

01-208 大多 秀和

(指導教員：川井恵一教授 吉本光喜助手)

要旨：一般に、放射性医薬品は、投与後、組織に分布するとともに、腎臓より速やかに排泄される。医薬品の目的臓器への集積率は血中濃度に依存するが、この血中濃度は腎排泄によって経時的に低下していく。そこで、腎排泄を投与後早期に一過性に抑制して、医薬品の投与直後の血中濃度低下を遅延させることで、目的臓器への集積率の向上を試みた。尿排泄性の高い医薬品は、腎尿細管分泌の寄与が大きく、能動輸送系には、有機酸輸送系、有機塩基輸送系、中性アミノ酸輸送系などが存在する。そこで、腎尿細管の輸送系を明らかにする目的で、上記輸送系を介して輸送されることにより競合阻害作用を示す薬剤を用いた *in vivo* スクリーニング法の検討を行った。次に、上記スクリーニング法において変化が認められた阻害剤のうち、安全性が高い医薬品を用い、脳および心筋血流製剤の腎排泄制御に関して詳細な検討を行った。その結果、心筋血流製剤では血液および心臓をはじめとする主要臓器への早期の集積率が control 群と比べ向上し、阻害剤の併用によって、腎排泄抑制と目的臓器への集積率向上が認められた。

I. はじめに

腎排泄性の高い医薬品は腎尿細管分泌の寄与が大きく、能動輸送系には有機酸輸送系 organic anion transporter(OAT)、有機塩基輸送系 organic cation transporter(OCT)、中性アミノ酸輸送系 L-type amino acid transporter(LAT) などが存在することが知られている¹⁾。

これまでの検討により、OAT により腎尿細管から速やかに分泌される腎機能診断薬である ^{99m}Tc-MAG₃²⁾や、LAT などの特異的輸送系により、脳・脾臓に高く集積する ¹²⁵I-3-iodo- α -methyl-L-tyrosine³⁾で OAT 阻害剤との併用により腎排泄抑制を達成し得ることを報告してきた。

よって、本研究では放射性医薬品がどのトランスポーターに関与しているのかを明らかにするとともに、腎排泄抑制による体内動態変化を同時に評価することを目的とし、OAT、OCT、LAT を介して輸送されることにより競合阻害作用を示す薬剤を用いた *in vivo* スクリーニング法の検討を行った。放射性医薬品には脳血流製剤である ¹²⁵I-N-isoproryl-*p*-iodoamphetamine (¹²⁵I-IMP)、心筋交感神経機能測定剤 ¹³¹I-metaiodobenzylguanidine(¹³¹I-MIBG)をモデル薬剤として選択し、阻害剤負荷によるマウス体内分布実験を行った。その結果、多種類の阻害剤の効果を同時に評価できることが確認されたので、さらに、脳及び心筋血流製剤における詳細な検討を行った。

II. *In vivo* におけるスクリーニング法の検討

A) 実験材料と方法

OAT 阻害剤として probenecid(PBC, Sigma)、*N*-benzoyl- β -alanine(BBA, 東京化成工業)、OCT 阻害剤として carnitine(CAN, Nacalai tesque)、tetraethylammonium(TEA, Nacalai tesque)、LAT 阻害剤として L-tyrosine(Tyr, ペプチド研究所)を選択した。

各 OAT、OCT、LAT 阻害剤 50 μ l(10mg/kg body weight)と ¹²⁵I-IMP、¹³¹I-MIBG の生理食塩水溶液 50 μ l を併せたもの(計 100 μ l)をそれぞれマウス(ddY 雄 6 週齢 体重約 25g)(n=4)に尾静脈注射し、ダブルトレーサー法により検討した。一定時間(15、60 分)後、エーテル麻酔下にてヘパリン処理済注射器で 300 μ l を心臓採血した。その後、臓器を摘出し湿重量を秤量した。オートウェルガンマカウン

タ(Aloka:ARC-380)で ^{125}I -IMP、 ^{131}I -MIBG のエネルギーウインドウをそれぞれ設定し、血液及び臓器の放射能を計測した。次に、組織集積率・重量集積率を次式にて算出し、生理食塩水負荷を control 群として各阻害剤負荷時の変化と比較した。

$$\cdot \text{組織集積率}[\% \text{ID}/\text{organ}] = \text{組織放射能}[\text{cpm}] / \text{投与放射能}[\text{cpm}] \times 100$$

$$\cdot \text{重量集積率}[\% \text{ID}/\text{g}] = \text{組織集積率}[\% \text{ID}/\text{organ}] / \text{組織重量}[\text{g}]$$

B) 結果と考察

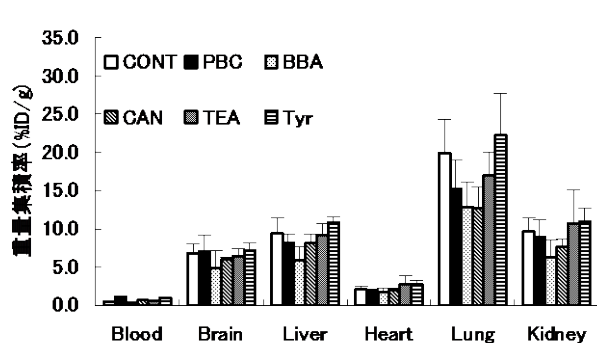


Fig1. ^{125}I -IMP の重量集積率 (投与後 15 分)

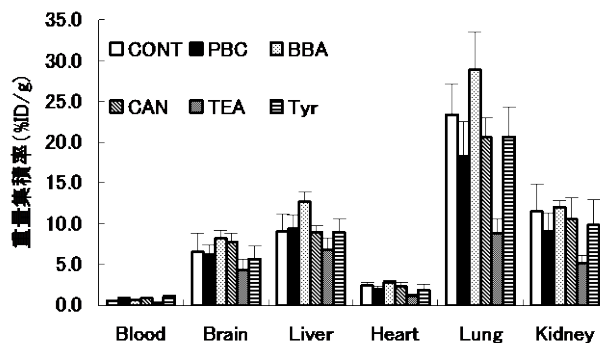


Fig2. ^{125}I -IMP の重量集積率 (投与後 60 分)

Fig.1 はマウス体内分布における投与後 15 分の ^{125}I -IMP の重量集積率である。Tyr を負荷した場合、control 群と比べわずかに集積率が向上した。Fig.2 はマウス体内分布における投与後 60 分の ^{125}I -IMP の重量集積率である。BBA 負荷で、control 群に比べ集積率の向上が認められた。また、 ^{131}I -MIBG の重量集積率では control 群と比べて集積率の向上した阻害剤は見られなかった。以上のように、今回検討した *in vivo* スクリーニング法に用いることによって、一度に多くの阻害剤の効果を評価でき、血中濃度の変化と同時に各組織への集積率の変化も示された。特にダブルトレーサー法を用いることにより、評価対象となる各放射性医薬品・阻害剤の組み合わせを飛躍的に増やすことができた。

III. 脳および心筋血流製剤による検討

II. の検討から *in vivo* で腎尿細管分泌に関与する能動輸送系のトランスポーターを評価できる可能性が示されたので、新たに放射性医薬品を選択し、臨床応用が可能な阻害剤の併用効果を評価した。また、より詳細に経時的な体内動態変化を評価するため、屠殺時間のポイントを増やして検討を行った。

A) 実験材料と方法

II. の検討より有用性が認められ、安全性の高いことから臨床応用が可能な阻害剤として OAT 阻害剤の BBA、LAT 阻害剤の Tyr を用いた。放射性医薬品には、 ^{125}I -IMP、 ^{125}I -NaI、 $^{201}\text{TlCl}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tetrofosmin を選択した。阻害剤 $50\mu\text{l}$ (10mg/kg body weight) と各放射性医薬品の生理食塩水溶液 $50\mu\text{l}$ を併せたもの (計 $100\mu\text{l}$) をそれぞれマウス (ddY 雄 6 週齢 体重約 25g) (n=4) に尾静脈より投与した。一定時間 (5、10、15、30、60 分) 後、エーテル麻酔下にてヘパリン処理済注射器で $300\mu\text{l}$ を心臓採血した。 ^{125}I -IMP、 $^{201}\text{TlCl}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tetrofosmin は一度に多くの情報を得るためトリプルトレーサー法で行い、臓器摘出直後に $^{201}\text{TlCl}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tetrofosmin をそれぞれのエネルギーウインドウに合わせて計測し、計測終了後試料を冷凍保存した。数日後、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ の減衰を待ってから ^{125}I -IMP を計測した。その後、II. A)(a)と同様にして重量集積率を算出するとともに、各阻害剤負荷時の control 群に対する重量集積率比を組織ごとに評価した。

B) 結果と考察

1) BBA 負荷の影響

Fig.3はBBA負荷における重量集積比の経時変化である。

^{99m}Tc -tetrofosminの投与後早期で血中濃度の control 比が顕著に上昇し、その

後経時的に低下した。心臓への集積率も投与後 10 分、15分においてはcontrol比の2倍以上と大きく向上した。 $^{201}\text{TlCl}$ については心臓への集積比が投与 15 分以降で向上したが、血中濃度はcontrol比と比べ変化しておらず、この心臓への集積比向上は腎排泄抑制以外の機序によるものと推測された。

Fig.4はBBA負荷における投与後10分の体内動態である。 ^{99m}Tc -tetrofosminにおいて集積比上昇が確認されたことを除き、その他の放射性医薬品では血中濃度がcontrol群と比べ変わらず、それぞれの目的臓器への集積向上は認められなかった。

2) Tyr 負荷の影響

Fig.5はTyr負荷における重量集積比の経時変化である。Tyr負荷においても、 ^{99m}Tc -tetrofosminの投与後早期でBBA負荷時よりも顕著に血中濃度が上昇し、心臓への集積率もcontrol比の2倍以上に上昇した。

その後、血中濃度が経時的に低下し、それに伴い心臓での集積率も低下した。 $^{201}\text{TlCl}$ については、投与5分後で血中濃度が僅かに上昇し、心臓集積比も同程度に増加した。また、BBA負荷と同様にTyr負荷においても、心臓への集積比が投与15分以降で向上したが、血中濃度の変化は伴っておらず、この集積比の向上は心臓からの洗い出しの遅延によるものと考えられた。

Fig.6はTyr負荷における投与後10分の体内動態である。 ^{99m}Tc -tetrofosminで血中濃度が大きく上昇し、心臓をはじめとする主要臓器での集積率がcontrol群の2倍以上に向上した。

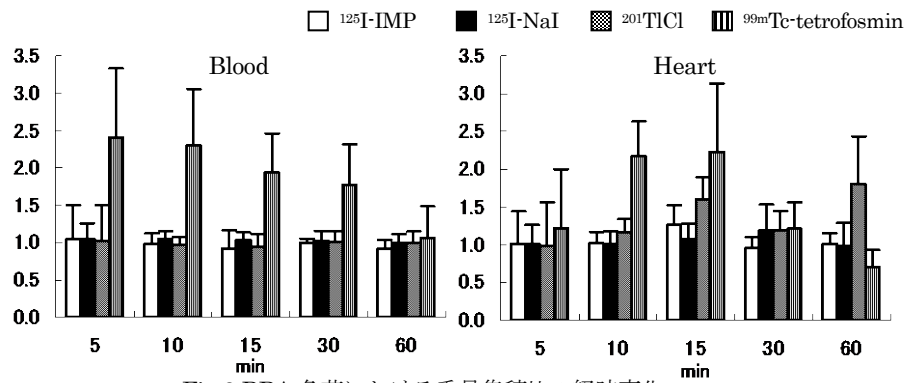


Fig.3 BBA 負荷における重量集積比の経時変化

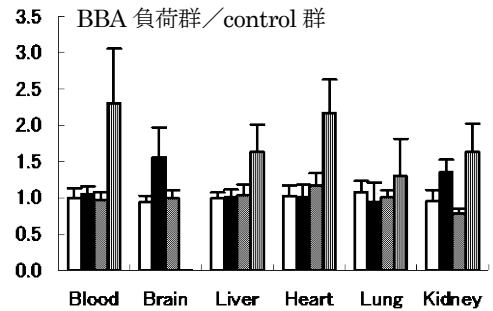


Fig.4 BBA 負荷における投与後10分の体内動態

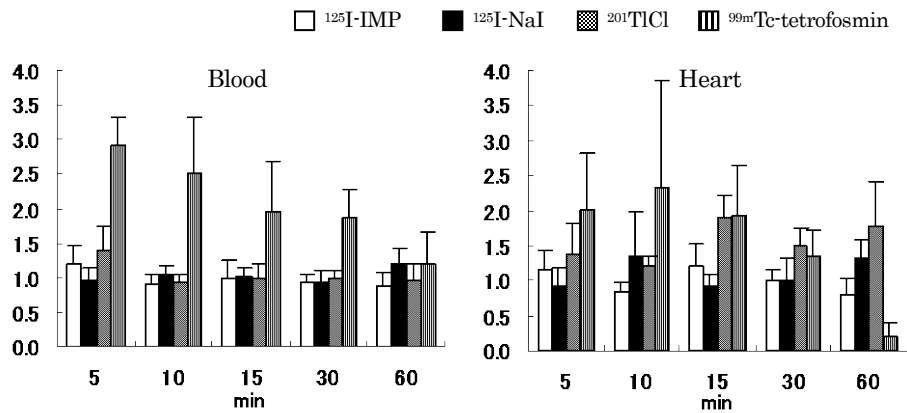


Fig.5 Tyr 負荷における重量集積比の経時変化

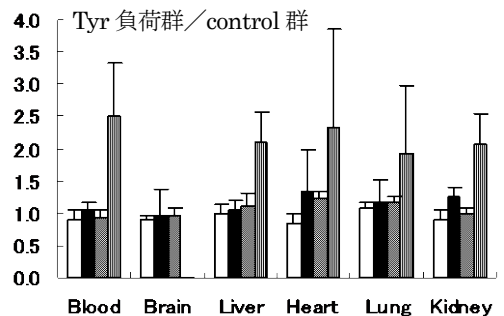


Fig.6 Tyr 負荷における投与後10分の体内動態

3) ^{99m}Tc -tetrofosmin、 $^{201}\text{TlCl}$ の動態変化

Fig.8 は ^{99m}Tc -tetrofosmin における血液、心臓への集積率及び心臓対血液比の経時的推移である。BBA、Tyr 負荷の両方で、投与後早期より血液濃度が顕著に増加し、それに伴い、心臓集積率も向上したが、血中濃度は経時的に減少し、投与後 60 分で control 群と同じレベルにまで減少した。心臓対血液比は、10 以下から 25 付近まで漸次増加し、腎排泄抑制の典型的な推移を示した。一方、control 群の心臓集積率は、血中濃度がほぼ一定に保たれているにも関わらず、

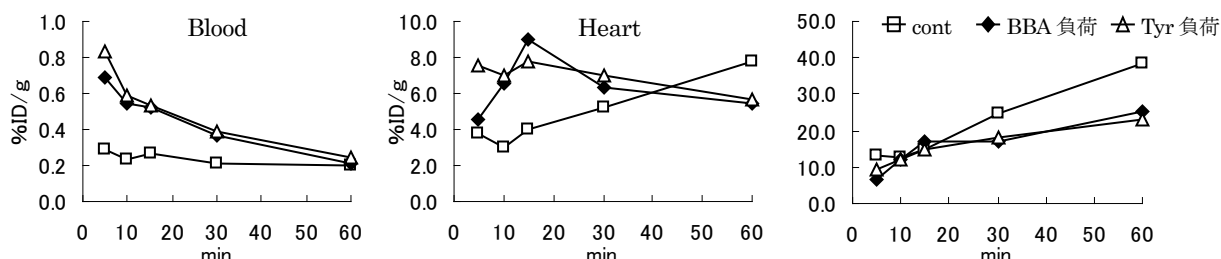


Fig.8 ^{99m}Tc -tetrofosmin における血液、心臓への集積率及び心臓対血液比の経時的推移

15 分以降に増加を示した。

Fig.9 は $^{201}\text{TlCl}$ における血液、心臓への集積率及び心臓対血液比の経時的推移である。control 群、BBA 負荷、Tyr 負荷での血中濃度はほぼ一定の推移を示したが心臓への集積率は control 群に比べてわずかに向上し、一定の滞留性が確認された。また、血液濃度がほぼ一定であるのに対し、心臓への集積率が経時的に低下したので、心臓対血液比は経時的に低下した。

IV. 結語

^{99m}Tc -tetrofosmin ではスクリーニングで変化の認められた BBA、Tyr 負荷両方で、投与後早期に顕著に血中濃度が上昇し、目的臓器である心臓をはじめ、他の主要臓器でも腎排泄抑制による集積率向上が認められ、 ^{201}Tl においても心臓で洗い出しの遅延によると考えられる集積率の向上が見られた。

これらの結果のように、多種類の阻害剤の中より効果が大きい組み合わせを効率的に見出せることから、本研究でのスクリーニング法の有用性が示された。

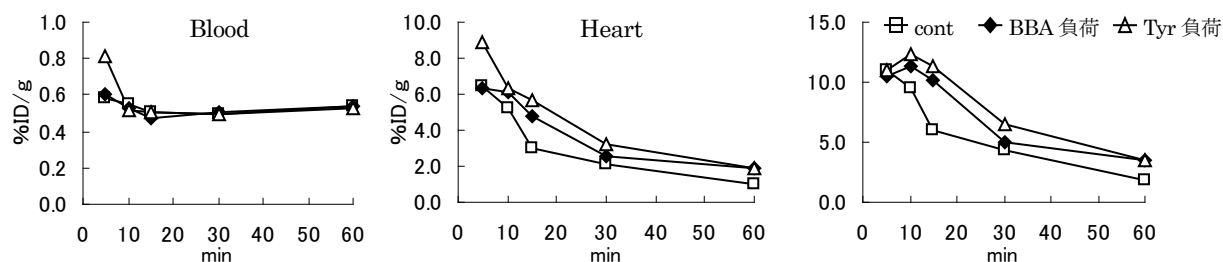


Fig.9 $^{201}\text{TlCl}$ における血液、心臓への集積率及び心臓対血液比の経時的推移

V. 謝辞

本稿を終えるにあたり、御指導くださいました川井恵一教授、吉本光喜助手、ご協力いただいた本研究室、高山、小野口研究室の方々に心より感謝いたします。

VI. 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.
- 2) Shikano N., Kanai Y., Kawai K., Ishikawa N., Endou H. Transport of ^{99m}Tc -MAG₃ via rat renal organic anion transporter 1. *J Nucl Med.* 45: 80-85, 2004.

- 3) Shikano N., Kanai Y., Kawai K., Ishikawa N., Endou H. Characterization of 3-[¹²⁵I]iodo- α -methyl-L- tyrosine transport via human L-type amino acid transporter1. *Nucl Med Biol.* 30: 31-37, 2003.