実験的腎臓障害ラットにおける薬物の生体内運命¹⁾石塚泰博, 有吉敏彦
長崎大学薬学部²⁾Metabolic Fate of Drugs in Rats with Experimental Renal Damage¹⁾YASUHIRO ISHIZUKA and TOSHIHIKO ARIYOSHI
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagasaki University²⁾

(Received December 8, 1975)

Blood concentration, tissue distribution, and excretion of drugs and drug-metabolizing enzyme activities were examined using ¹⁴C-labeled compounds; 5,5-diphenylhydantoin (¹⁴C-DPH) and 2-guanidinomethyl-1-monoazacyclooctane sulfate (¹⁴C-EGYT-739) in male rats with a mercuric chloride-induced kidney injury. Carbon-14 radioactivity in blood of kidney-damaged rats was higher than that of the control, and the biological half-life of ¹⁴C-DPH in blood was prolonged by kidney injury. Considerably high level of radioactivity was found in the kidney 24 hr after dosing, and the prolongation of half-life was also observed in the damaged kidney of rats. Urinary and fecal excretion of ¹⁴C radioactivity were unchanged in kidney injury, whereas biliary excretion was significantly increased 6 to 24 hr after dosing of ¹⁴C-EGYT-739, and slightly increased after dosing of ¹⁴C-DPH.

A single administration of mercuric chloride reduced aminopyrine demethylase and aniline hydroxylase activities in the liver, but did not change cytochrome P-450 and b₅ content. However, addition of mercuric chloride at a final concentration of 9.97×10^{-5} M to the microsomal suspension resulted in a partial conversion of cytochrome P-450 to cytochrome P-420.

生体に摂取された医薬品をはじめとする種々の化学物質は、大部分より極性化され腎臓より排泄されるが、腎臓は他の臓器に比べ血流量も多く、化学物質や代謝物による障害の危険にさらされることが多い。

従来より種々の化学物質、化学療法剤に代表されるサルファ剤などが腎臓に対して毒作用を示すことが知られている³⁾が、近年医薬品の種類や使用量の増加に伴い増々腎臓に過重の負担がかかることが予想される。もしも腎臓が障害をうけたために血中の薬物濃度が著しく高くなるようなことになれば、腎臓は血流量も多いためにさらに負担がましました、意図せぬ副作用を惹起することも考えられる。医薬品の血中濃度を規定する因子としては、医薬品の吸収、分布、代謝、排泄等の要因が考えられるが、腎臓障害時におけるこれら因子の変動についての報告は少ない。

そこで実験的に腎臓障害をおこし、障害時における薬物の生体内運命および、肝臓の薬物代謝酵素活性の動態を検討した。

実験方法

1) 実験動物 動物は、体重 120—130 g の Wistar 系雄性ラットを使用した。腎臓障害動物は、塩化第二水銀 (水銀として 2.0 mg/kg) を生理食塩水にとかし皮下一回投与後 72 時間目の動物を実験に使用した。対照群には、生理食塩水を 2 ml/kg 投与した。

2) 放射性薬物の投与量および投与方法 ¹⁴C-Diphenylhydantoin (以後 ¹⁴C-DPH と略す) は、比放射能 5.21 mCi/m mole を第一化学から購入した。

¹⁴C-2-Guanidinomethyl-1-monoazacyclooctane sulfate (以後 ¹⁴C-EGYT-739 と略す) の比放射能は、6.52

1) 日本薬学会第 95 年会で発表, 西宮, 1975 年 4 月。

2) Location: 1-14, Bunkyo-machi, Nagasaki-shi.

3) 上田 泰, 斎藤 篤, 小林千鶴子, 内科, 31, 1151 (1973).

μCi/m mole で東洋醸造から寄贈をうけた。投与量は、50 μCi/50 mg/kg になるようにそれぞれ非放射性物質で希釈し腹腔内投与した。

3) 放射能の測定 液体シンチレーターは、1,4-dioxane 1000 ml, polyphenylene oxide (PPO) 7.0 g, 1-4-bis-2-(5-phenyloxazolyl) benzene (POPOP) 0.3 g, naphthalein 100 g の組成のもの (以後ジオキサンシンチレーターと略す) 10 ml を使用し、日本無線医理学研究所製 Liquid scintillation counter (LSC-601) で測定し、計数効率は外部標準線源法により求めた。

4) 血中濃度の測定 薬物投与後、経時的に尾静脈よりヘパリンナトリウム注射液 (1000 単位/ml) を処理したマイクロピペットで 20 μl ずつ採血した。血液は、バイアルに入れた直ちに 30% H₂O₂ 3 滴を加えて脱色後、1M hyamine 10 X (以後ハイアミンと略す) 0.5 ml を加え 50° で約 4 時間加温溶解し、必要に応じてさらに 30% H₂O₂ で脱色後、酢酸 3 滴および、ジオキサンシンチレーターを加え放射能を測定した。

5) 組織内濃度の測定 薬物投与後、経時的に屠殺し、脳、肝臓、腎臓、副腎、副睾丸脂肪、脊面脂肪を摘出した。血液の付着している臓器は、生理食塩水で洗った後、水分を除いた。副腎はそのまま副腎以外の臓器は、100 mg 前後を取りバイアルに入れハイアミン 1 ml を加え、50° で約 6 時間加温溶解後、30% H₂O₂ で脱色後、酢酸 3 滴および、ジオキサンシンチレーターを加え放射能を測定した。

6) 胆汁中濃度の測定 ペントバルビタール (40 mg/kg) 麻酔下、総胆管にポリエチレン管 (外径 0.8 mm) を挿入後結紮し、水、餌は自由に摂取できるよう固定台に固定した。手術 1 時間後に薬物を投与し、経時的に胆汁を採取した。採取した胆汁は、3000 rpm で 15 分間遠心分離し上清 50 μl をバイアルに取り、ジオキサンシンチレーターを加え放射能を測定した。

7) 尿および糞中濃度の測定 動物を一定期間糞尿分離型代謝ケージで飼育し、薬物投与後、経時的に尿および、糞を採取した。

尿は 3000 rpm で 15 分間遠心分離し、上清 20 μl をバイアルに入れ、ジオキサンシンチレーターを加え放射能を測定した。

糞は減圧乾燥後、10 倍量の水を加えてホモジナイズした後、一定量を取りハイアミン 1 ml を加え 50° で約 4 時間加温溶解し、30% H₂O₂ で脱色後、酢酸 3 滴およびジオキサンシンチレーターを加え放射能を測定した。

8) 血漿蛋白との結合率の測定 薬物投与後、血液は経時的にあらかじめヘパリンナトリウム注射液 (1000 単位/ml) を塗布した試験管に採血し遠心分離後血漿を得た。この血漿 1 ml を透析用チューブ (size 18/32) に入れ外液には 0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.4) 10 ml を加え、37° で 22—24 時間インキュベートし、平衡に達したことを確かめたのち、チューブ内液と外液との放射能の差から結合率を求めた。

In vitro での結合率は、外液に薬物を添加後、同様に実験し結合率を求めた。

9) 血漿蛋白量および尿中蛋白量の測定 血漿蛋白量は、Lowry 法⁴⁾ によりまた、尿中蛋白量は、Biuret 反応⁵⁾ により求めた。

10) 血清グルタミン酸-ピルビン酸-トランスアミナーゼ (GPT) および、血清グルタミン酸-オキザロ酢酸-トランスアミナーゼ (GOT) 活性の測定 GPT および GOT 活性は、市販キット (Reitman-Frankel 法) を使用して測定した。

11) 肝臓の薬物代謝酵素活性の測定 ラットを断頭瀉血後、開腹し氷冷した生理食塩水で肝灌流後、肝臓を摘出した。ミクロゾーム画分は、肝臓を 1 mm の ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) を含む 0.25M 蔗糖溶液 (pH 7.4) の 4 容量でホモジナイズしたのち既報⁶⁾ のごとく調整した。

ミクロゾーム蛋白量は、Lowry 法⁴⁾ により定量し、薬物代謝酵素の活性、肝臓構成成分の測定は既報⁶⁾ に従った。

チトクローム P-450 と b₅ は、Omura らの方法⁷⁾ により測定した。

アニリン (以後 AN と略す)、ヘキソバルビタールとチトクローム P-450 基質結合差スペクトルは、Schenkman らの方法⁸⁾ により測定した。

結 果

1) 体重変化

対照群の体重は直線的な増加を示したが、塩化第二水銀投与群 (以後処置群と略す) では、投与後体重の減少が認められ 3 日目ではほぼ 18 g 減少し、6 日目で水銀投与時の体重に回復した。

4) O.H. Lowry, N.J. Resebrough, A.L. Farr, R.J. Randall, *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951).

5) A.G. Gornall, C.J. Bardawill, M.M. David, *J. Biol. Chem.*, **177**, 751 (1949).

6) T. Ariyoshi, K. Ideguchi, Y. Ishizuka, K. Iwasaki, M. Arakaki, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **23**, 824 (1975).

7) T. Omura, R. Sato, *J. Biol. Chem.*, **239**, 2370 (1964).

8) J.B. Schenkman, H. Remmer, R.W. Estabrook, *Mol. Pharmacol.*, **3**, 113 (1967).

TABLE I. Effect of Mercuric Chloride on Protein Concentration in Plasma and Urine, and on GPT and GOT Activities in Serum

	Day after administration					
	Control			Mercuric chloride		
	1	2	3	1	2	3
Urine protein	0.25±0.05	0.23±0.08	0.17±0.02	0.38±0.06	0.39±0.17	0.36±0.04 ^{a)}
Plasma protein (g/dl)	—	—	5.94±0.05	—	—	6.07±0.04
GPT	—	—	53.8±3.4	—	—	55.2±2.2
GOT (Karmen unit)	—	—	201±11.3	—	—	196±7.6

Animals were received a subcutaneous administration of saline (2 ml/kg) or mercuric chloride (Hg: 2 mg/kg).

All values are mean ± S.E. of 4 to 10 rats.

a) significantly different ($p < 0.01$) from control

TABLE II. Effect of Mercuric Chloride on Liver and Kidney Weights and on the Drug Metabolizing Enzyme Activities and Cytochromes

	Control	Mercuric chloride
Body weight 1st day(g)	118±1	123±1
4th day(g)	130±2	137±1
Liver weight (g/100 g b.w.)	5.19±0.17	5.00±0.01
Kidney weight (g/100 g b.w.)	1.19±0.02	1.25±0.04
Microsomal protein (mg/g liver)	16.9±0.3	17.8±0.4
Enzyme activity (n moles/mg protein/min)		
Aniline hydroxylase	0.92±0.02	0.85±0.02 ^{a)}
Aminopyrine demethylase	8.68±0.28	7.64±0.27 ^{a)}
Cytochromes (n moles/mg protein)		
P-450	1.07±0.04	0.97±0.04
b_5	0.52±0.01	0.48±0.02
Spectral change		
P-450-Aniline ($E_{430-480}$ /mg protein) $\times 10^3$	16.2±1.2	16.2±0.7
P-450-Hexobarbital ($E_{420-480}$ /mg protein) $\times 10^3$	14.4±0.7	14.0±0.5

Animals were received a subcutaneous administration of saline (2 ml/kg) or mercuric chloride (Hg: 2 mg/kg), and sacrificed 72 hr after administration. All values are mean ± S.E. of 6 rats.

a) significantly different ($p < 0.05$) from control

2) 血漿蛋白量, 尿中蛋白量, 血清 GPT 及び GOT 活性

それぞれの結果を Table I に示す。

血漿蛋白量, 血清 GPT および GOT 活性は対照群と比べ有意な差は認められなかったが, 塩化第二水銀投与 3 日後の尿中蛋白量は増加が認められた。

3) 腎臓, 肝臓重量と肝臓の薬物代謝酵素活性

結果を Table II に示す。処置群では, AN 水酸化酵素活性, アミノピリン (以後 AM と略す) 脱メチル化酵素活性は, 有意な減少を認め, チトクローム P-450 および b_5 含量もわずかに減少の傾向が認められた。この薬物代謝酵素活性の低下が投与した塩化第二水銀の直接作用によるものかどうかを検討するためにさらに, *in vitro* での添加実験を行なった。

4) *In Vitro* 塩化第二水銀添加による薬物代謝酵素活性

In vitro での薬物代謝酵素系に対する影響の結果を Table III に示す。水銀投与量の 100% が吸収されたと仮定した量, 即ち $9.97 \times 10^{-7}M$ および, その 10 倍量でも AN 水酸化酵素活性, AM 脱メチル化酵素活性, チト

TABLE III. *In vitro* Effect of Mercuric Chloride on Microsomal Drug Metabolizing Enzyme Activities and Cytochromes

	Control	Concentration of mercuric chloride (9.97M)			
		10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵
Enzyme activity (μ moles/mg protein)					
Aniline hydroxylase	0.72	0.72	0.69	0.62	0.10
Aminopyrine demethylase	6.73	6.75	6.46	6.22	1.43
Cytochromes (μ moles/mg protein)					
P-450	1.02	0.97	0.96	0.92	0.59
P-420	—	—	—	—	0.35
b ₅	0.48	0.48	0.45	0.46	0.42
Spectral change					
P-450-Aniline (E ₄₃₀₋₄₈₀ /mg protein) $\times 10^3$	19.5	21.8	20.0	18.5	10.0
P-450-Hexobarbital (E ₄₂₀₋₄₈₀ /mg protein) $\times 10^3$	10.8	12.0	11.3	12.0	12.5

These values represented typical ones among four experiments.
Each value was obtained from tissues pooled from 4 rats.

クローム P-450 および b₅ 含量は著しい変化が認められなかった。しかし 100 倍量 (9.97 $\times 10^{-5}$ M) では、著しい減少が認められ、また、チトクローム P-450 は P-420 へ変化することも認められた。

5) 血中濃度の経時的变化

¹⁴C-DPH および ¹⁴C-EGYT-739 投与後の血中からの消失を Fig. 1A, B に示す。¹⁴C-DPH では投与後 20 分を除いて処置群が高い血中濃度を示し、また最高の血中濃度を示す時間は、対照群では投与後 1 時間であったが、処置群では投与後 1.5 時間を示した。なお Fig. 1A より求めた血中 ¹⁴C-DPH 消失の半減期は対照群では約 130 分を示し、処置群では約 240 分であった。一方 ¹⁴C-EGYT-739 においては、いずれの群も血中からの消失は二相性を示し、また Fig. 1B より求めた半減期には著しい変化が認められなかった。

6) 組織内濃度

¹⁴C-DPH および ¹⁴C-EGYT-739 投与後の経時的な組織内濃度をそれぞれ Table IV, V に示す。¹⁴C-DPH で

Fig. 1A, B. Disappearance of ¹⁴C-DPH or ¹⁴C-EGYT-739 from Blood in Control and Mercuric Chloride-treated Rats

Animals were received a subcutaneous administration of saline (2 ml/kg) or mercuric chloride (Hg: 2 mg/kg). 72 hr following the treatment animals were intraperitoneally given 50 μ Ci/50 mg/kg of ¹⁴C-DPH or ¹⁴C-EGYT-739, and blood were periodically collected from tail vein. Each point is the mean of 3 rats.

—○—○—: control, —●—●—: mercuric chloride

Fig. 2A, B. Disappearance of ¹⁴C-DPH or ¹⁴C-EGYT-739 from Kidney in Control and Mercuric Chloride-treated Rats

Conditions were as described in Table IV or V. Each point is the mean of 3 rats.

—○—○—: control, —●—●—: mercuric chloride

TABLE IV. Tissue Distribution of Radioactivity after Administration of ^{14}C -DPH

		Time after administration (hr)			
		1	3	6	24
Tissues		Tissue concentration (dpm/mg tissue)			
Brain	control	43.2 $\pm$ 4.6	13.1 $\pm$ 5.3	1.1 $\pm$ 0.2	0.3 $\pm$ 0.0
	HgCl ₂	47.2 $\pm$ 7.1	7.9 $\pm$ 3.6	1.6 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1
Liver	control	158.7 $\pm$ 11.6	63.3 $\pm$ 16.3	14.6 $\pm$ 0.6	4.3 $\pm$ 0.9
	HgCl ₂	165.4 $\pm$ 21.1	59.3 $\pm$ 17.1	11.7 $\pm$ 1.6	4.9 $\pm$ 1.4
Kidney	control	94.2 $\pm$ 4.4	41.8 $\pm$ 11.9	14.2 $\pm$ 0.7	2.6 $\pm$ 0.4
	HgCl ₂	81.6 $\pm$ 7.2	59.4 $\pm$ 7.2	24.7 $\pm$ 10.6	12.3 $\pm$ 5.4
Adrenal	control	129.6 $\pm$ 11.6	43.6 $\pm$ 16.3	5.5 $\pm$ 1.2	1.4 $\pm$ 0.2
	HgCl ₂	158.5 $\pm$ 54.1	33.4 $\pm$ 11.9	4.9 $\pm$ 1.0	1.5 $\pm$ 0.4
Fat ^{a)}	control	72.6 $\pm$ 6.5	16.3 $\pm$ 6.8	1.3 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.1
	HgCl ₂	60.4 $\pm$ 11.2	24.9 $\pm$ 10.8	1.8 $\pm$ 0.4	0.4 $\pm$ 0.3
Fat ^{b)}	control	51.5 $\pm$ 16.4	16.7 $\pm$ 2.5	1.0 $\pm$ 0.1	0.1 $\pm$ 0.0
	HgCl ₂	58.5 $\pm$ 8.8	13.1 $\pm$ 4.7	1.0 $\pm$ 0.3	0.2 $\pm$ 0.1

Fat^{a)} was obtained from epididymal fat pad and Fat^{b)} from abdomen.

Animals were received a subcutaneous administration of saline (2 ml/kg) or mercuric chloride (Hg: 2 mg/kg). 72 hr following the treatment animals were intraperitoneally given 50 μCi /50 mg/kg of ^{14}C -DPH, and were sacrificed 1, 3, 6, and 24 hr after the ^{14}C -DPH injection.

All values are mean $\pm$ S.E. of 3 rats.

TABLE V. Tissue Distribution of Radioactivity after Administration of ^{14}C -EGYT-739

		Time after administration (hr)			
		1/3	2	3	24
Tissues		Tissue concentration (dpm/mg tissue)			
Brain	control	1.7 $\pm$ 0.2	0.7 $\pm$ 0.2	0.5 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.1
	HgCl ₂	3.0 $\pm$ 0.1	0.9 $\pm$ 0.1	1.2 $\pm$ 0.4	0.4 $\pm$ 0.2
Liver	control	556.6 $\pm$ 15.4	101.0 $\pm$ 34.1	79.0 $\pm$ 4.0	6.8 $\pm$ 0.3
	HgCl ₂	754.5 $\pm$ 57.3	149.0 $\pm$ 2.4	184.9 $\pm$ 56.0	10.7 $\pm$ 3.4
Kidney	control	1274.0 $\pm$ 444.0	68.7 $\pm$ 25.2	48.2 $\pm$ 1.7	14.6 $\pm$ 0.2
	HgCl ₂	414.2 $\pm$ 62.3	185.1 $\pm$ 21.4	109.1 $\pm$ 53.1	21.7 $\pm$ 8.8
Adrenal	control	77.8 $\pm$ 8.2	34.7 $\pm$ 13.0	33.9 $\pm$ 2.3	14.7 $\pm$ 0.6
	HgCl ₂	106.8 $\pm$ 13.3	53.8 $\pm$ 1.8	52.1 $\pm$ 16.0	18.1 $\pm$ 4.4
Fat ^{a)}	control	331.2 $\pm$ 27.1	68.3 $\pm$ 27.7	57.1 $\pm$ 9.8	2.7 $\pm$ 0.6
	HgCl ₂	193.0 $\pm$ 40.8	46.2 $\pm$ 11.7	50.8 $\pm$ 23.0	2.7 $\pm$ 0.6
Fat ^{b)}	control	166.4 $\pm$ 58.8	15.8 $\pm$ 5.3	10.8 $\pm$ 0.9	1.0 $\pm$ 0.1
	HgCl ₂	153.2 $\pm$ 23.8	19.7 $\pm$ 3.0	23.0 $\pm$ 7.6	1.7 $\pm$ 0.9

Fat^{a)} was obtained from epididymal fat pad and Fat^{b)} from abdomen.

Animals were received a subcutaneous administration of saline (2 ml/kg) or mercuric chloride (Hg: 2 mg/kg). 72 hr following the treatment animals were intraperitoneally given 50 μCi /50 mg/kg of ^{14}C -EGYT-739, and were sacrificed 1/3, 2, 3, and 24 hr after the ^{14}C -EGYT injection.

All values are mean $\pm$ S.E. of 3 rats.

は、腎臓組織において投与後 3 時間で有意差はないが、対照群に比べ処置群に高い放射性物質の蓄積が認められ、これは 24 時間後でも観察された。一方、 ^{14}C -EGYT-739 では、測定した各時間とも処置群の肝臓、副腎において高い放射性物質の蓄積が観察され、腎臓では投与後 2 時間以後が高かった。それぞれの薬物の腎臓組織からの消失の半減期を Fig. 2A, B から求めると、 ^{14}C -DPH では対照群が約 108 分、処置群では約 176 分、一方 ^{14}C -EGYT-739 では対照群約 30 分、処置群約 80 分を示した。

TABLE VI. Biliary Excretion of Radioactivity after Administration of ^{14}C -DPH or ^{14}C -EGYT-739

		Time after administration (hr)			
		3	6	10	24
		Recovery (% of administered radioactivity)			
^{14}C -DPH	control	34.8±9.1	43.5±10.8	46.8±10.8	50.0±10.9
	HgCl ₂	37.5±10.0	50.2±11.5	54.6±12.2	59.9±11.0
^{14}C -EGYT-739	control	2.4±0.5	3.0±0.6	3.1±0.6	3.3±0.6
	HgCl ₂	2.9±0.2	4.7±0.2	6.4±0.3 ^{a)}	8.8±0.5 ^{a)}

Animals were received a subcutaneous administration of saline (2 ml/kg) or mercuric chloride (Hg: 2 mg/kg). 72 hr following the treatment, bile duct of animals were cannulated under pentobarbital anesthesia, and the animals were intraperitoneally injected 50 μCi /50 mg/kg of ^{14}C -DPH or ^{14}C -EGYT-739 and bile was collected for 24 hr.

All values are mean $\pm$ S.E. of 3 to 5 rats.

a) significantly different ($p < 0.02$) from control

TABLE VII. Urinary and Fecal Excretion of Radioactivity after Administration of ^{14}C -DPH or ^{14}C -EGYT-739

			Time after administration (hr)			
			3	6	10	24
			Recovery (% of administered radioactivity)			
^{14}C -DPH	urine	control	8.7±2.9	20.8±1.9	34.2±4.1	47.6±4.4
		HgCl ₂	12.2±4.4	28.8±3.9	44.5±5.0	57.8±7.5
	feces	control	—	—	—	16.5±4.1
		HgCl ₂	—	—	—	9.5±3.8
^{14}C -EGYT-739	urine	control	38.2±6.6	51.5±5.2	59.3±5.8	70.0±5.2
		HgCl ₂	37.6±15.0	56.9±12.1	66.6±10.4	77.2±9.4
	feces	control	—	—	—	30.8±5.7
		HgCl ₂	—	—	—	20.3±5.0

Animals were received a subcutaneous administration of saline (2 ml/kg) or mercuric chloride (Hg: 2 mg/kg). 72 hr following the treatment animals were intraperitoneally injected 50 μCi /50 mg/kg of ^{14}C -DPH or ^{14}C -EGYT-739, and then urine and feces were collected for 24 hr.

All values are mean $\pm$ S.E. of 3 to 4 rats.

7) 胆汁排泄

^{14}C -DPH および ^{14}C -EGYT-739 投与後の胆汁排泄の結果を Table VI に示す。処置群では各時間毎並びに、全排泄量において、 ^{14}C -DPH においては増加の傾向を示し、 ^{14}C -EGYT-739 においては 6 時間以後は有意な排泄増加が認められた。

8) 尿及び糞中排泄

結果を Table VII に示すが、尿中排泄はいずれの薬物も対照群と比べ有意な差はなかったが増加の傾向が認められた。一方糞中排泄はいずれの薬物も処置群で減少の傾向が認められた。

9) 血漿蛋白との結合率

^{14}C -DPH および ^{14}C -EGYT-739 投与後の血漿蛋白との結合率を Table VIII に示す。測定した時間は対照群では ^{14}C -DPH 投与後最高血中濃度を示す 60 分で、処置群では最高を示す 90 分に測り、またさらに両群とも 180 分後も測定した。 ^{14}C -EGYT-739 については対照群、処置群とも ^{14}C -EGYT-739 投与後最高血中濃度を示す 20 分に測り、さらに 180 分後も測定した。いずれの薬物においても血漿蛋白との結合率に有意な差は認められなかったが、処置群で増加の傾向が認められた。

腎臓障害動物より得た血漿と ^{14}C -DPH の *in vitro* での結合率では、*in vivo* 血中濃度ピーク時およびその 10 倍量、100 倍量のいずれの濃度においても結合率に差は認められなかった (Table VIII)。

TABLE VIII. *In Vivo* or *in Vitro* Plasma Protein Binding of Radioactivity

			Time after ¹⁴ C-treatment (min)			
			20	60	90	180
<i>In vivo</i>	¹⁴ C-DPH	control	—	19.5±1.3	—	23.1±1.5
		HgCl ₂	—	—	22.0±1.1	24.8±1.4
	¹⁴ C-EGYT-739	control	2.5±0.8	—	—	4.9±0.7
		HgCl ₂	3.2±1.1	—	—	7.0±2.6

			Added ¹⁴ C-DPH (concentration: M)		
			7 × 10 ⁻⁷	7 × 10 ⁻⁶	7 × 10 ⁻⁵
<i>In vitro</i>		control	16.0±0.5	14.4±1.6	13.9±1.4
		HgCl ₂	15.2±0.8	14.5±0.5	16.4±0.4

Animals were received a subcutaneous administration of saline (2 ml/kg) or mercuric chloride (Hg: 2 mg/kg). For *in vivo* study, 72 hr following the treatment animals were intraperitoneally injected 50 μ Ci/50 mg/kg of ¹⁴C-DPH or ¹⁴C-EGYT-739, and were sacrificed on schedule and then plasma were prepared. For *in vitro* study, 72 hr following the treatment animals were sacrificed and plasma were prepared. All values are mean $\pm$ S.E. of 5 to 8 rats and expressed as percentage of radioactivity bound to plasma protein.

考 察

腎臓障害時に認められる蛋白尿は、もっとも普遍的な徴候の一つとして日常臨床的診断に利用され、⁹⁾ また薬物と障害部位との関係も、Gloor により報告¹⁰⁾ されている。一般に糸球体障害では顕著な蛋白尿が認められ、一方尿管障害ではわずかな蛋白尿が認められている。¹¹⁾

塩化第二水銀は少量では近位尿管を、多量では遠位尿管をも障害するといわれている。¹²⁾ 今回の実験で投与量、Hg として 2 mg/kg で投与 3 日後動物は体重の減少が著しく、欠尿状態を示すと共に蛋白尿が認められ、更に腎臓皮質部は肉眼的にも灰白化が観察され、また組織化学的には尿管細胞質に混濁腫脹が認められたことにより、3 日後の動物を腎臓障害動物として実験に供した。

薬物は胆汁排泄量並びに血液蛋白との結合能等を考慮して、本実験においては酸性薬物の DPH、塩基性薬物の EGYT-739 を選んで行なった。

種々の抗生物質は腎臓障害時には血中からの消失遅延、あるいは血中濃度の半減期が延長されることが認められている。¹³⁾ 今回の実験では ¹⁴C-DPH の血中からの消失は著しい遅延が認められたが、¹⁴C-EGYT-739 においては変化は認められなかった。この差は EGYT-739 が DPH にくらべ、血漿蛋白との結合能が小さく (Table VIII), また排泄も DPH にくらべ早期に多い (Table VII) せいかもしれない。今後なお検討を必要とする。

一方血清 GPT および GOT 活性に変化が認められなかったことから、塩化第二水銀による肝臓障害は弱かったと考えられるが、肝臓ミクロゾームの薬物代謝酵素活性は減少した。しかし *in vitro* の塩化第二水銀の添加実験で、投与量の 100% が吸収されたと仮定した量およびその 10 倍量の添加でも、肝臓の薬物代謝酵素活性に著しい変化が認められなかった。以上のことから塩化第二水銀投与による肝臓の薬物代謝酵素活性の低下や、チトクローム含量等の減少は、投与した水銀の直接作用よりはむしろ腎臓の障害による二次的な作用と考えられる。

さらに腎臓障害時には血漿蛋白量の減少や、薬物と血漿蛋白との結合率が低下することが示されている¹⁴⁾ が、

9) 成田光陽, 若新政史, 若新洋子, 内科, 31, 849 (1973).

10) F. Gloor, "Progress in Nephrology," Springer-Verlag, New York, 1969, p. 173.

11) 宮原 正, 斎藤 司, 薬事, 16, 51 (1974).

12) 高橋日出彦, "くすりの毒性," 南江堂, 東京, 1973, p. 250.

13) C.M. Kunin, S.B. Rees, J.P. Merrill, M. Finland, J. Clin. Invest., 38, 1487 (1959).

14) J.D. Taylor, R.K. Richards, J.C. Davis, J. Asher, J. Pharmacol. Exptl. Therap., 112, 40 (1954); D.S. Campion; Toxicol. Appl. Pharmacol., 25, 391 (1973); S.H. Dromgoole, J. Pharmacol. Exptl. Therap., 191, 318 (1974).

実験に使用した ^{14}C -DPH および ^{14}C -EGYT-739 では、有意な差はなかったが増加する傾向が認められた。しかし障害動物から得られた血漿による *in vitro* 添加実験では結合率に変化が認められなかったことから (Table VIII), これは水銀塩の *in vivo* 投与でおこる特異的な現象か否か,あるいは他の重金属による腎臓障害でも誘起する現象か否か, 現在実験を継続中である。

一方障害部位である腎臓組織から放射性物質の消失が遅延した結果を得たが, これは障害のために腎臓に質的および量的な変化がおこり, そのため薬物と組織との結合が変化したのかもしれない。なお詳細な検討を必要とする。

胆汁への排泄は腎臓障害時いずれの薬物についても増加の傾向が認められたが, 代償的に胆汁に排泄されたものと思われる。しかし糞中排泄が減少したことについては不明であるが, 障害時において腸肝循環に何らかの因子が関与したのかもしれない。

DPH の主代謝産物である 5-(*p*-hydroxyphenyl)-5-phenylhydantoin は DPH の水酸化を阻害する¹⁵⁾ ので, ^{14}C -DPH の血中濃度を高めた一因かもしれないが, 腎臓障害時は薬物の代謝酵素活性が低下していることから, むしろ今回使用した ^{14}C -DPH の未変化体と代謝産物を同時に測定していることに起因すると思われる。今後分離測定することで生体内動態はより正確になると思われる。

15) J.J. Ashley, G. Levy, *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, **4**, 297 (1972); P. Borondy, T. Chang, A.J. Glazko, *Federation Proc.*, **31**, 582 (1972); A.M. Batt, J.M. Ziegler, G. Siest, *Biochem. Pharmacol.*, **24**, 152 (1974).