

## 34. ラットに於けるキノホルムの消化管吸収に及ぼす製剤化の影響

林 正弘, 際田 弘志, 西垣 隆一郎  
不破 亨, 栗津 荘司, 花野 学

(東京大学・薬学部)

キノホルムの消化管に及ぼす製剤化の影響を検討することを目的として以下の研究を行なった。なお吸収性の指標としてはキノホルム代謝物の尿中排泄量を, また実験動物としてはDonryu系雄ラットをそれぞれ用いた。

### I キノホルムの代謝物の尿中よりの定量

キノホルムの尿中代謝物としてはglucuronide及びSulfateの抱合体が知られている。そこで市販の $\beta$ -glucuronidase(Baehringer社製)はpH4.5に於いて $\beta$ -glucuronidase活性を, pH6.2に於いてarylsulfatase活性を持っていることを利用して, pH調節を行なうことにより, 両抱合体の分離定量を行なうことを試た。

合成したキノホルムglucuronide(東大・薬学部・田村教授より)を $\beta$ -glucuronidaseと38℃にてpH4.5及びpH6.2にてincubateしたところ, いずれのpHにててもglucuronideは100%加水分解を受ることを知った。そこで, 現在のところ, 市販酵素によるキノホルム抱合体の分離定量は不可能であるという上記知見に基づき, 尿をpH6.2に調節後, $\beta$ -glucuronidaseとincubateすることにより, glucuronide及びsulfateの両抱合体を加水分解して, キノホルムを得, これを $\text{FeCl}_3$ のキレート体として比色定量することを行なった。

なお, 尿中の遊離形のキノホルムを定量するために, 尿より遊離形キノホルムを抽出後, 上記のincubationを行なった。glucuronideは尿保存中, 経時的に分解することを知ったので, 以下の実験では採取後の尿は直ちに定量操作に移した。定量操作はchart Iの通りであった。

### II 尿中排泄パターンに及ぼす剤形の影響

粉末薬品の水中への分散性を改善するために, 分散剤としてcarboxymethyl cellulose(CMC)が添加されることがある。キノホルムの市販製剤にはCMCが添加されたものがあったこと, また投与されたキノホルムが消化管中でその分散性が変化すれば, 吸収性にも影響が表れる可能性があるという考えのもとに, 主としてCMCの影響を検討した。

キノホルムの水性懸濁液をCMCの存在下と非存在下で超音波により調製した。CMCの濃度は0.3%とした。膀胱カニューレションを施し, 一夜絶食後のラットに上記懸濁液を胃ゾンデにより経口投与し, 経時的に尿を採取して, 尿中代謝物を定量した。

ラットに5mgのキノホルムを経口投与した時の, 代謝物の累積尿中排泄率の一例をFig.1に示した。この場合には排泄率曲線には, CMCが存在する時としない時とでは顕著なパターンの差は認められなかったが, 24時間までの排泄率はCMC存在下では15.8%, 非存在下では14.2%であり,

Chart I



若干CMCの影響が認められた。なおこの場合に、遊離キノホルムを定量したところ極めて微量であったので、以後の検討は全て、抱合代謝物についてのみ行なうこととした。

次に投与量を約3倍あげて1.6 mgとした場合について同様の実験を行なった。この場合にはFig 2に示すように、排泄率についてはCMCが存在する時としない時では顕著な差が認められたが、排泄パターンについては、CMCが存在しない場合には、排泄のおくれのない場合 (Fig 2 a) も、それが認められた場合 (Fig 2 b) もあった。

次いでオリーブ油及びポリエチレン・グリコール・300 (PEG 300) にキノホルムを溶解し、そ

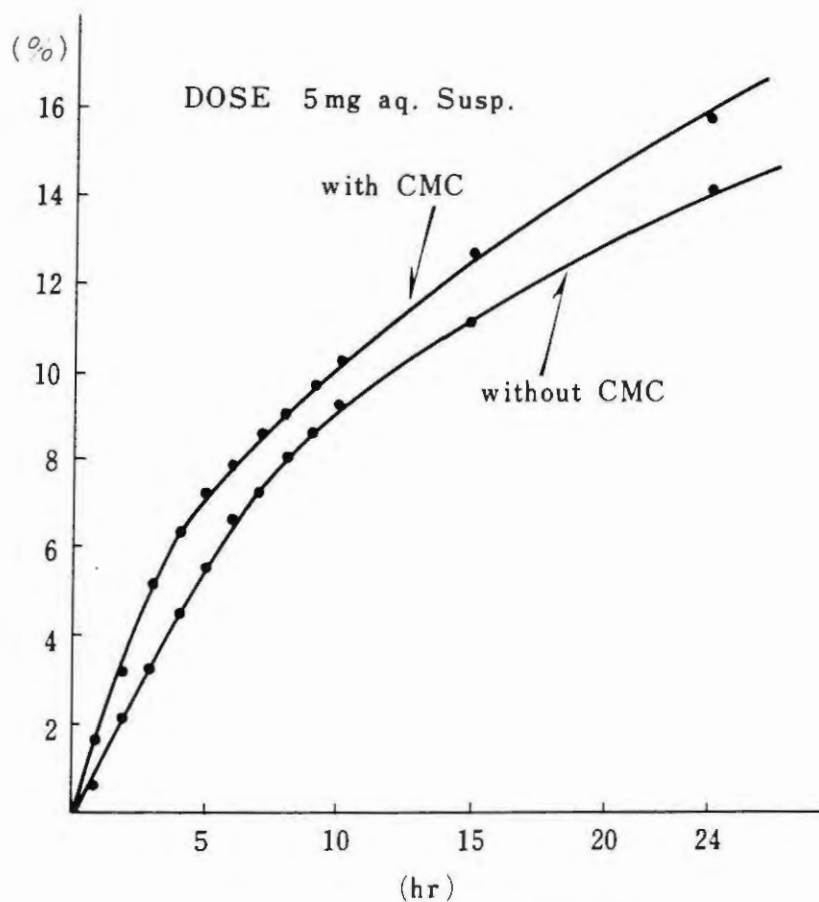


Fig. 1 キノホルムの排泄率曲線

の溶液を経口投与した時の排泄挙動を検討した。その累積排泄率曲線を Fig. 3 及び 4 に示した。オリーブ油については排泄のおくれが認められた。また PEG 300 溶液投与の場合には、排泄率の低下が認められた。

以上の如く、排泄パターンに及ぼす投与剤形の影響が認められたが、客観的表現の困難なパターン

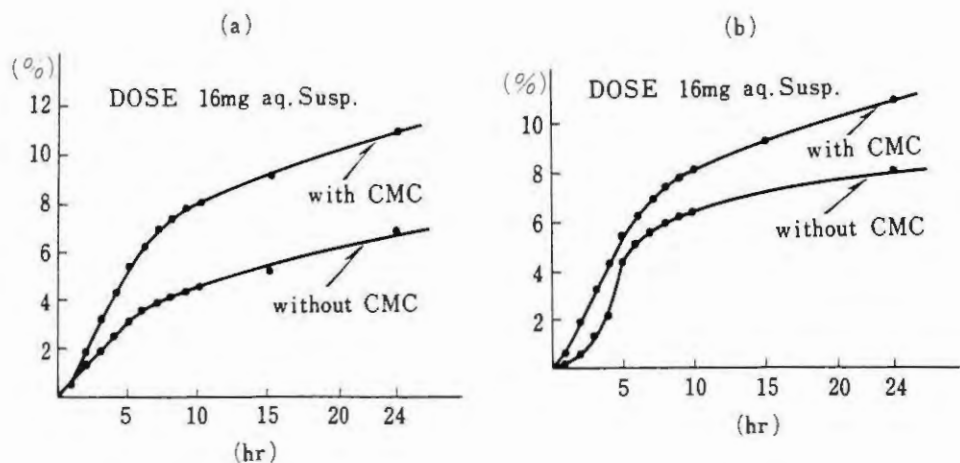


Fig. 2 キノホルムの排泄率曲線

Fig. 3 キノホルムの排泄率曲線

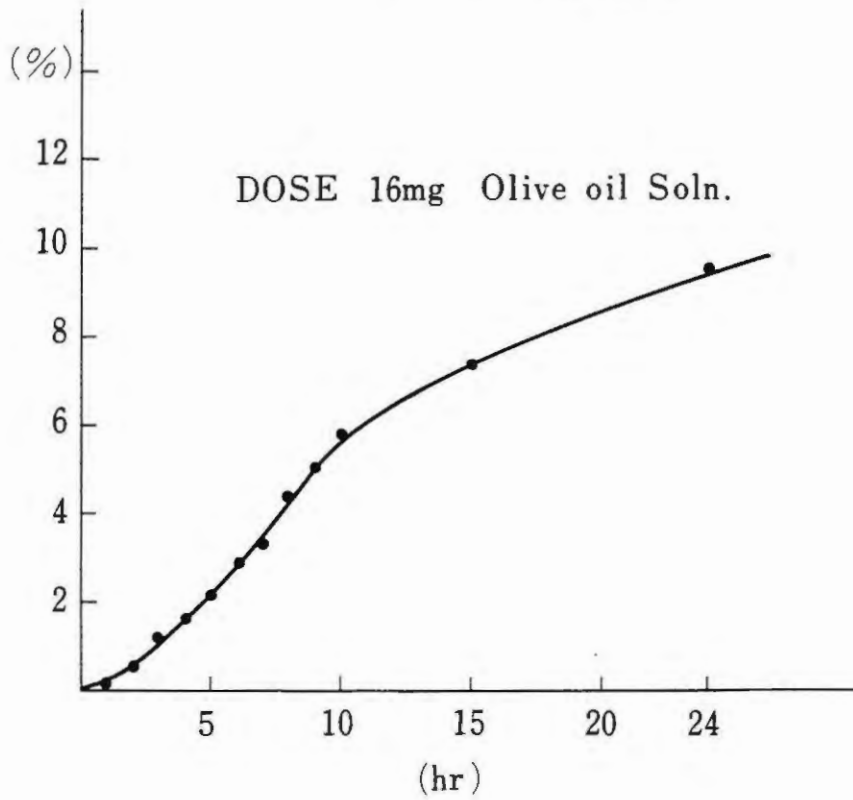
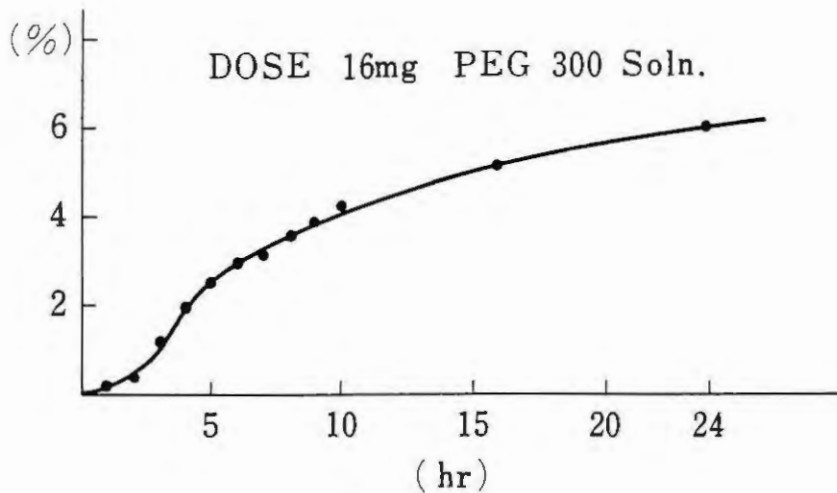


Fig. 4 キノホルムの排泄率曲線



の検討とは別に、24時間までの排泄率について以下の検討を行なった。

### Ⅲ 尿中排泄率に及ぼす剤形の影響

分散剤であるCMCの排泄率に及ぼす影響をキノホルムの投与量5mg及び16mgの2水準について、CMCの存在する時と存在しない時に分けて、各実験を3回くり返して行ない、その時の排泄率を2

元配置の分散分析法により比較検討した。その時の分散分析表をTable Iに示した。投与量及びCMCの存在の有無に関して、双方とも1%の危険率で尿中排泄率には有意の差が認められた。平均排泄率及びその95%信頼限界をFig. 5に示した。Table I及びFig. 5の結果から明らかな如く、キノホルムの投与量が大きい場合には排泄率は低く、またCMCが懸濁液中に存在しないと排泄率が低いことがわかった。また、CMCの排泄率に及ぼす影響はキノホルムの投与量が大きい場合の方が顕著となる傾向を示した。

Table I

キノホルムの投与剤形(CMCの有無)及び投与量に関する分散分析

	S.S.	$\phi$	V	F <sub>0</sub>	
A	26.11	1	26.11	16.85	**
B	112.24	1	112.24	72.41	**
A × B	4.94	1	4.94	3.19	
A B	143.29	3			
E	12.43	8	1.55		

A: Dosage Form.

B: Dose

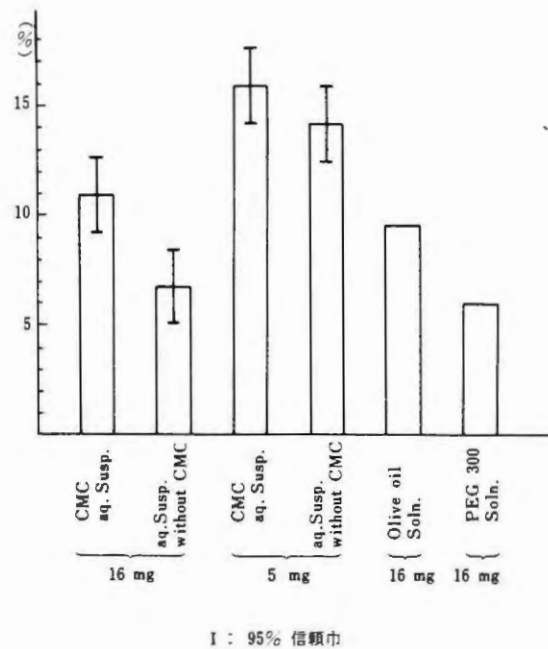


Fig. 5 キノホルムの尿中排泄率に及ぼす剤形の影響

以上の如く、経口投与したキノホルムの尿中排泄率を指標として、剤形のキノホルムの消化管よりの吸収に及ぼす影響を検討してきたが、生体内のキノホルムの一部は胆汁排泄されるという知見から<sup>1)</sup>考えて、排泄率を直ちに吸収率と見なすことはできない。そこでより直接的にキノホルムの吸収性を比較検討すべく、次の如く静注キノホルムの排泄率を基準として経口投与後のキノホルムの吸収率を求めた。

#### IV 経口投与キノホルムの吸収率

キノホルムの水性懸濁液を静注後の尿中排泄パターンはFig. 6の通りであった。投与量は予備実験により、経口投与後24時間までの累積排泄量とほぼ同程度の排泄量を静注時に与えるような投与

量として、1.6 mg及び5 mg経口投与時に対応するものを使用した。なお、投与にはCMC水性懸濁液を用いた。Fig. 6に示すように、high doseとlow doseとでは異なる排泄率を示した。24時間までの排泄率を基準として、経口投与時の吸収率を各剤形、投与量について求めた結果はTable IIの通りであった。

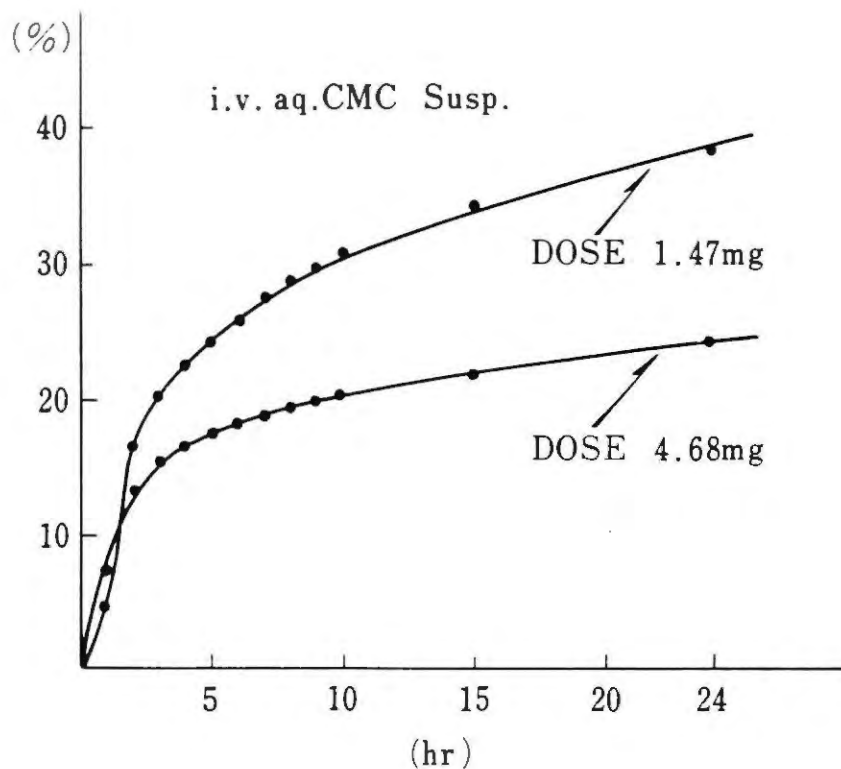


Fig. 6 静注キノホルムの排泄率曲線

Table II キノホルムの各種剤形より吸収率

		Urinary Excretion Ratio(24hr)	Availability
1.6 mg	I.V.	24.4 %	100.0 %
	CMC aq. SuSp.	11.0	45.1
	aq. Susp. without CMC	6.8	27.9
	Olive Oil	9.6	39.3
	PEG 300	6.0	24.6
5 mg	I.V.	38.6	100.0
	CMC aq. Susp	15.8	40.9
	aq. Susp. without CMC	14.2	36.8

Table IIから明らかな如く、CMCはキノホルムの吸収を増強している。しかもこの効果はキノホルムの投与量の大きい時程強くなる傾向があることがわかった。

なおキノホルム静注後のキノホルムの血中濃度を紫外外部吸収法により経時的に測定し、これをChart IIのtwo compartment modelにより解析したところ、Table IIIの如き結果を得た。

Chart II

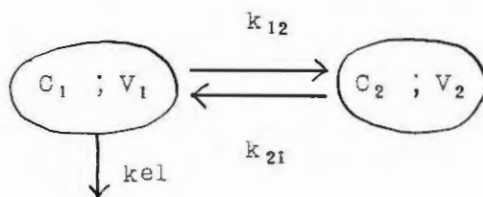


Table III

投与量 (mg)	$k_{12}$	$k_{21}$	$k_{el}$	$V_1$
4	0.222	0.0848	0.0639	660
2	0.271	0.105	0.142	43
2	0.314	0.164	0.188	42

$k : \text{min}^{-1}$

$V : \text{ml}$

## V 考察

以上キノホルムの消化管よりの吸収に及ぼす剤形の影響を、尿中排泄量を指標として検討してきたが、このような方法に対して次のような問題が考えられる。

著者らはリボラビン及び陰イオン性色素の胆汁排泄挙動について検討した結果、投与量が大い時には、投与量の小さい時に比べて急激な胆汁排泄がおこるとい知見を得ている。<sup>2),3)</sup>このような胆汁排泄に関する投与量依存性がキノホルムについてもおきるとするならば、Pulse infusionに相当する静注時と、slow infusionに相当する経口投与時とでは、キノホルム代謝物の胆汁及び尿へ排泄される割合は変化する可能性がある。本研究では静注時の投与量を100%吸収量に対応させて、尿中排泄率より、吸収量を推定しており、この点は上記の胆汁排泄にかかわる投与量依存性を全く無視していることになる。またキノホルムの主要代謝物であるキノホルムsulfateの標品の完全な合成ができない段階で尿中代謝物を酵素により分解してキノホルムを定量したということから、酵素分解の条件を十分に検討したとは言い難い点がある。以上のことから、キノホルムの排泄率より、吸収率を換算する手法には若干の問題点がある。従って排泄率及び吸収率の数値に関しては今後の検討の余地があると考えるが、キノホルムの消化管吸収に及ぼす剤形の影響の有無についての検討に関しては十分な成果が得られたものとする。

なお今後、吸収率をさらに明確にするためには、キノホルムの体内動態に関する速度論的解析が必要であり、そのためには sulfate 標品の入手と標準となるべき静注形態の検討が必要であると考える。

## VI 結 論

キノホルムの消化管に及ぼす CMC の影響を検討したところ、水性懸濁液にして投与したところでは、CMC はキノホルムの吸収を増強した。またこの効果はキノホルムの投与量の大きい時程大きくなる傾向があった。またキノホルムを溶解する溶媒を用いた液剤よりの吸収は水性懸濁液よりの吸収よりも良好であるとは言えなかった。

## 文 献

- 1) P. Ritter, M. Jerwann, *Arzneim-Forsch* 161, 1647(1966)
- 2) H. Nogami, M. Hanano, S. Awazu, T. Iga, *Chem. Pharm. Bull.*, 18, 228(1970)
- 3) T. Iga, S. Awazu, M. Hanano, H. Nogami, *ibid.*, 18, 2431(1970)



## 35. 標識キノホルムの代謝, 分布に関する研究

松岡 理 (放医研)

豊倉 康夫, 高須 俊明 (東大脳研・神経内科)

栗栖 明 (放医研)

### 目 次

#### I 研究目標

#### II 研究材料

1. 標識化合物の種類と特徴
2. 実験動物
3. 投与溶液の調整と投与方法

#### III 研究方法

1. 全身計測法
2. 全身オートラジオグラフィ
3. 組織の放射化学分析

#### IV 実験結果

1. 投与形態と消化管からの吸収率
2. 吸収率に及ぼすキノホルムの投与量, および長期投与の影響
3. 各種投与方法における全身滞留率の時間的变化
4. 投与量および長期投与の全身滞留率に及ぼす影響
5. 胆汁排泄キノホルムと再吸収
6. マウスにおける全身オートラジオグラフィによる分布の検討
7. イヌにおけるマクロオートラジオグラフィによる臓器内分布の検討
8. サルにおける全身オートラジオグラフィによる分布の検討
9. マウスにおける臓器分布の時間的变化

#### V 考察

#### VI 結論

##### I. 研究目標

本研究の目標は, すでに実験動物への投与によってスモンと類似あるいはほとんど同一の臨床症状, 病理所見が再現されつつあるキノホルムについて, 標識キノホルムを用いることによって, 代謝, 分布の面から定性的, 定量的検討を行い, スモンとキノホルムの関連性をあきらかにすることである。

## II. 研究材料

### 1. 標識化合物の種類と特徴

本研究には図1に示すとき<sup>131</sup>I標識化合物と<sup>14</sup>C標識化合物の両者が実験の内容に応じて使い分けられたが、その根拠になった両者の特徴を列挙すると次の如くである。

<sup>131</sup>I標識化合物は安価で比放射能が<sup>14</sup>C標識より高く(39.6mCi/m.mol),ガンマ線を放出するのでin vivoの体外計測が可能という利点があるが、半減期が短いため長期実験に不適當であり、かつ標識が<sup>14</sup>C標識の場合にくらべて不安定と考えられ、オートラジオグラムでの解像力も悪い。

<sup>14</sup>C標識化合物は高価で比放射能力が低く(1.63mCi/m.mol.),体外計測は不可能という欠点があるが、半減期が長く、長期実験に耐え、標識も安定で、オートグラムでの解像力が高い。この両者のオートグラフィにおける問題点はすでに報告した<sup>1)</sup>。

### 2. 実験動物

実験動物としてはキノホルム代謝の動物差と、実験の容易さの関係で種々の動物が用いられた。すなわちマウス(CRF1:CF#1とRFの一代雑種),ラット(Wistar),イヌ(雑種およびビーグル犬),そしてサル(カニクイザル)がそれぞれの実験によって使い分け使用された。

### 3. 投与溶液の調整と投与方法

キノホルムは水に不溶のため、実験動物に対する投与溶液の調整が非常に大きな問題になる、種々の検討の結果、静脈注射には0.1規定カセイソーダ溶液が、腹腔内注射にはオリーブ油溶液、皮下注射にはオリーブ油溶液、経口投与にはオリーブ油溶液、CMC乳化液、そして水懸濁液が選ばれた。

## III. 研究方法

研究方法としては全身計測、全身オートラジオグラフィ、組織の放射能分析の三つの手段が実験の目的に応じて組合せて用いられた、これらの方法の方法論的意義についてはすでに松岡が論じている<sup>2)</sup>。

### 1. 全身計測法

<sup>131</sup>I標識化合物はARMA C全身カウンターを用いて、マウスのin vivoの全身計測、および消化管吸収率の測定のための摘出消化管、残りの体全体の放射能の測定が行われた。

#### 5-Chloro-7-Iodo-8-Hydroxy-Quinoline

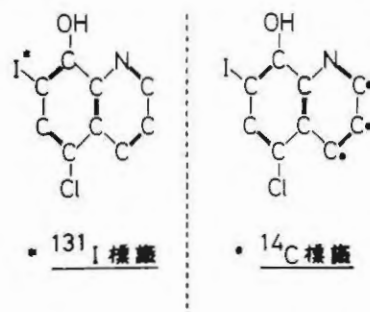


図1 標識キノホルム

## 2. 全身オートラジオグラフィ

松岡が開発した方法<sup>3)</sup>にもとづいて、凍結ボックス内に組込まれ自動化されたマイクロームを用いて全身凍結切片の作製が行われた。

## 3. 組織の放射化学分析

組織の標本は<sup>131</sup>I 標識のものは ウェルカウンターにより,<sup>14</sup>C 標識化合物に関しては組織をソルエン-100にて溶解したのちトルエンシンチレーターを加え、液体シンチレーションカウンターにより計測した。

## IV. 実験結果

### 1. 投与形態と消化管からの吸収率

マウスにオリーブ油溶液<sup>4,6)</sup>, CMC乳化液<sup>4,6)</sup>, 水懸濁の三つの投与形態で経口投与し, 2時間後に殺し, 全消化管を摘出し, 消化管以外の部分, 存在する放射能と体全体にとりこまれた放射能との比により吸収率を推定したものが第1表である。表に示すごとくどの投与形態でもキノホルムはかなりよく吸収されることがわかった。

表1 <sup>131</sup>I 標識キノホルムの消化管からの吸収率

m. ± s. e.

剤 形	投 与 量	動 物 数	2時間後の推定吸収率
オリーブ油溶解	14~24 mg/Kg	6匹	23.9 ± 3.5 %
CMC 乳 化	20 mg/Kg	6匹	17.6 ± 4.9 %
水 懸 濁	ca. 40 mg/Kg	5匹	29.4 ± 1.7 %
ラット胆汁排泄キノホルム	ca. 1.2 mg/Kg	6匹	10.1 ± 1.5 %

### 2. 消化管吸収率に及ぼすキノホルム投与量と, キノホルム連続投与の影響

一定量の標識キノホルムに非放射性のキノホルムを混合して投与量を変え, 吸収率の投与量による変化をしらべた結果は第2図の如くで, 吸収率は投与量が増すといちじるしく減少することがわかった。しかしヒトの最大投与量の範囲では吸収の絶対量は投与量の増加と共に増大することがあきらかになった。

市販CMC乳化キノホルムを飲料水に混ぜて(0.3g/l)をマウスに2ヶ月以上毎日与えた投与群の消化管からの吸収率の推定の結果は両群の間に有意の差がみとめられなかった。

### 3. 各種投与方法における全身滞留率

マウスに経口, 静脈, 皮下, 腹腔の4つの投与方法で<sup>131</sup>I 標識キノホルムを1回投与したときの全身滞留率の時間的变化は第3図の如くで, いづれの投与方法でも最初の1~2日に急速な減少があり, それにひきつづいてゆるやかな減少がみとめられた。経口投与の場合は吸収されないで直接排泄されるものがあるので最初の1日目の減少が他の投与方法にくらべて著しかった<sup>4,6)</sup>

### 4. 投与量および長期連続投与の全身滞留率に及ぼす影響

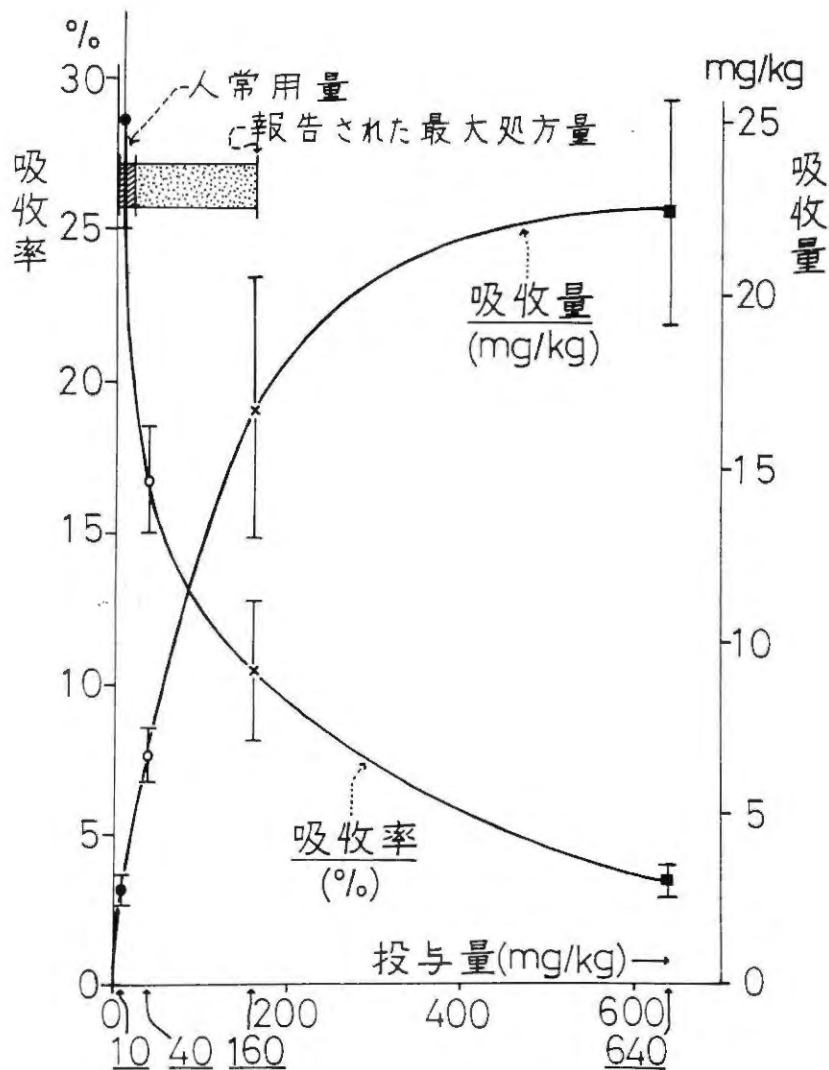


図2  $^{131}\text{I}$  標識キノホルムマウス消化管からの吸収  
— 投与量による変化 —

各群6匹のマウスに  $^{131}\text{I}$  標識キノホルムをそれぞれ、 $10\text{mg/Kg}$ 、 $40\text{mg/Kg}$ 、 $160\text{mg/Kg}$  の投与量になるようにして1回経口投与し、全身滞留率の時間的変化をしらべた結果が第4図a)である。これは体内の絶対量の変化に書き換えたものがりである。図に示すように投与量が増加すると滞留率は低下する、しかし体内の絶対量の滞留は投与量の増加によって増加することがわかった。

2群のマウスの1群に市販CMC乳化キノホルム製剤を飲料水に混ぜて ( $0.3\text{g}/\ell$ ) 2ヶ月以上与えたものと、常水を与えた対照群について投与中止1日後に  $^{131}\text{I}$  標識キノホルム ( $40\text{mg/Kg}$ ) を経口投与して全身滞留率をしらべた結果は第5図の如くで、図5の示す如くキノホルム水投与群は滞留率が対照に比しいちじるしく低いことがあきらかになった。

#### 5.胆汁排泄キノホルムと消化管からの再吸収

後述の全身オートラジオグラフィ、組織の放射能分析の結果からキノホルムが非常に早期から胆汁に非常に高濃度に、また長期間にわたって持続することが推定され、肝腸循環が予想されたので、これをラットを用いて実験的にたしかめた。あらかじめ胆管にカニューレションしたラットにオリーブ

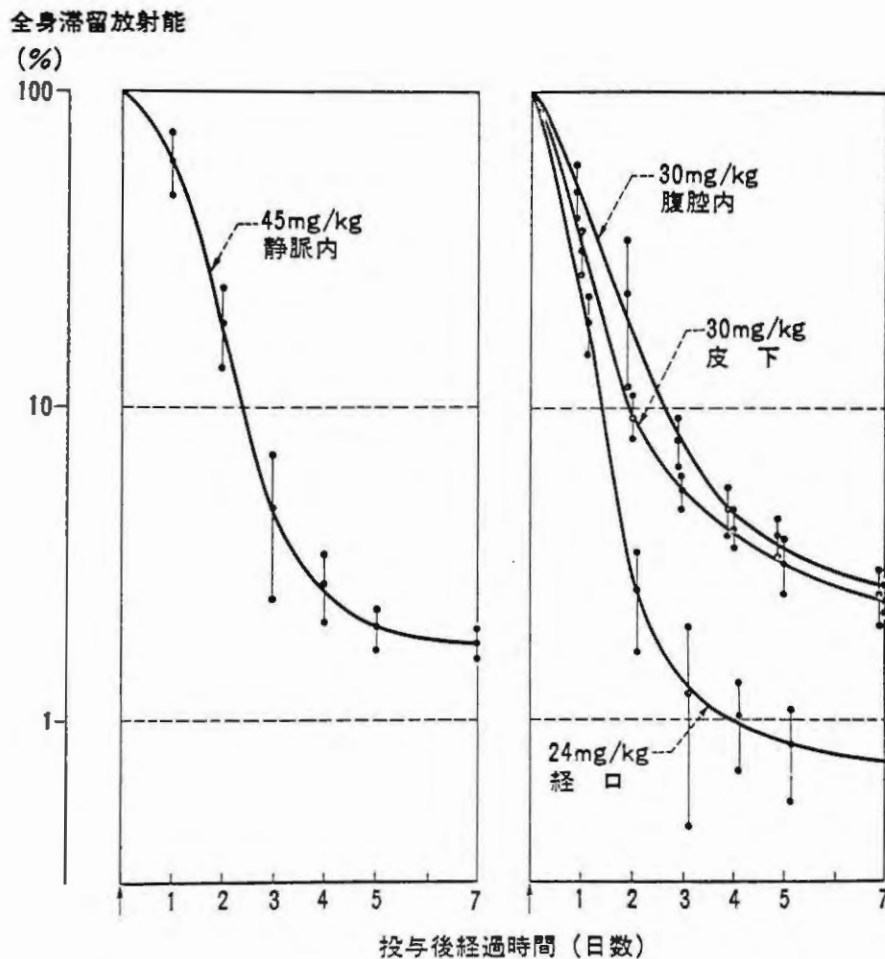


図3  $^{131}\text{I}$  標準キノホルムのマウス体内滞留率の経時的推移

油に溶解したキノホルムを胃ゾンデにより経口的に  $1\text{ ml}$  投与した (キノホルム量として  $5.1\text{ mg/Kg}$ ) , このときの胆汁への  $^{131}\text{I}$  の排泄を胆汁の時間的採取により追跡し, その濃度および投与量に対する排泄量の一例を示したものが第6図である。図に示すごとく投与後4時間の間に投与量の22%が胆汁中に排泄され, その濃度の最大は3時間後であった。これらの胆汁を集め, 均一に混合したものを7匹のマウスに経口的に投与して, 胆汁中に抱合型で排泄されたキノホルムの吸収をしらべた結果は第1表の如くで, 対照に比し少いがかなりの再吸収がみとめられた<sup>8)</sup>。

#### 6. マウスにおける全身オートラジオグラフィ

マウスに  $^{131}\text{I}$  - 標識キノホルムおよび  $^{14}\text{C}$  標識キノホルムを各種の投与方法で与え, 凍結全身オートラジオグラムを作った。

##### 1) $^{131}\text{I}$ 標識化合物による検討

$^{131}\text{I}$  キノホルムの静注によって得たオートラジオグラム観察の所見をまとめると次の如くなる。まず静注後1時間のオートラジオグラムは第7図の如くで肝臓, 胃臓, 胆嚢への集中がいちじるしく血液中よりはるかに高い黒化を示した, この外皮ふや鼻腔内にもかなりの黒化がみられた。投与後24時間目の所見では, 第8図に示すごとく, 肝臓, 黒化はいちじるしく減少しているが, 胆嚢

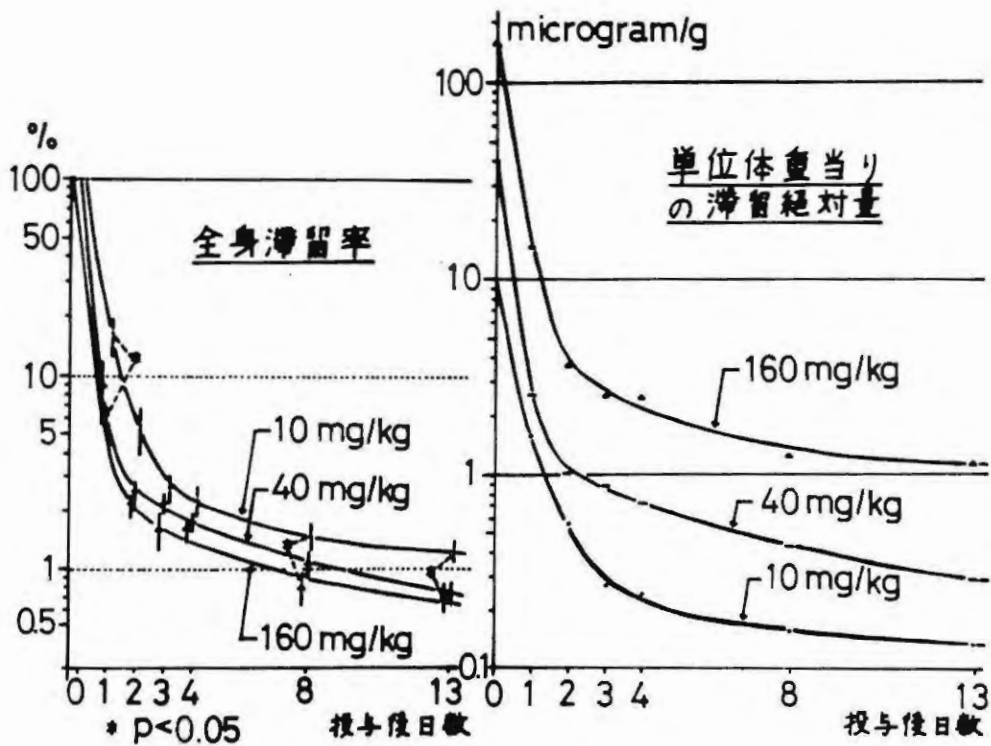


図4  $^{131}\text{I}$  標識キノホルム1回経口投与後のマウス全身滞留  
に及ぼす投与量の影響

および消化管内胆汁の黒化が最大で、キノホルムの体外排泄に腎臓以外の胆汁系を介するものが大きいこと、したがって肝腸循環が推定された。神経系に関する全身オートによる検討としては詳細は協同研究者の豊倉の報告にゆづるが、一般に脳背髄等の中核はいづれの時間でも黒化は非常に低く、それに対し、24時間後のオートグラムでは背髄神経、坐骨神経に著明なとりこみがあることが確認された<sup>4,6)</sup>

$^{131}\text{I}$  標識キノホルムからの  $^{131}\text{I}$  の遊離に関しては、サイロイドブロックを行わないマウスの使用および  $\text{Na}^{131}\text{I}$  単独投与の全身オートおよび後述の  $^{14}\text{C}$  標識キノホルムの分布の比較検討の結果から最初の1時間では問題にならないが24時間後では数%程度の遊離がおきているものと推定された<sup>1)</sup>

## 2) $^{14}\text{C}$ 標識キノホルムの全身オートグラフィによる分布の検討

$^{14}\text{C}$  キノホルムの静脈投与の結果はほぼ  $^{131}\text{I}$  の場合と同様であったが、 $^{131}\text{I}$  標識の場合とことなり甲状腺およびだ液腺への分布の様子がことなつた。静注後1時間での全身分布は第9図の如くで、最高の黒化は腎(とくに腎盂)と胆汁(胆嚢内および腸管内)に認められた。次いで肝、鼻腔の一部の黒化が強く、血液、皮ふ、骨髄、唾液腺、脾臓、坐骨神経の順で黒化の程度は減少した。静注6時間後では、やはり腎、胆汁ついで鼻部の黒化がいちじるしく、次いで肝、血液、皮ふ、Brown

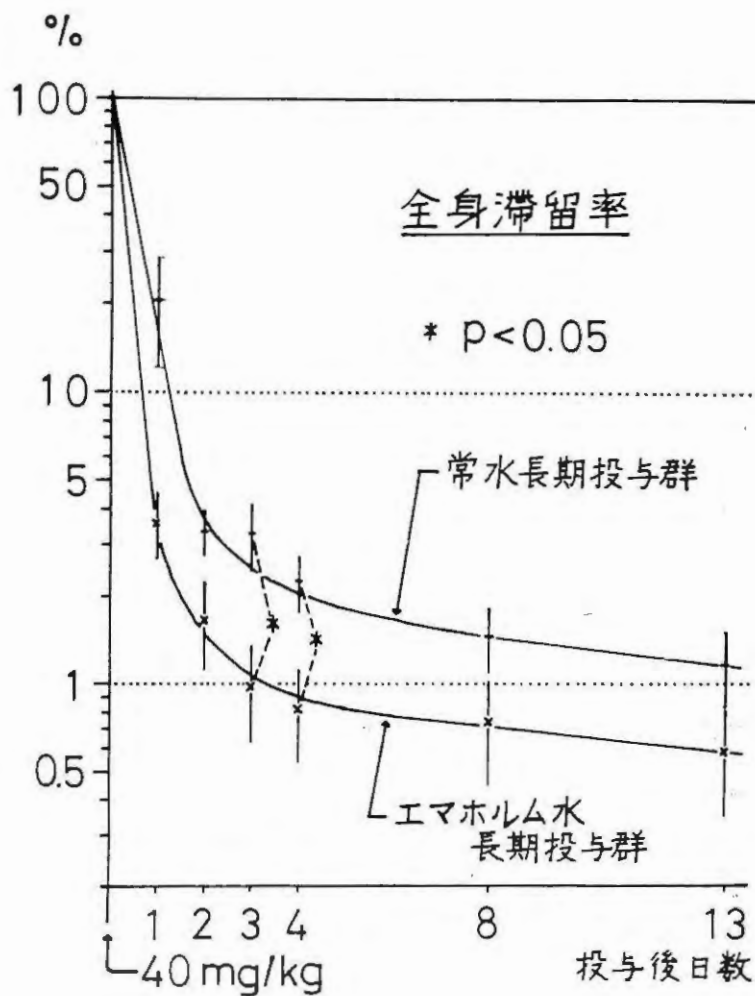


図5  $^{131}\text{I}$ 標識キノホルム1回経口投与後全身滞留量  
—長期投与の影響—

fat, 脾臓, 睪丸, 骨格筋, 背髄神経, 三叉神経の順序で黒化が減少していた。静注24時間後になると最高の黒化は胆汁, 腎実質の一部, 鼻腔にありついで肝, 胃内容, 坐骨神経, 背髄神経, 血液の順で黒化の程度は減少した。静注24時間後には全体のレベルはかなり下がっているがやはり, 胆汁, 肝, 腎の黒化が最も高く, 坐骨神経, 皮ふなどの順で黒化が減少した。これらの成績は肝腸循環が腎からの排泄と共に大きな役割を果していることを推定させるものであり, 末梢神経へのとりこみは中程度であるが初期は周辺組織が高いためあまり目立たないが, 比較的長期にわたって持続し, 周辺組織の黒下が低下すると著明にみとめられるようになることがわかった。

腹腔内投与の場合は初期の腹腔内残存の場合をのぞいて6時間以後は静脈内投与の場合とほとんど同じであった。

経口投与はオリブ溶解およびCMC乳化のものを胃ゾンデが投与したが, 24時間後の分布の

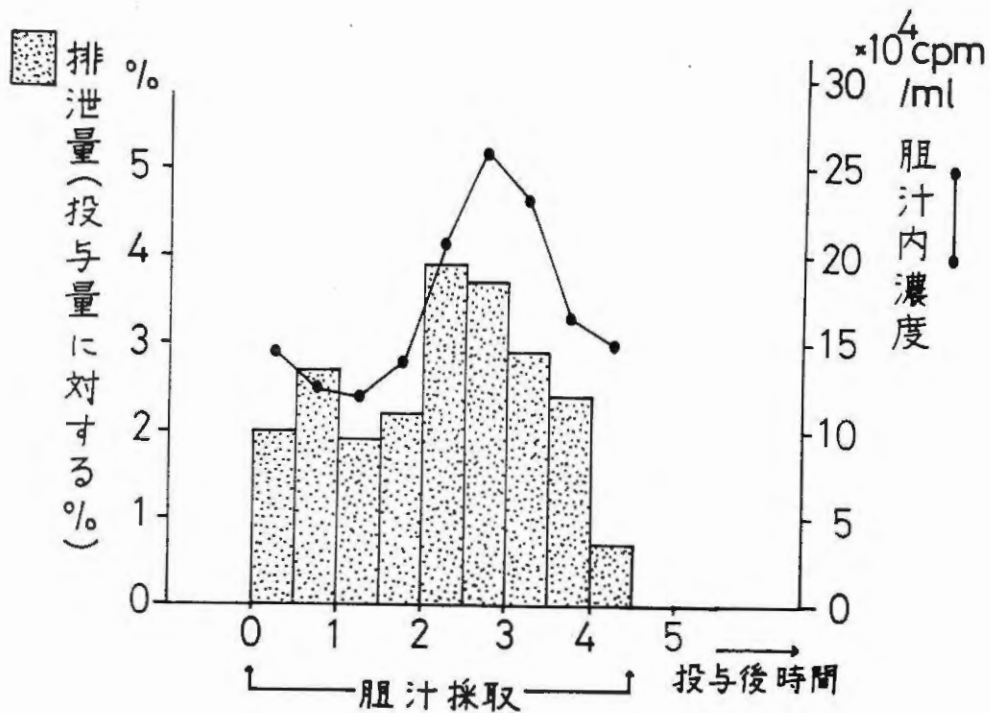


図6  $^{131}\text{I}$  標識キノホルム 1 回経口投与後  
( $5\text{mg}/\text{Kg}$ ) のラット胆汁への排泄

パターンには他の投与方法の場合と大差はなく、経口投与によっても確かに消化管から吸収され、とくにオリーブ油溶解のものの方がよいと思われる成績を得た<sup>4)</sup>

#### 7. イヌにおけるマクロオートによる臓器内分布の検討

キノホルムの投与によりスモンの臨床、病理組織学的所見において最も類似した所見を再現したといわれるイヌについて  $^{131}\text{I}$  標識化合物により検討した、本研究にあたっては全身の各臓器のレベルの比較は摘出した各臓器からの標本を同一フィルムとコンタクトすることにより比較することにし、目標は各々の臓器をその特性を最もよく表示し得る角度でそれぞれ切片を作り、臓器内とくに神経系での分布の微細構造をしらべる点に留意したこと、第2の目標として、従来とかく問題になった臓器中に含まれる血液中のキノホルムのこれらのオートグラムへの寄与の問題をあきらかにする点に留意した。

##### 1) $^{131}\text{I}$ 標識人血清アルブミンによる実験

体重  $3\text{Kg}$  の雑犬に  $5\text{mCi}$  の  $^{131}\text{I}$  標識人血清アルブミンを静注し9分後に  $\text{KCl}$  の静注で殺し、全身の各臓器を摘出し、マクロオートグラフィを行い臓器内の正常血液分布をしらべた。結果の1例として、腎の場合についてキノホルムの分布と比較して示したものを第10図に示す。

背髄断面での血液分布、脳内での血液分布などがこの方法によりあきらかにされた<sup>5)</sup>

##### 2) $^{131}\text{I}$ 標識キノホルムによる実験



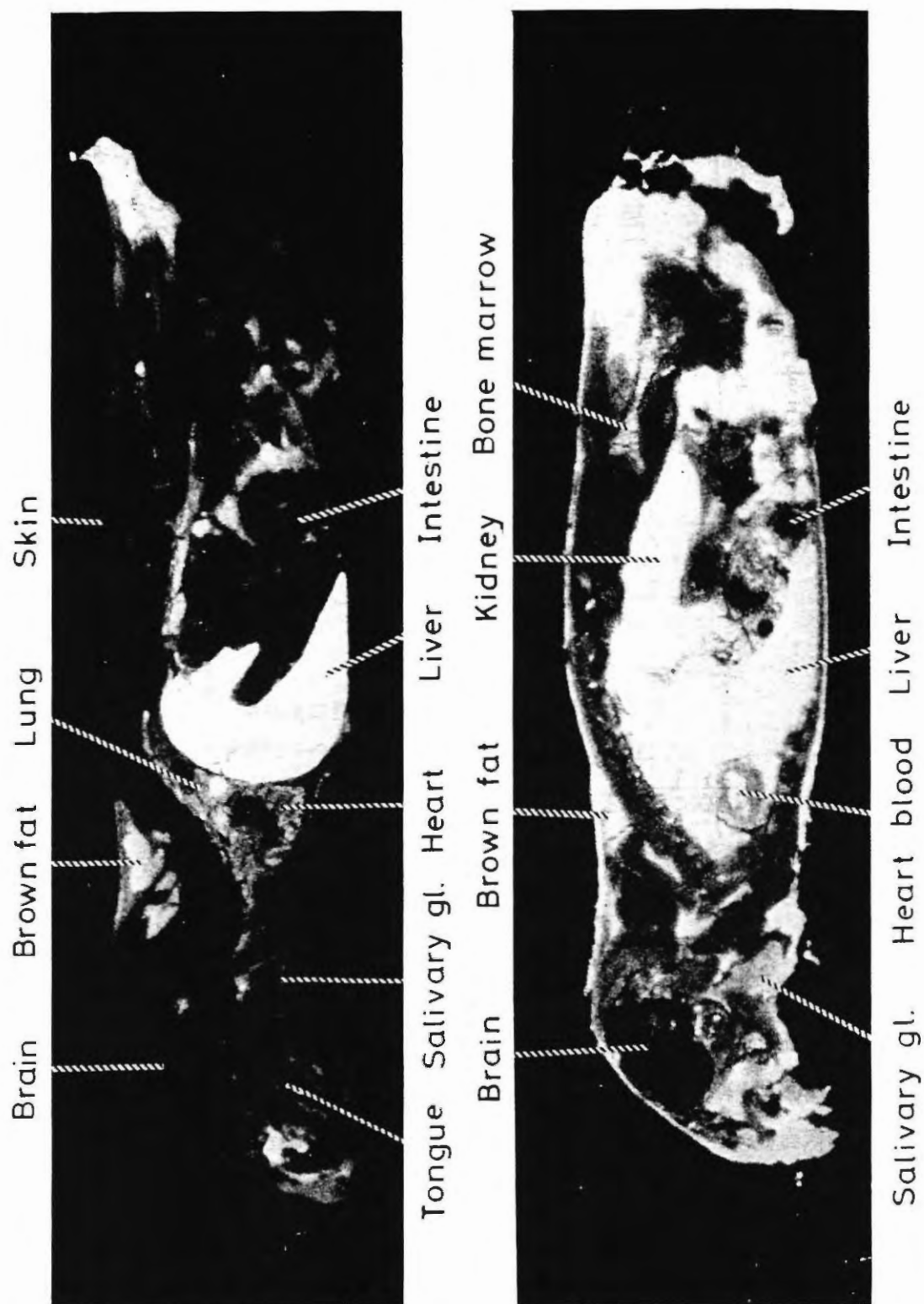


図7  $^{131}\text{I}$ 標識キノホルムによるマウスの全身オートラジオグラム  
( $4.5\text{mg}/\text{Kg}$  静注後1時間)

- a 正中を通る矢状断
- b 左側を通る矢状断

図 8



図 9

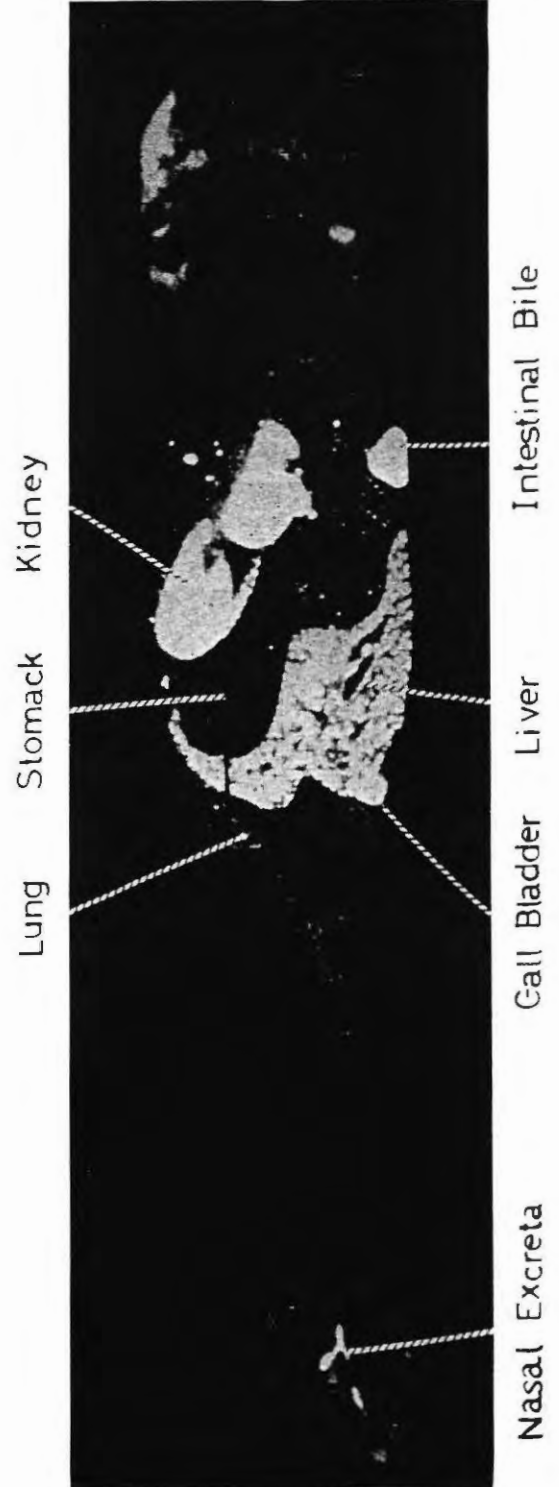


図 8  $^{131}\text{I}$  標識キノホルムによるマウスの全身オートラジオグラム  
( $60\text{mg}/\text{Kg}$  腹腔内注射後 4 時間)

正中を通る矢状断面

図 9  $^{14}\text{C}$  標識キノホルムによるマウスの全身オートラジオグラム  
( $45\text{mg}/\text{Kg}$  静注後 1 時間)



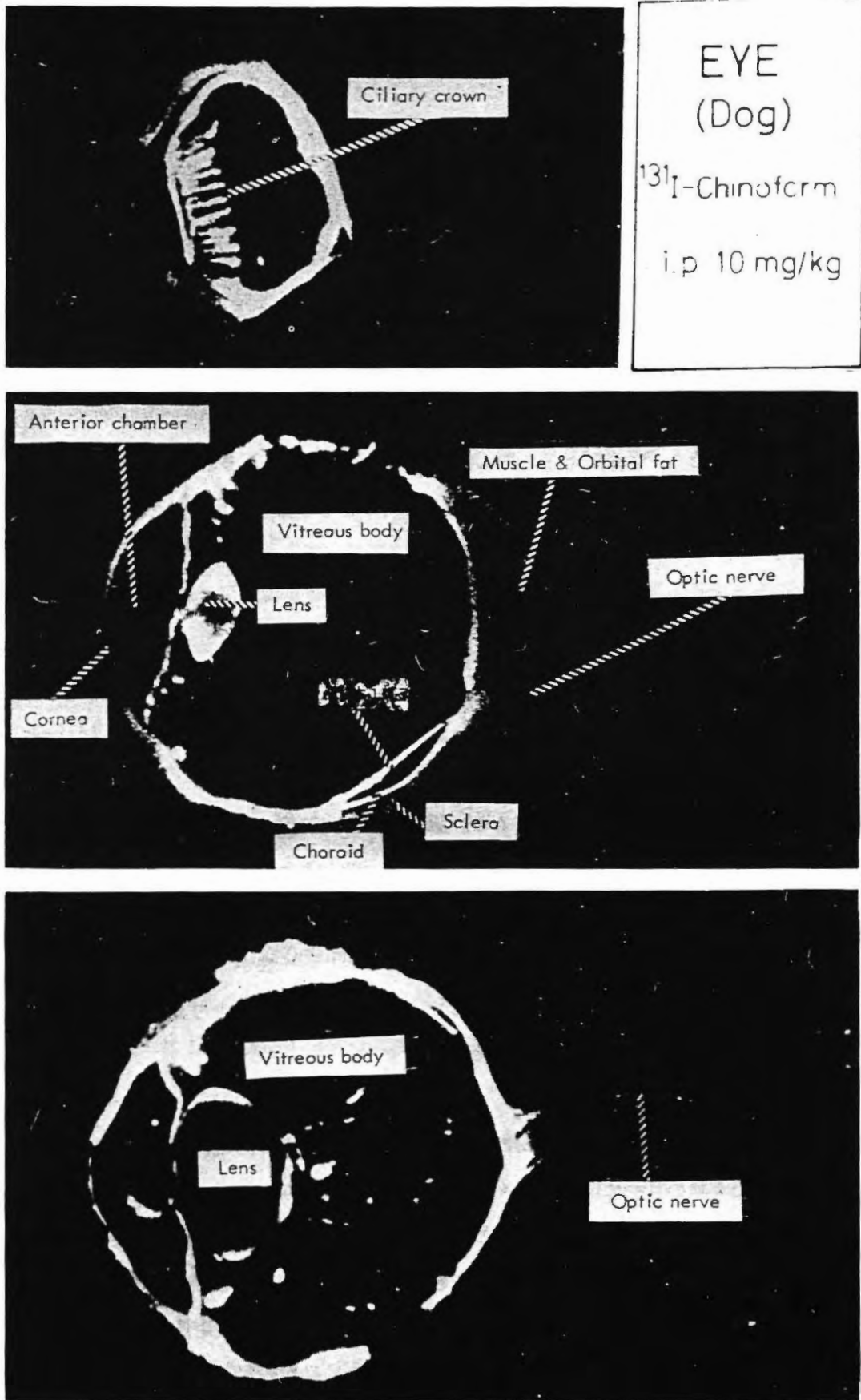


図11 イヌの眼球および視神経における $^{131}\text{I}$ 標識キノホルムの分布

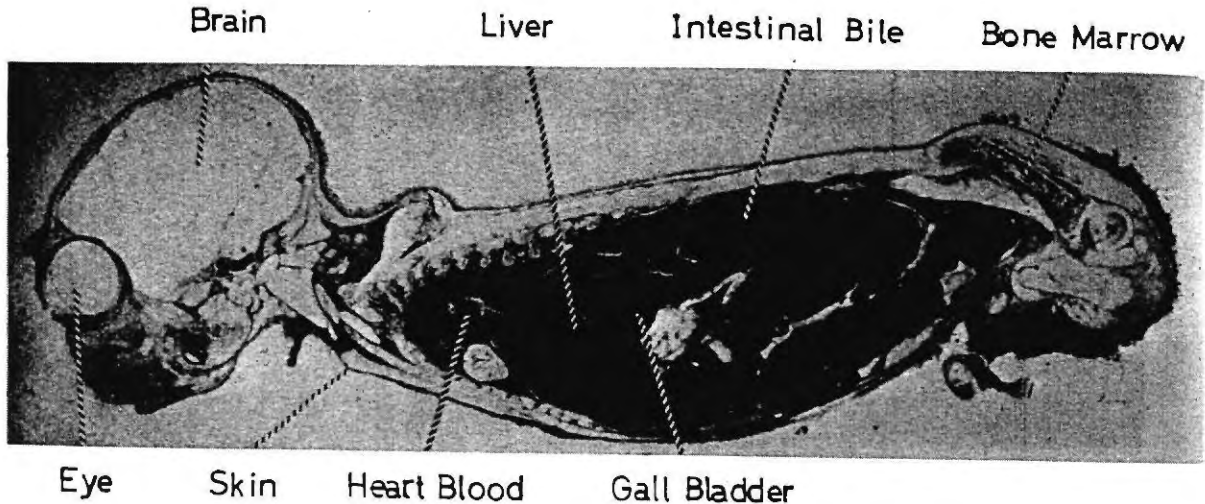


図 12  $^{14}\text{C}$  標識キノホルムによるサル全身オートラジオグラム

間では腹腔内にオリーブ油の残存をみとめたがキノホルムはその部分からほとんど完全に消失していることが注目された。

#### 9. マウスにおける臓器分布の時間的变化

臓器分布の時間的推移に関してはすでに $^{131}\text{I}$  標識および $^{14}\text{C}$  標識キノホルムによるマウスの全身オートラジオグラフィによって定性的にはほぼ推定されているが、定量的なデータを得るために、マウスに $^{14}\text{C}$  標識キノホルムをオリーブ油に溶かして腹腔内投与し、1 時間後、6 時間後、24 時間後、2 日後、7 日後に各点 6 匹づつを殺して、組織をとりだし、ソルエン溶解法により液体シンチレーション計測を実施した結果は第 13 図の如くである。臓器によって肝臓のように最初のとりこみが高いと急速に減少するものと坐骨神経のように最初は低いとその値があまり減少しないものがあることがわかった。また坐骨神経は常に血液よりも高濃度で、しかも脳にくらべると一桁以上高い値を常に保っていることがあきらかになりキノホルムの末梢神経への特別な親和性が $^{131}\text{I}$  標識のみでなく $^{14}\text{C}$  標識でも確認された<sup>4)</sup>。1 週間以後の経時的变化に関しては現在 3 ヶ月までの検討を続けているが最終的データのまとめがまだ終わっていないので今後の報告にゆずる。

#### V. 考 察

水に難溶のキノホルムを如何なる形で動物に投与するかが本研究の開始にあたっての最初の問題点であった。このため実験の目的に応じて種々の投与剤型がこころみられた。水に難溶のキノホルムにもかかわらず、いずれの投与剤型でもかなりの吸収率を示すことがあきらかにされたことは、すでに吸収を示すいくつかの定性的な報告が外国文献にあるにもかかわらず改めて考えさせられた。しかもこの高い吸収率が比放射能の高い $^{131}\text{I}$  標識化合物によって始めてヒトの常用量附近の投与量での吸収測定が可能になったもので、感度の悪い測定法を用いる場合は必然的に高い投与量を用いることになり、そのためいちじるしく低い吸収率を推定する危険性があることをこのデータは示している。キノホルムの連用によって吸収率が変化しないことがみとめられたことは、連続投与が通常の薬物だけに

要性が理解される。

全身オートグラフィの所見および胆汁の測定から肝胆汁系へ移行することはあきらかであるが、他の研究者によってその大部分がグルクロナイド抱合している、或は硫酸抱合しているとすでにあきらかにされている。胆汁中に排泄されたキノホルムが果して再吸収されるか否かを実際にマウスに経口投与して吸収をしらべた結果、通常のキノホルムにはおとるがかなりの吸収率を示したことにより肝腸循環が確実に立証された。このことは坐骨神経などのおそいとりこみ、おそい排泄の臓器へのキノホルムの蓄積には重要な意味をもつものと考えられる。

各種の動物の全身オートラジオグラフィおよび種々の臓器のマクロオートラジオグラフィによって通常の組織の放射能分析では解析または発見が困難な情報が多数得られたことは、全身オートの意味および各種の研究法を組合せることの重要性をはっきり認識させた。一つは組織の放射能分析の前の General survey としてどの臓器が問題であるかを、通常は測定項目に入らない多数の臓器のとりこみをあきらかにし、鼻腔内、坐骨神経、三叉神経、背髄神経等のとりこみをあきらかにし得た。もう一つは、イヌにおける摘出臓器のマクロオートグラフィにより臓器内における分布の不均一性をあきらかにし、背髄神経根や節の背髄にくらべて著しいとりこみ、視神経にくらべての眼球の各部とくに網膜への高いとりこみなどはこの方法によって始めてあきらかにし得たものである。サルの全身オートグラムにおける腹腔内残存オリーブ油の中から  $^{14}\text{C}$  標識キノホルムが完全に移行している様子などもこの方法によってのみあきらかにし得たものであった。

本研究で得られた以上の実験結果はスモンの病因としてキノホルムの中毒症であると仮定した場合にも、特別の大きな矛盾はなく、かえって、代謝、分布の形態はキノホルム中毒症として説明するのに有利な点が多くあることがあきらかになった。

しかし以上の研究はすべて正常状態の実験動物についてなされたものであることは、スモンの臨床的見地からは前駆症状としての消化症状のある病的状態で投与されていることを考えると、今後は各種の病的状態で代謝研究が望まれるし、反復投与による抱合能の変化、他の酵素係の変化等を考えると、長期反復投与による代謝研究が今後期待されるが、ヒトと実験動物の生物学的時間の相異に由来する投与間隔、投与期間の設定、その他アイソトープ取扱上の技術的困難など、反復投与の実験には多くの問題が残されているが、今後の努力による解決が期待される。

## VI. 結 論

スモンとキノホルム代謝との相関関係をしらべるため、マウス、ラット、イヌおよびサルの4種の動物に  $^{131}\text{I}$  標識および  $^{14}\text{C}$  標識のキノホルムを各種の投与剤型および各種の投与経路で与え、代謝、分布を検討した。

標識キノホルムはどの投与剤型、どの投与方法でもよく吸収され、体内の各臓器へ分布することがわかった。肝胆道系と腎臓などの排泄系が高く、中枢神経系には非常に低いとりこみに対し、坐骨神経等の末梢神経にはかなりの高いとりこみが投与後、ある程度の時間の経過のちには他の組織にくらべ

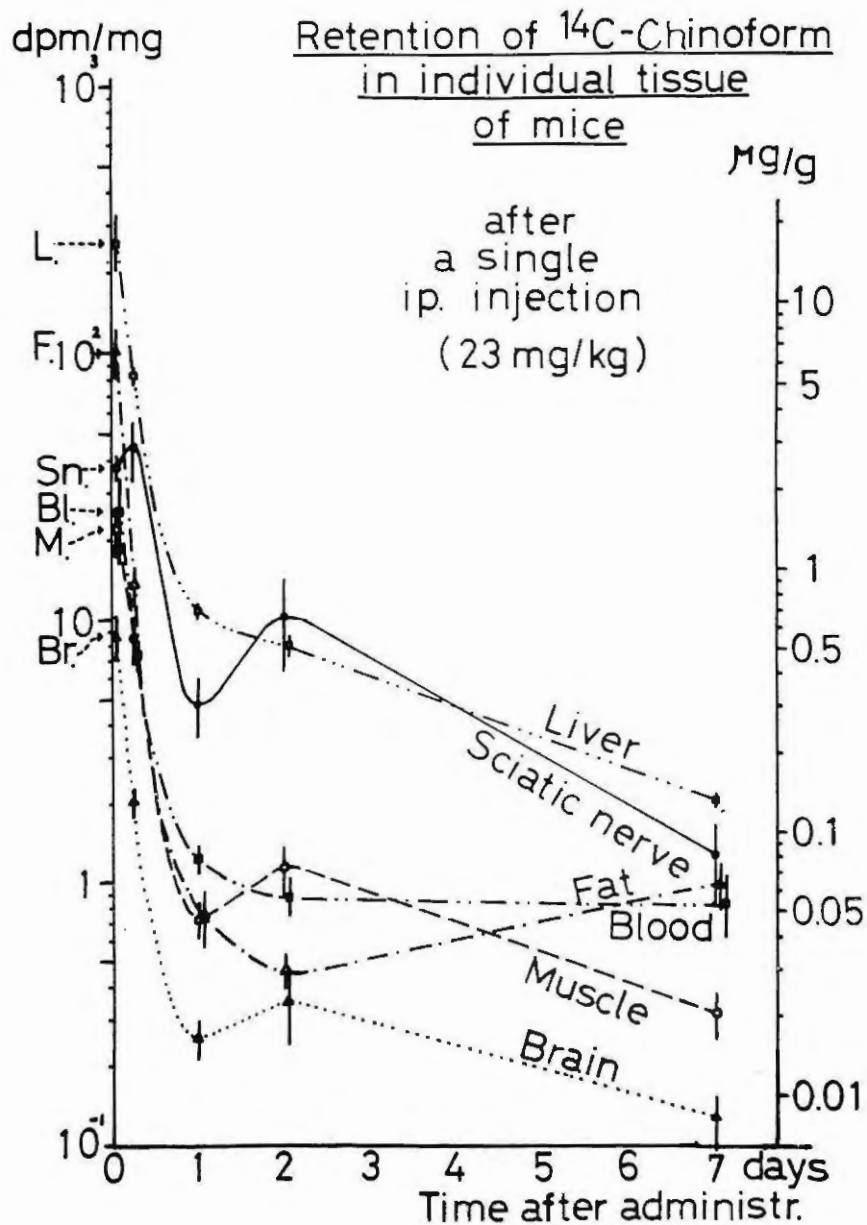


図13 マウスの臓器における  $^{14}\text{C}$  標識キノホルムの分布の変化

慢性蓄積につながる現象として意義があると考えられる。全身滞留率の時間的変化に関する検討の結果はいづれの投与方法でも最初の1~2日の速い減少の成分とそれにつづく非常にゆっくりと減少する成分にわけられ、経口投与の場合の全身滞留率の投与量による変化は、吸収率の変化と、初期の減少の程度が投与量によって変化するためと考えられた。したがって大量投与によって排泄のおそい部分のレベルは比例的ではないが上昇することがあきらかになった。キノホルムの連続投与によっては吸収率は変化しないが、初期の急速排泄部分が常水投与のものにくらべて促進されることは、実験動物による中毒再現に漸増法が用いられているのと考え興味があふかい、またヒトではもともと下痢等の消化管の前駆症状があつて投与され、症状が治ゆし、更に便秘等に移行すると考えると漸増法の必

て有意に示されることがわかった。

マウス、イヌ、サルの3種の動物についてオートラジオグラフィを実施した結果はキノホルムの分布に本質的な動物差はみとめられなかった。またイヌにおけるマクロオートラジオグラフィにより臓器内分布の微細構造がはっきりとされ、とくに眼球と視神経に対するキノホルムの特異なとりこみの関係、背髄と背髄神経根や節の関係など、この方法によってのみ可能な情報が得られた。

ラットとマウスを用いての実験からキノホルムの肝腸循環が立証された。

以上の結果はスモンの病因としてキノホルムを考える場合に特別な矛盾はなく、むしろよく支持すると考えられる。しかし本研究がすべて正常動物によって行われたことは、スモンの場合の消化管の前駆症状のある病的状態に投与されたことに対応する実験的検討と、長期反復投与の場合の代謝、分布の変化検討が今後の問題点として残されている。

#### 文 献 (原著および総説)

- 1) 松岡理, 永沼真理子, 高須俊明: 全身オートラジオグラムの解釈に影響する要因の研究, I 標識元素の種類にもとづく影響, (1)  $^{131}\text{I}$  標識と  $^{14}\text{C}$  標識の場合の比較, Radioisotopes(1972), 21, 23
- 2) 松岡理: 代謝研究と放射能計測(1), 放射線科学(1971)14, 149, 代謝研究と放射能計測(II), 放射線科学(1971), 14, 172.
- 3) 松岡理: 全身オートラジオグラフィ最近の進歩, 臨床科学(1972), 8, 89.
- 4) 高須俊明, 豊倉康夫, 松岡理: 放射性標識によるキノホルムのマウス体内分布および代謝の研究, 医学のあゆみ(1971), 79, 25.
- 5) 高須俊明, 豊倉康夫, 松岡理: イヌにおける  $^{131}\text{I}$  標識キノホルムの分布および代謝 とくに網膜および視神経への摂取, 医学のあゆみ(1971), 79, 75.
- 6) 高須俊明, 豊倉康夫, 松岡理: キノホルム (5-Chloro-7-Iodo-8-Hydroxy-Quinoline) の神経系に対する作用機序の研究 第1報  $^{131}\text{I}$  標識キノホルムのマウス消化管からの吸収, 全身滞留, および分布, 臨床神経学(1972), 12, 131.
- 7) 高須俊明, 豊倉康夫, 松岡理: イヌの神経系への  $^{131}\text{I}$  標識キノホルムの摂取, 医学のあゆみ(1972), 81, 397.
- 8) 松岡理, 高須俊明, 豊倉康夫: 胆汁排泄キノホルムの消化管からの吸収(肝腸循環の実証), 医学のあゆみ(1972), 81, 509.

#### 本協議会における発表

- I) 昭和45年度第3回総会(昭和46年3月2日)  
 $^{131}\text{I}$  標識キノホルムのマウス体内滞留および分布  
高須俊明, 中西孝雄, 豊倉康夫(東大脳研神経内科); 松岡理, 栗栖明, 池上四郎(放医研)
- II) スモン調査研究協議会研究報告書 No.2 臨床班報告書, 昭和46年3月, 159-173頁  
SMONの臨床, 神経病理ならびに病因に関する研究  
豊倉康夫
- III) キノホルム部会第1回研究会(昭和46年7月24日)
  1.  $^{14}\text{C}$  標識キノホルムによるキノホルムの生体内分布および代謝の研究, ならびに  $^{131}\text{I}$  標識の場合との比較



- 高須俊明, 豊倉康夫 (東大脳研神経内科); 松岡理 (放医研)
2. イヌにおける放射性キノホルムの分布および代謝の研究 (第1報)  
高須俊明, 豊倉康夫 (東大脳研神経内科); 松岡理 (放医研)
3. イヌにおける I 標識キノホルムの臓器内分布 (マクロオートラジオグラフィ)  
高須俊明, 豊倉康夫 (東大脳研神経内科); 松岡理 (放医研)
- IV) キノホルム部会第2回研究会 (昭和46年12月15日)
- 標識キノホルムによる代謝分布の研究 (第3報)
1. 消化管からの吸収, および組織内分布に関する補遺  
高須俊明, 豊倉康夫 (東大脳研神経内科); 松岡理 (放医研)
2. 投与量および長期投与の全身滞留率に及ぼす影響  
松岡理 (放医研); 高須俊明, 豊倉康夫 (東大脳研神経内科)
3. 胆汁排泄キノホルムの再吸収に関する検討  
松岡理 (放医研); 高須俊明, 豊倉康夫 (東大脳研神経内科)
4. イヌにおけるキノホルムの分布代謝, とくに神経系への摂取  
高須俊明, 豊倉康夫 (東大脳研神経内科); 松岡理 (放医研)
- V) キノホルム部会第3回研究会 (昭和47年2月28日)
- 標識キノホルムによる代謝分布の研究 (第4報)
- 投与量および長期投与の吸収率に及ぼす影響  
松岡理 (放医研); 高須俊明, 豊倉康夫 (東大脳研神経内科)

## 36. キノホルム糖尿病家兎の作製（繰返し静注）

三好 和夫      大音 康郎      小松 光一  
武田 喜久子      八木田 正聖      松岡 崇人

（徳島大・医・第1内科）

著者らはさきに、実験的糖尿病惹起物質であるオキシシン（8-hydroxy quinoline）とキノホルムが化学構造式においてきわめて類似していることより、実験的に家兎にキノホルム60 mg/kg体重1回静注して糖尿病を作製することに成功し、キノホルムに糖尿病惹起作用のあることを明らかにした。（三好ら，1971a, b）また、同時に主に末梢神経障害のみられることを示した（三好ら，1971a, b）。

今回は家兎にキノホルムとオキシシンを長期間歇投与を行ったときの糖代謝異常と神経障害を検索した。

### I 動物と実験方法

実験動物には2.4～4.5 kgの家兎を用い、キノホルム群とオキシシン群の2群に分け、長期繰返し静注し、状態を観察しながら血糖値を追跡測定した。

用いたキノホルムはエマホルム（iodochlorhydroxy quinoline 90%+carboxymethylcellulose 10%）で、これを浄水に略々1.0%に混入したものを用い、オキシシン（8-hydroxy quinoline, 和光純薬製, 特級）は純水に1.0%の割合に混入し、溶解を容易にするため純水100 mlに30滴の割合で1 N HCl を加えた。これらキノホルム、オキシシンの略々1.0%静注液を体重1 kgにつき30 mgの割合で約1週間に1回、長期繰返し静注した。

### II 実験成績

動物の状態経過。家兎は、キノホルム60 mg/kg1回静注のときとはことなり、キノホルム、オキシシン注射直後に不安様となったり、元気を失ったりはしない。低血糖症状や48時間後における高血糖等はみられず、平常と余り変化がないようにみられた。キノホルム静注家兎では体重はむしろ増加の傾向にあった。しかし、オキシシン静注のもの1羽（%5）は経過中体重減少、脱毛をみとめた。

他の1羽（%6）は体重に変化なく、脱毛等もみとめていない。

神経症状については、明らかな運動麻痺はみとめられないが、経過の途中ではキノホルム、オキシシン静注家兎とも一部の動物では不活発で、とくにオキシシン静注%5は両下肢の脱力が疑われた。

血糖値の変化、キノホルム静注家兎Kでは、キノホルム30 mg/kg静注4回30日後で血糖150 mg/dl, 37日（5回静注後）157 mg/dlと高く、さらに81日（10回静注後）154 mg/dl, 12回静注後、95日で246 mg/dlと上昇している（表1, 図1）。家兎Iでもほぼ同様の傾向がみられる（表1, 図1）。

オキシシン30 mg/kg毎週静注家兎, %5, %6では注射後24時間で低血糖等はみられず、11回

Rabbit	Sex	Initial body weight (kg.)	Doses of chionoform mg/kg (injected weekly in vein)	Before injection	Blood sugar (whole blood)mg/dl															
					Days after injection															
					7	14	22	30	37	46	54	63	72	79	85	93	100	107	115	126
I	♂	4.2	30	56	90	102	88	136	106	102	96	99	105	107	103	103	212	91	133	198
K	♂	4.3	30	80	65	80	120	150	157	134	109	120	70	154	160	246	232	106	94	157

表1 Chionoform 30 mg/kg毎週注射家兎の血糖値の変化

Rabbit	Sex	Initial body weight (kg.)	Doses of oxine mg/kg (injected weekly in vein)	Before injection	Blood sugar (whole blood)mg/dl									
					Days after injection									
					1	8	17	24	30	38	45	52	60	71
No. 5	♂	2.5	30	74	97	86	87	91	94	88	66	100	72	71
No. 6	♂	2.5	30	65	68	106	68	123	100	100	64	100	92	104

表2 Oxine 30 mg/kg毎週注射家兎の血糖値の変化

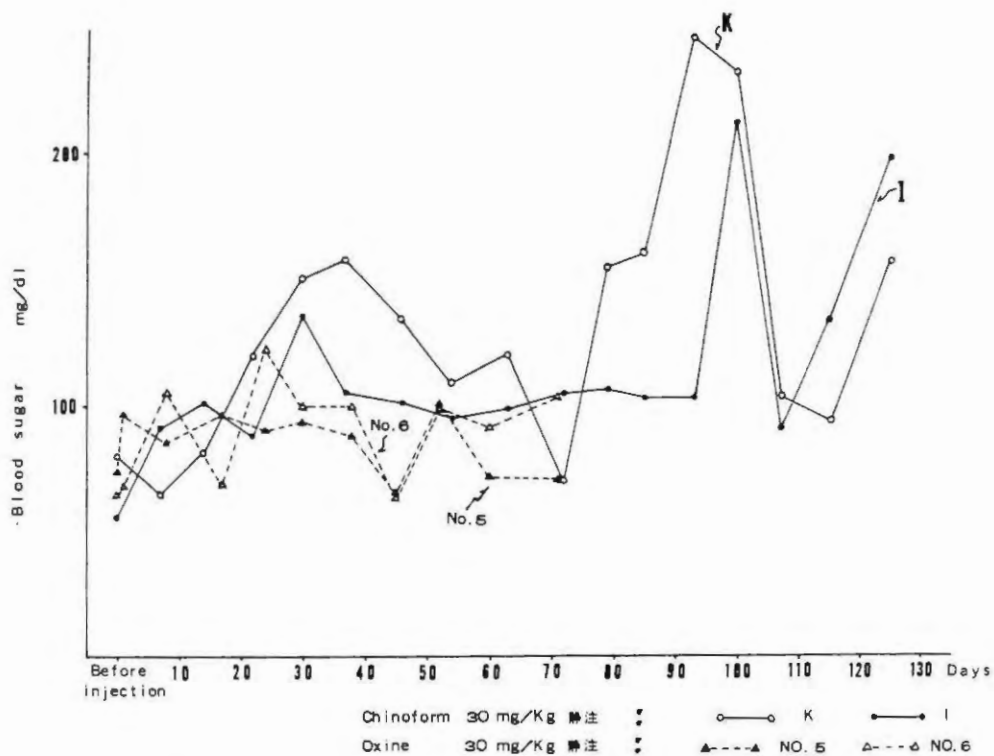


図1 Chinoform 30 mg/kg毎週静注家兔およびoxine 毎週静注家兔の血糖曲線  
 静注, 67日間で高血糖はみられていない(表2, 図1)。

### III 総括と結論

家兔にキノホルム, オキシシンそれぞれ体重1 kg 30 mgの割合で毎週, 繰返し静注した。

キノホルム静注家兔では間歇少量投与でも30日後に一過性の高血糖, 静注10回79日で154 mg/dl, 85日で160 mg/dl, 93日246 mg/dlと血糖の上昇をみとめた。

オキシシン静注家兔では10回静注70日間の観察では高血糖をみとめえなかった。

神経症状についてはオキシシン, キノホルム静注家兔とも明らかなものはみとめなかったが, 一部は不活発で, オキシシン投与No.5では下肢の脱力が疑われた。

キノホルムとオキシシンの分子量はキノホルムがオキシシンの約2倍であり, 同じg数の投与であるとモル濃度ではオキシシンがキノホルムの約2倍量となる。しかるに, キノホルム30 mg/kg長期間歇投与で高血糖がみとめられ, オキシシンの同量投与ではみとめられない。すなわち, キノホルムのdiabetogenic actionはオキシシンのそれより強度であることが推定される。

なお, キノホルム投与家兔では神経症状の存在が確認できなかったが, オキシシン投与家兔の1羽で下肢の脱力が疑われた。実験動物の組織学的検索は現在施行中である。

### 文献

- 1) 三好和夫, 大音康郎, 中野益弘他6名(1971a): Chinoformによる実験的糖尿病, 四国医誌, 27, 167~170

- 2) 三好和夫他(1971b) : S M O N 発症と化学物質, スモン調査研究協議会報告書, №.2, 臨床研究報告, 200～203.
- 3) 三好和夫, 大音康郎, 松岡崇人他9名(1971) : Chimoform 中毒症にみられる糖代謝異常と尿中M M A 排泄, スモン調査研究協議会, キノホルム部会第1回研究報告書, 4～5.