酸化脂質の量には変化はないが、薬物代謝酵素活性の上昇がみられる18時間および24時間後には過酸化脂質の増加を認めた(表5)。過酸化脂質の測定は過酸化脂質から生じるマロンアルデヒドと2-チオバルビツール酸との反応により測定するため、かならずしも過酸化脂質に特異的なものではないが、測定に影響すると思われる肝組織のグルコースなどは対照との間にとくに差を認めなかった。

過酸化脂質の増加が薬物代謝酵素活性の亢進と一致してみられることから、この増加は薬物の投与により先にのべた酵素、すなわち NADPH_2 -oxidizing enzyme が誘導され、しかも競合すべき薬物の濃度が低下した状態では過酸化脂質の生成が促進されたためと考えられる(下図)。 RCH_3 は薬物、Fp はフラボプロテインをあらわす。

最近 Golberg²⁶⁾ は次のごとき推論を行なっている。少量の投与では酵素活性を高めるような薬剤も、多量に投与すると過酸化脂質の生成をひき起こし、細胞障害性に働く可能性があろう。また薬物代謝酵素活性の亢進している場合には、シロネズミでアスコルビン酸の生成も亢進しているとの報告もあり²⁷⁾、アスコルビン酸にも過酸化脂質を生成する作用が認められている²⁸⁾ことから過酸化脂質の増加の原因を簡単には決定することはできな

いが、一方では同じような代謝をうける他の薬物の作用時間に影響を与えるのみではなく、他方このような物質を増加させ、細胞障害性に働く可能性のあることは注目すべき所見と考えられる。

薬物の代謝には腎からの排泄とともに肝での不活性化が重要であり、したがって肝障害時における薬物代謝は臨床的にも重要な意味をもつことになる。四塩化炭素肝障害シロネズミでは薬物代謝酵素活性の著しい低下が認められた(表4)。薬物代謝酵素によるクロラムフェニコールの不活性化は正常肝では低く、四塩化炭素障害肝ではほとんど認められない(図6)。また肝スライスにおけるクロラムフェニコールの不活性化も四塩化炭素により著しい低下が認められ(図7)、UDPG dehydrogenase, glucuronyl transferase 活性の低下(図8, 9)も認めたことから、肝障害時には薬物代謝酵素活性の著しい低下とともにグルクロナイド抱合能も低下していることが考えられる。

四塩化炭素肝障害シロネズミにおいては四塩化炭素投与一時間後にすでに薬物代謝の抑制が認められており²⁹⁾、またミトコンドリアの酸化的リン酸化は正常に保たれていてもアミノピリンの代謝が抑制されていることが報告されている³⁰⁾。このことは小胞体の障害のみで薬物代謝に異常をきたすと考えられ、著者の成績(表4)にみるごとく総胆管結紮後48時間でかなりの程度薬物代謝の障害をみたことは、McLuen ら³¹⁾ ののべているように閉塞によるデオキシコール酸の蓄積がミクロゾームの機能に抑制的に働くことが関係することも十分に考えられる。

ヒトの肝障害時の薬物代謝について血中フェニールブタゾンの半減期について検討した成績では、肝硬変患者1例に半減期の延長を認めたが、肝障害の比較的軽度である3例は正常と比較して有意の変化を認めなかった。Kunin ら³²⁾ は肝硬変症12例のクロラムフェニコールの半減期を測定し、血中総ビリルビンの上昇していた10例のうち3例のみに半減期の著しい延長を認めたと報告しており、著者の例でも軽度の肝障害では薬物代謝酵素活性の低下は認められなかった(表7)。このことは軽度の肝障害ではかならずしも薬物代謝酵素活性が低下していないことを示している。

腎不全例で血中フェニールブタゾンの半減期をみたが、正常者と差はなかった(表8)。腎は代謝産物の排泄については当然関係するわけであるが、腎障害では薬物代謝酵素活性に変動をおこしているとはいえない。

V. 結 論

経口抗糖尿病剤など日常臨床に用いられているいくつかの薬物を投与したさいの肝の薬物代謝酵素活性の変動をしらべ、次の結論をえた。

1) シロネズミにトルブタミドを投与すると、肝ミクロゾームの薬物代謝酵素活性の上昇を認めたが、ジメチルビグアナイドの投与では本酵素活性に変化を認めなかつた。

ヒトにおけるトルブタミド長期服用者でも、フェニールブタゾンの血中濃度の半減期の短縮を認め、これもやはり本酵素活性の上昇によると考えられる。

薬物代謝酵素活性の上昇は薬物の代謝を促進し、その作用時間を短縮させると考えられ、トルブタミドの二次無効の発現にこの因子の関与する可能性がある。

2) アミノピリンの投与はトルブタミドの場合と同様に、薬物代謝酵素活性の上昇を示し、クロラムフェニコールの投与は初期には本酵素活性の抑制、その後には上昇を認めた。したがってこれら薬物の使用は他の薬物の代謝にも影響をおよぼす点を十分考慮する必要がある。

3) アミノピリンないしトルブタミドの投与による薬物代謝酵素活性の上昇と一致して、肝の過酸化脂質の増加を認めたが、この物質は細胞障害性に働く可能性が考えられる。

4) 四塩化炭素肝障害および閉塞性黄疸シロネズミは薬物代謝酵素活性の著しい低下を認めたが、軽度の肝障害患者および腎不全患者における血中フェニールブタゾンの半減期は正常者と差を認めなかつた。

以上のことから薬物代謝酵素活性の上昇をきたす薬物の使用は薬物の作用時間の短縮とそれによる効果の減退などをもたらすことを十分考慮する必要があるとともに、過酸化脂質の増加が細胞障害性に働く可能性も考慮すべき点と考えられる。

吉利和教授のご懇篤なるご指導ならびにご校閲を深く感謝するとともに、直接ご指導を賜つた織田敏次助教授、岡 博博士、兼子俊男博士、また全面的なご援助を

いただいた清水喜八郎博士、大青俊明博士、久米章司博士をはじめ教室の方々に深く感謝する。また種々ご教示をいただいた国立衛生試験所薬理部加藤隆一博士に深く感謝する。

文 献

- 1) Quinn, G. P., Axelrod, J. & Brodie, B. B.: *Biochem. Pharmacol.*, 1: 152, 1958.
- 2) Remmer, R.: *Naturwiss.*, 45: 189, 1958.
- 3) Conney, A. H., Gillette, J. R., Inscoc, J. K., Trams, E. R. & Posner, H. S.: *Science*, 130: 1478, 1959.
- 4) Kato, R. & Chiesara, E.: *Brit. J. Pharmacol.*, 18: 29, 1962.
- 5) Remmer, H.: *Arch. exptl. Pathol. Pharmacol.*, 237: 296, 1959.
- 6) Conney, A. H., Davison, C., Gastel, R. & Burns, J. J.: *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, 130: 1, 1960.
- 7) Kato, R., Chiesara, E. & Vassanelli, P.: *Biochem. Pharmacol.*, 11: 913, 1962.
- 8) Serrone, D. M. & Fujimoto, J. M.: *Biochem. Pharmacol.*, 11: 609, 1962.
- 9) 加藤隆一: 蛋白質核酸酵素, 10 (9): 848, 1965.
- 10) Hollmann, S. & Touster, O.: *Biochem. Biophys. Acta.*, 26: 338, 1962.
- 11) Zalkin, H. & Tappel, A. L.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 88: 113, 1960.
- 12) 羽里彦左衛門, 鳥井敏雄: 医学検査法, 17: 158, 1950.
- 13) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J.: *J. Biol. Chem.*, 193: 265, 1951.
- 14) Burns, J. J., Rose, R. K., Chenkin, T., Goldman, A., Schulert, A. & Brodie, B. B.: *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, 109: 346, 1953.
- 15) Remmer, H., Siegert, M. & Merker, H. J.: *Arch. exp. Path. Pharmacol.*, 249: 71, 1964.
- 16) Seltzer, H. S., Allen, E. W. & Brennan, M. T.: *Diabetes*, 14: 392, 1965.
- 17) Mohnike, G., Wittenhagen, G. & Langebeck, W.: *Naturwiss.*, 45: 13, 1958.
- 18) Louis, L. H., Fajans, S. S., Conn, J. W., Struck, W. A., Wright, J. B. & Johnson, J. L.: *J. Am. Chem. Soc.*, 78: 5701, 1959.
- 19) Orrenius, S. & Ernster, L.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 16: 60, 1964.
- 20) Remmer, H.: *Proceedings of the European society for the study of drug toxicity*, 4: 57, 1964.
- 21) Dixon, R. L. & Fouts, J. R.: *Biochem. Pharmacol.*, 11: 715, 1962.
- 22) Chen, W., Vrindten, P. A., Dayton, P. G. & Burns, J. J.: *Life science*, 2: 35, 1962.
- 23)

- * * * * *
- * * * * *