

## 0323 腎排泄抑制による放射性医薬品の体内動態制御

00-185 高橋 里枝

(指導教官：川井 恵一教授 吉本 光喜助手)

要旨：本研究では、放射性医薬品の目的臓器への集積率向上を目指し、腎排泄抑制という新しい体内動態制御法を試みた。一般に尿排泄性の高い医薬品は、尿細管の **organic anion transporter(OAT)**を介して尿中に分泌されるものが多い。そこで、OAT を介して輸送されることで競合阻害作用をもつ薬剤(OAT 阻害剤)を用いて、腎排泄抑制を試みた。マウス体内分布実験を行い  $^{99m}\text{Tc-MAG}_3$ ,  $^{125}\text{I-AMT}$  に対する OAT 阻害剤負荷の影響を検討した。その結果、腎排泄抑制の効果がみられ、 $^{125}\text{I-AMT}$  の目的臓器への集積率が無負荷群と比べて 2~4 倍に向上した。次に、糸球体濾過率の亢進作用をもつ利尿剤を OAT 阻害剤と併用して、腎排泄抑制効果の調整を検討した。最後に、より安全に腎排泄抑制を起こすものとして、アミノ酸輸液を OAT 阻害剤としてラット体内分布実験を行った。その結果、腎排泄抑制がみられ、血中濃度が無負荷群と比較して 2 倍に向上し、アミノ酸輸液の腎排泄抑制剤としての有用性が示唆された。

### I. はじめに

本研究では、画像診断における放射性医薬品の目的臓器への集積率向上を目的とした。一般に、医薬品の目的臓器への集積率は血中濃度に依存する。しかし、この血中濃度は腎排泄によって経時的に低下する。そこで、その腎排泄に着目し、一過性に腎排泄抑制をすることで血中濃度低下を遅延させ、目的臓器の集積率を向上させるという新しい体内動態制御法を試みた。

尿排泄性の高い医薬品は、尿細管の **organic anion transporter(OAT)**を介して尿中に分泌されるものが多い<sup>1)</sup>。そこで、OAT を介して輸送されることで競合阻害作用を示す薬剤(OAT 阻害剤)を併用し、腎排泄抑制を試みた。尿排泄性の高い放射性医薬品の中でも、OAT を介して速やかに尿中に分泌されることが知られている  $^{99m}\text{Tc-MAG}_3$ <sup>2)</sup>、目的臓器への集積性を評価するため、特異的輸送系により脳や脾臓に高く集積する  $^{125}\text{I-AMT}$ <sup>3-4)</sup>を選択し、マウス体内分布実験を行った。その結果、腎排泄抑制が達成されたので、次に糸球体濾過率の亢進作用をもつ利尿剤を OAT 阻害剤と併用し、腎排泄抑制効果の調整を検討した。最後に、より安全に腎排泄抑制を起こすものとしてアミノ酸輸液に着目し、OAT 阻害剤にアミノ酸輸液を用いてラット体内分布実験を行った。

### II. OAT 阻害剤を併用した腎排泄抑制の試み

#### A) 実験材料と方法

OAT 阻害剤として、薬効が少なく安全性が高い臨床薬のうち **probenecid(PBC, Sigma)**、**N-benzoyl- $\beta$ -alanine(BBA, 東京化成工業)**及び **cefazolin(CFZ, 藤沢薬品工業)**<sup>1)</sup>を選択した。

#### (a)マウス体内分布実験

各 OAT 阻害剤 100 $\mu$ l(20mg/kg body weight)をそれぞれマウス(ddY 雄 6 週齢 体重約 25g)に尾静脈注射した。5 分後、 $^{99m}\text{Tc-MAG}_3$ (日本メジフィジックス),  $^{125}\text{I-AMT}$ (Kawai らの方法<sup>3-4)</sup>にて標識した)の生理食塩溶液 100 $\mu$ l(185kBq,37kBq)を尾静脈より投与した。一定時間(2,5,10,15 分)後、エーテル麻酔下にて心臓採血した。集積率測定用としてヘパリン処理済み注射器で 300 $\mu$ l 採血し、トレーサ投与後 2,5 分のみ血中遊離率測定用としてヘパリン未処理注射器を用いて採血した。その後、臓器を摘出し、湿重量を秤量した。オートウェルチカウンタ(Aloka:ARC-380)で血液(集積率測定用)及び臓器の放射能を計測し、重量集積率を次式により算出した。

$$\text{重量集積率}[\%ID/g] = \{\text{組織放射能}[cpm] / \text{投与放射能}[cpm] \times 100\} / \text{組織重量}[g]$$

(b) *In vivo* マウス血清における蛋白結合置換

(a)の血中遊離率測定用に採血した血液を採血管(Sekisui Medical:SI-0402S)に入れ、遠心分離機(Tomy:RLX-135)を用いて 3000rpm で 10 分間遠心分離し、*in vivo* マウス血清を得た。そこから 10 $\mu$ l を[S]として分取して、残りの溶液から 200 $\mu$ l を限外濾過器(Tosoh:Minicent-10)に入れた。その後、遠心分離して、この濾液から[F]として 10 $\mu$ l を分取した。[S]と[F]の放射能をオートウェルカウンタで計測し、血中遊離率を次式から算出した。

$$\text{血中遊離率}[\%] = \{[F] / [S]\} \times 100$$

(c) ヒト血清における蛋白結合置換

ヒトプール血清(Cosmo Bio:Lot 13809)を 1/15M リン酸緩衝液(pH7.4)を用いて、アルブミン濃度の分析値より、アルブミン濃度 500 $\mu$ M に希釈した。<sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>の生理食塩溶液 8 $\mu$ l と OAT 阻害剤 8 $\mu$ l(最終濃度 400 $\mu$ M)をヒト血清 200  $\mu$ l に加えて混和し、そこから 10 $\mu$ l を[S]として分取した。その後は、(b)と同様にして血中遊離率を算出した。

B) 結果と考察

Table.1 は、OAT 阻害剤の代わりに生理食塩水を負荷したものを無負荷群(control)とした場合の、*in vivo* マウス血清(投与後 2 分)とヒトプール血清の遊離率の control 比である。*In vivo* マウス血清では、OAT 阻害剤負荷による血中遊離率の増加は見られなかったが、ヒト血清では 1.3~1.4 倍に増加した。

Fig.1 はマウス体内分布における投与後 15 分の<sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>の重量集積率である。いずれの OAT 阻害剤負荷においても control 群に比べて血中濃度が向上し、各臓器の集積率が向上した。これより、OAT 阻害剤の併用によって<sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>の腎排泄抑制が確認できた。Fig.2 に<sup>125</sup>I-AMTの重量集積率を示す。<sup>125</sup>I-AMTにおいても血中濃度が大きく向上し、腎排泄抑制が達成された。特に PBC 負荷群では、control 群と比較して脳で 2 倍、膵臓で 4 倍以上に目的臓器の集積率が向上した。これは特異的輸送系を有するため、腎排泄抑制によって著しく集積率が向上したと考えられる。

OAT 阻害剤の併用により<sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>, <sup>125</sup>I-AMT の両方で腎排泄抑制が達成され、<sup>125</sup>I-AMT では目的臓器の集積率を向上させることができた。また 3 種類の OAT 阻害剤のうち、高い腎排泄抑制効果を示したのは PBC であった。PBC は、他の阻害剤と比較してヒトにおける半減期が長い<sup>5)</sup>。よって OAT への親和性が低いことから、効果が持続し顕著となったと考えられ、PBC が有用な腎排泄抑制剤となり得ることが示された。また、ヒト血清において OAT 阻害剤は蛋白結合置換を示したので、ヒトでは腎排泄と蛋白結合が複合的であるだろうと予想される。それに対して *in vivo* マウス血清では蛋白

Table.1 OAT 阻害剤の血中遊離率の control 比

OAT 阻害剤	PBC	BBA	CFZ
マウス血清	0.97	0.97	0.98
ヒト血清	1.29	1.40	1.40

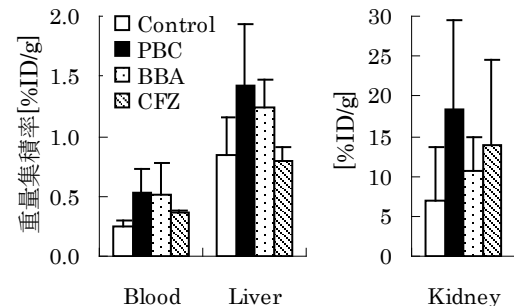


Fig.1 <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>の重量集積率(投与後 15 分)

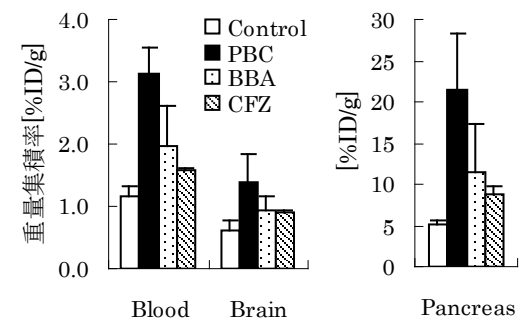


Fig.2 <sup>125</sup>I-AMTの重量集積率(投与後 15 分)

結合置換を示さなかったことから、マウス体内分布の結果は腎排泄のみの影響であると考えられた。よって、マウスにおける腎排泄抑制の効果は、ヒトでの蛋白結合置換作用を除いた腎排泄単独のモデルとして評価し得る。

### III. 利尿剤の併用による腎排泄の調整

意図的に腎排泄抑制効果の調整ができれば、薬物動態をさらに制御する意味で臨床においても好ましいと考えられる。よって糸球体濾過率の亢進作用をもつ ethacrynic acid (ETA, Sigma)<sup>6)</sup> に着目し、OAT 阻害剤と併用して腎排泄抑制に及ぼす影響を検討した。

#### A) 実験材料と方法

II.の検討より、OAT 阻害剤として有用であった PBC、臨床薬のうち糸球体濾過率を亢進し薬効が少なく安全性が高い ETA の 2 種類を用いた。負荷群は PBC 単独, ETA 単独, PBC と ETA の併用(PBC+ETA)とした。PBC, ETA 各 100 $\mu$ l(20mg/kg body weight)をマウス(ddY 雄 6 週齢 体重約 25g)に尾静脈注射した。5 分後、<sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>, <sup>125</sup>I-AMT の生理食塩溶液 100 $\mu$ l(185kBq,37kBq)を尾静脈より投与した。PBC+ETA 負荷群では RI 投与と同時に ETA を投与したものを SE 群、RI 投与 2 分後に ETA を投与したものを AE 群とした。一定時間(5,10,15 分)後、エーテル麻酔下にて心臓採血し、集積率測定用としてヘパリン処理済み注射器で 300 $\mu$ l 採血した。その後、II.A)(a)と同様にして重量集積率を算出した。

#### B) 結果と考察

Fig.3 は、投与後 15 分の <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub> の重量集積率である。PBC 単独負荷群よりも ETA 単独負荷群、SE 群、AE 群の各臓器の集積率が向上した。これより ETA は OAT を介して輸送され、競合阻害作用を示したと考えられる。この理由としては、OAT に対して ETA がより強い親和性をもつためであると予想された。よって ETA は腎排泄抑制の調整剤というよりも、PBC

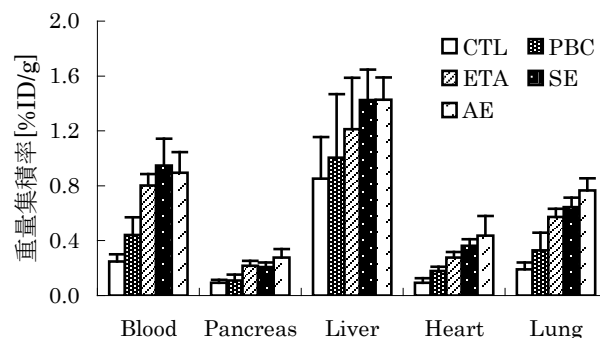


Fig.3 <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub> の重量集積率(投与後 15 分)

に匹敵する腎排泄抑制剤となる可能性が示唆された。ETA が OAT を介して輸送されたため、OAT を介する腎排泄抑制の調整にはならなかったが、OAT 以外から輸送される薬剤を用いれば、腎排泄抑制の調整は可能であると考えられる。これらに関しては、今後の検討課題である。

### IV. アミノ酸輸液の腎排泄抑制剤への応用

臨床では、患者の腎臓や肝臓の機能が低下している場合があるので、より安全な腎排泄抑制剤として栄養点滴剤であるアミノ酸輸液(AAF)に着目した。II.の検討より <sup>125</sup>I-AMT の腎排泄抑制が達成されたことから、AAF も OAT から分泌されて OAT 阻害剤になり得ると予想した。よって AAF を OAT 阻害剤としてラット体内分布実験を行った。

#### A) 実験材料と方法

AAF は通常長時間の点滴によってヒトに投与されるので、ラットにおいてもインフュージョンポンプ(Harvard Apparatus:model11)を用いて連続静注をした。前処置として 0.5ml の AAF(キドミン; 大塚製製, control 群では生理食塩水)をラット(Wistar 雄 6 週齢 24 時間絶食)の尾静脈から borus 投与し、その後 2ml/hr の速さで AAF を 30 分間連続静注した。前処置終了直前に 0.5ml の AAF を borus 投与し、その直後に <sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>, <sup>125</sup>I-AMT の生理食塩溶液 100 $\mu$ l(185kBq,37kBq)

を borus 投与した。一定時間(1,3 時間)までポンプにて AAF を連続静注した後、エーテル麻酔下にて心臓採血した。集積率測定用としてヘパリン処理済み注射器で 300 $\mu$ l 採血し、その後、II.A)(a)と同様にして重量集積率を算出した。

## B) 結果と考察

Table.2 は *in vitro* ラット血清における血中遊離率の control 比である。AAF 負荷による蛋白結合置換はみられなかった。よってラット体内分布の結果は、腎排泄のみの影響として考えられる。

Table.2 血中遊離率の control 比

OAT 阻害剤	AAF
ラット血清	1.06

Fig.4 は、ラット体内分布での投与後 1 時間における  $^{99m}\text{Tc-MAG}_3$  の重量集積率である。AAF 負荷群では、control 群と比べて血中濃度は約 2 倍に上昇し、腎排泄抑制が確認された。Fig.5 は、 $^{125}\text{I-AMT}$  の重量集積率を示す。 $^{125}\text{I-AMT}$  もわずかに血中濃度が向上した。脳と膵臓の集積率が著しく低下したのは、特異的輸送系を有するために AAF が競合阻害作用を示したものと考えられる。

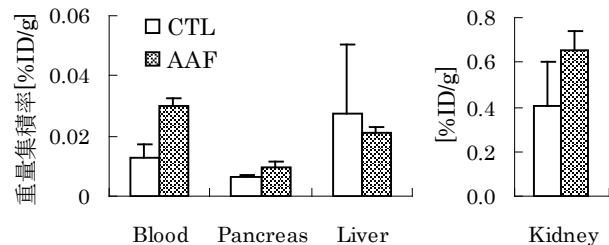


Fig.4  $^{99m}\text{Tc-MAG}_3$  の重量集積率(投与後 1 時間)

AAF の併用により  $^{99m}\text{Tc-MAG}_3$  において腎排泄抑制が達成された。よって、より安全な腎排泄抑制剤としてのアミノ酸輸液の有用性が示唆された。

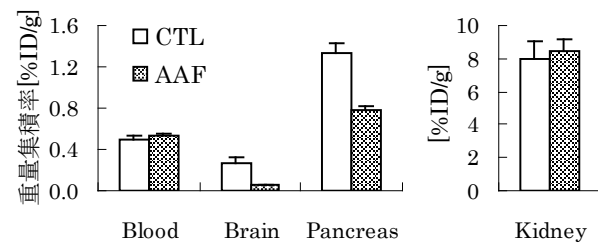


Fig.5  $^{125}\text{I-AMT}$  の重量集積率(投与後 1 時間)

## V. 結語

OAT 阻害剤の併用による腎排泄抑制という新しい体内動態制御法を開発し、その結果として、目的臓器への集積率を向上させ得ることが認められた。また、より安全な腎排泄抑制剤としてアミノ酸輸液の有用性が示された。さらには他の放射性医薬品においても、腎排泄抑制を用いることで目的臓器への集積率向上が期待され得る。

## VI. 謝辞

今回の実験を行うにあたって、御指導下さいました川井恵一教授、吉本光喜助手、御協力いただいた本研究室の方々に心より感謝いたします。

## VII. 参考文献

- 1) 加藤隆一. 臨床薬物動態学 - 臨床薬理学・薬物療法の基礎として - 改訂第 3 版. 南江堂, pp.77-83, 2003.
- 2) Shikano N., Kawai K., Ishikawa N. and Kubodera A. Technetium-99m-MAG<sub>3</sub> as a transport substrate of rat renal organic anion transporter-1. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* 44: 627-629, 2001.
- 3) Kawai K., Fujibayashi Y., Saji H., Yonekura Y., Konishi J., Kubodera A. and Yokoyama A. Strategy for the study of cerebral amino acid transport using  $^{125}\text{I}$ -labeled amino acid radiopharmaceutical: 3-iodo-alpha-methyl-L-tyrosine. *J. Nucl. Med.* 32: 819-824, 1991.
- 4) Kawai K., Fujibayashi Y., Yonekura Y., Konishi J., Saji H., Kubodera A. and Yokoyama A. An artificial amino acid radiopharmaceutical for single photon emission computed tomographic study of pancreatic amino acid transports:  $^{125}\text{I}$ -3-iodo-alpha-methyl-L-tyrosine. *Ann. Nucl. Med.* 6: 169-175, 1992.
- 5) Benet L.Z., Phie S. and Schwartz J.B. 投与計画の設計と適正化: 薬物動態データ. 高折修二, 福田英臣, 藤原元始, 大森義仁, 高木敬次郎, 上條一也監訳, Goodman & Gilman's 薬理書 第 9 版 - 薬物治療の基礎と臨床 -, 廣川書店, pp.2265-2324, 1999.
- 6) Jackson E.K. 腎臓および心臓血管系の機能に作用する薬物. 同上, pp.930-933, 1999.