薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
113 (11) 825-828 (1993)

ヒト尿由来 Kallidinogenase (SK-827) の薬理学的研究: 脳代謝改善作用

長野 弘,^a 鈴木常正,^a 友栗徹士,^b 林 元英,^{*,a} 鶴見介登^c
(株) 三和化学研究所 三重研究所,^a 熊本研究所,^b
岐阜大学医学部^c

Pharmacological Studies on Human Urinary Kallidinogenase (SK-827): Effects on Cerebral Metabolism

Hiroshi NAGANO,^a Tsunemasa SUZUKI,^a Tetsushi TOMOGURI,^b
Motohide HAYASHI^{*,a} and Kaito TSURUMI^c

Mie Research Laboratory, Sanwa Kagaku Kenkyusho Co., Ltd.,^a 363
Shiozaki, Hokusei-cho, Inabe-gun, Mie 511-04, Japan, Kumamoto
Research Laboratory, Sanwa Kagaku Kenkyusho Co., Ltd.,^b 990
Nishikuroiwa, Ohtao, Misumi-cho, Uto-gun, Kumamoto 869-32,
Japan and Department of Pharmacology, Gifu University School
of Medicine,^c 40 Tsukasa-cho, Gifu 500, Japan

(Received June 29, 1993)

We investigated the effects of human urinary kallidinogenase (SK-827) on cerebral metabolism in normal and infarcted rabbits. SK-827 did not influence cerebral glucose and oxygen uptake in normal rabbits. In infarcted rabbits, cerebral glucose and oxygen uptake significantly decreased. SK-827 tended to inhibit the decrease of cerebral blood flow, and significantly inhibited the decrease of cerebral glucose and oxygen uptake in infarcted rabbits. Thus, SK-827 improved cerebral glucose metabolism in infarcted rabbits.

Keyword—human urinary kallidinogenase (SK-827); cerebral metabolism; cerebral blood flow; infarcted rabbit

緒 言

我々は先に、ヒト尿由来 kallidinogenase (SK-827) の脳機能障害に対する作用について検討した結果、SK-827 が脳梗塞や hypoxia などの各種病態における脳機能障害の進展に、明らかな改善作用を示すことを見い出すと共に、¹⁾ 末梢循環障害に対しても作用を示すことを報告してきた。また、SK-827 は kinin 遊離を介して、組織の血流調節に働くだけでなく、glucose 利用を高めることにより、組織における物質代謝に対しても調節機能を発揮することを明らかにした。²⁾ これらのことから、既に確認されている脳機能障害の改善にも、末梢におけると同様に、血流改善だけでなく、代謝活動に対しても影響を与えている可能性が強く示唆された。そこで今回、正常時及び脳梗塞時における脳代謝機能への SK-827 の影響についてウサギを用いて検討した。

実 験 の 部

1. 実験動物 雄性 albino New-Zealand ウサギ (井上実験動物由来) を使用した。室温 23±2°C, 湿度 55±10% の飼育室で、餌 (CR-3, 日本クレア) 及び水道水を自由に与え、1 週間以上飼育した後、実験に使用した。

2. 使用薬物及び投与方法 SK-827 (2.5 PNA U/ml, 日本ケミカルリサーチ (株) 由来) は、

0.05 M リン酸緩衝液 (加生理食塩水, pH 7.0) にて希釈調製した. 薬物は 0.11 ml/min の速度にて 30 分間の持続静脈内投与を行った.

SK-827, 1 PNA U の定義は前報¹⁾に詳述した.

3. 実験方法 体重 3.0—3.8 kg のウサギ, 1 群 4—11 例を用いた. Pentobarbital sodium 25 mg/kg i.v. にて麻酔し, 背位に固定した. 気管カニューレを挿入後, pancuronium bromide 2 mg/kg i.v. により不動化し, 人工呼吸を施した. 次に頸部を切開し, 外頸動脈を介して逆行性に総頸動脈内に動脈血採取用カニューレを留置した. また, ソケイ部の切開を行い, 右大腿動脈及び右大腿静脈を露出し, 大腿動脈へ血圧測定用カニューレを, 大腿静脈へ還血用カニューレを留置した. さらに, ウサギを腹臥位にした後, 頭部を東大式脳定位固定装置に固定し, 頭蓋骨を冠状縫合と静脈洞交会間で 1 cm² ほど除去し上矢状洞を露出した. 上矢状洞の洞交会部位より約 10 mm 前方に小切開を加え, 同部位より内径 0.95 mm のポリエチレンカニューレを挿入し, 先端を冠状縫合の後部 12 mm の部位に固定した. カニューレの遊離端から流出滴下する血液は reservoir に受け, peristaltic pump を介して右大腿静脈へ還血した.

1) 脳血流量の測定: 上矢状洞流出血をポリエチレンチューブで受け, 30 秒間の流出血液重量を計測し, 血液比重 (1.060 g/ml) を乗じ, 流量 (ml/min) として評価した.

2) 脳内 Glucose 取り込み量の測定: 総頸動脈血及び上矢状洞流出血を各々 0.6 ml 採取し, 血漿分離後, glucose 濃度測定 (イアトロクロム, Glu-L_Q, 酵素法) を行い, 以下の算式にて glucose 量を求めた.

脳内 glucose 取り込み量 ($\mu\text{g}/\text{min}$)

= 動静脈血中 glucose 濃度較差 ($\mu\text{g}/\text{ml}$) $\times$ 脳血流量 (ml/min)

3) 脳内酸素取り込み量の測定: 脳内 glucose 量測定時と同様に総頸動脈血及び上矢状洞流出血を各々 0.2 ml 採取し, 全自動血液ガス分析装置 (ABL 30, ラジオメーター社) にて酸素濃度を測定し, 以下の算式にて酸素取り込み量を求めた.

脳内酸素取り込み量 ($\mu\text{l}/\text{min}$)

= 動静脈血中酸素濃度較差 ($\mu\text{l}/\text{ml}$) $\times$ 脳血流量 (ml/min)

(1) 正常ウサギにおける試験——SK-827 5.0×10^{-3} , 1.25×10^{-2} PNA U/kg を, 耳介辺縁静脈より 30 分間持続投与した. 脳血流量の測定は薬物投与前, 投与開始後 15 分及び投与終了直後に行い, その他の測定は薬物投与前及び投与終了直後に行った.

(2) 脳梗塞ウサギにおける試験——脳梗塞モデルの作成は前報³⁾に準じて, ガラスビーズ 10 mg/body の内頸動脈内注入により行った. 脳梗塞作成 5 分後に, SK-827 2.5×10^{-3} — 1.25×10^{-2} PNA U/kg を, 耳介辺縁静脈より 30 分間持続投与した. 脳血流量の測定は脳梗塞作成前, 薬物投与開始後 15 分及び投与終了直後に行い, その他の測定は脳梗塞作成前及び薬物投与終了直後に行った.

4. 統計学的処理 群間の有意差検定は Student の *t* 検定を用いて行った.

結 果 と 考 察

Hartl ら⁴⁾は, kinin-prostaglandin 系の生理学的重要性は hypoxia や破壊的炎症反応のような有害因子から組織を保護する防御因子としての働きにあるとしている. 我々も, SK-827 が末梢循環障害や脳機能障害に対し改善作用を示すことを明らかにした.^{1,2)} さらに, SK-827 が末梢組織における代謝に対しても調節機能を有することを確認した.²⁾ したがって, 脳組織においても, 末梢の場合と同様に代謝活動に対し影響を与える可能性が考えられたので, 正常時及び病態時における脳内 glucose 及び酸素利用に対する SK-827 の影響について調べた.

Fig. 1. Effects of Human Urinary Kallidinogenase (SK-827) on Cerebral Blood Flow in Normal and Infarcted Rabbits

a) $p < 0.01$ compared with normal control. Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 4—5 (normal), 7—11 (infarction).

□, control; ■, SK-827 2.5×10^{-8} PNA U/kg; ■, SK-827 5.0×10^{-8} PNA U/kg; ▨, SK-827 1.25×10^{-2} PNA U/kg.

まず、正常ウサギに対して、SK-827 5.0×10^{-8} , 1.25×10^{-2} PNA U/kg 投与は脳血流及び脳内 glucose 取り込み量には明らかな影響を与えないことが判明した (Fig. 1, 2). この結果から、イヌにおける成績と同様に、⁵⁾ ウサギにおいても SK-827 は正常動物の脳血流量には影響を与えないことが確認された。また、正常時の脳内酸素取り込み量に明らかな影響が見られなかったことから (Fig. 3), SK-827 は正常時の脳代謝にも影響を及ぼさないものと考えられた。

次に、SK-827 によって脳血流量や脳波活動の改善が確認されている我々の開発したガラスビーズの内頸動脈内注入による脳梗塞モデルについて試験した。Infarcted control 群の脳血流量はガラスビーズ注入 20 分においては 31% の低下傾向を、35 分においては 48% の有意な低下を示した (Fig. 1). また、脳内 glucose 取り込み量は 68% の低下傾向を示し (Fig. 2),

脳内酸素取り込み量も 72% の有意な低下を認めた (Fig. 3). 脳虚血時における脳代謝変化について、Djuricic ら⁶⁾はスナネズミの脳虚血モデルにおいて、神経症状を示す個体では酸化還元やエネルギー状態の障害を引き起こすと共に、hexokinase を除く解糖系のほとんどの酵素が活性を増すことを報告している。我々の成績においても、glucose 及び酸素の脳内取り込み量はいずれも著明

Fig. 2. Effects of Human Urinary Kallidinogenase (SK-827) on Cerebral Glucose Uptake in Normal and Infarcted Rabbits

a) $p < 0.05$, b) $p < 0.01$, c) $p < 0.001$, compared with the control. d) Not significantly different from normal control. Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 4—5 (normal), 4—7 (infarction).

□, control; ■, SK-827 2.5×10^{-8} PNA U/kg; ■, SK-827 5.0×10^{-8} PNA U/kg; ▨, SK-827 1.25×10^{-2} PNA U/kg.

Fig. 3. Effects of Human Urinary Kallidinogenase (SK-827) on Cerebral Oxygen Uptake in Normal and Infarcted Rabbits

a) $p < 0.01$, b) $p < 0.001$, compared with normal control. c) $p < 0.01$, compared with the control. Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 4—5 (normal), 7—11 (infarction).

□, control; ■, SK-827 2.5×10^{-8} PNA U/kg; ■, SK-827 5.0×10^{-8} PNA U/kg; ▨, SK-827 1.25×10^{-2} PNA U/kg.

に減少していることから、脳内のエネルギー産生は著しく低下していることが考えられた。このような脳梗塞モデルに対して、SK-827 投与群では、用量依存性は明らかでなかったものの、ガラスビーズ注入 20 分及び 35 分の脳血流量の低下を抑制する傾向を示した (Fig. 1)。さらに、SK-827 投与群における脳内 glucose 取り込み量は 2.5×10^{-8} , 5.0×10^{-8} PNA U/kg において、各々 34%, 17% の低下に留まり、 1.25×10^{-2} PNA U/kg では 9% の増加に転じ、いずれも infarcted control 群に対して有意な変化であった (Fig. 2)。また、SK-827 の 1.25×10^{-2} PNA U/kg 投与で脳内酸素取り込み量は 43% の低下に留まり、infarcted control 群に比し酸素取り込み量の低下を有意に抑制した (Fig. 3)。このように、SK-827 は脳梗塞モデルにおいて、脳内 glucose 及び酸素取り込み量の低下を改善することにより、glucose の好氣的代謝活動を亢進し、エネルギー産生を高めることが示唆された。

以上より、SK-827 は正常時の脳代謝には影響を認めなかったものの、脳梗塞時の脳内 glucose 利用の低下を抑制する働きを示し、脳機能障害改善作用¹⁾の一因となっていることが確認された。SK-827 が同様の脳梗塞モデルに対して脳血流を改善することは既に報告した。¹⁾ SK-827 の有する血管拡張作用は、kinin を介して発現し、二次因子として内皮細胞由来弛緩因子 (EDRF) の関与を確認した。⁷⁾ 組織が酸性を呈する虚血組織では、kinin 及び EDRF の半減期が長くなるため、より強く、より長く血管拡張作用を示し、血流量が増加することによって glucose 利用や酸素取り込みが改善したものと考えられる。しかしながら、今回得られた SK-827 投与による脳代謝改善作用が、Dietze ら⁸⁾の報告する骨格筋の場合と同じように、kinin 遊離を介するものかについては明らかではなく、今後の検討を要する。

引用文献

- 1) 長野 弘, 鈴木常正, 吉本信彦, 中村繁良, 友栗徹士, 古澤研一, 田上哲也, 林 元英, 薬誌, **113**, 803 (1993).
- 2) 鈴木常正, 長野 弘, 友栗徹士, 田上哲也, 林 元英, 応用薬理, **45**, 383 (1993).
- 3) H. Nagano, T. Suzuki, M. Hayashi, M. Asano, *Angiology*, **43**, 678 (1992).
- 4) W. H. Hartl, K. W. Jauch, R. R. Wolfe, F. W. Schildberg, *Horm. Metab. Res., Suppl.*, **22**, 79 (1990).
- 5) 渡邊義人, 山口忠志, 栗谷寿一, 黒野昌庸, 応用薬理, **45**, 445 (1993).
- 6) B. M. Djuricic, W. Paschen, H. J. Bosma, K. A. Hossmann, *J. Neuro. Sci.*, **58**, 25 (1983).
- 7) 鈴木常正, 友栗徹士, 林 元英, 応用薬理, **45**, 375 (1993).
- 8) G. Dietze, M. Wicklmayr, I. Böttger, R. Schiffmann, *Agents Actions*, **10**, 335 (1980).