

氏名 (本籍)	宮澤良道 (東京都)
学位の種類	獣医学博士
学位記番号	乙第265号
学位授与の要件	学位規則第3条第2項該当
学位論文題名	犬における Digoxin および Digitoxin の薬物動態と実験的胆汁うっ滞の影響に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 小林 好作 (副査) 教授 赤堀 文昭 教授 鈴木 立雄 教授 佐藤 友英

論文内容の要旨

1785年, William Withering はヒト医学臨床において, また1841年 Delabere Blaine は獣医臨床で, ジギタリスの治療効果をはじめで紹介した。以来約 200 年を経過した今日においても, ジギタリスはうっ血性心不全の治療や心房細動の心室拍数コントロール上, 重要な地位を占めている。しかしジギタリスは有効治療域が狭く, そのため副作用の発現に絶えず注意を払わなければならない薬物の1つである。また, 獣医臨床では, ジギタリス剤の薬物動態や治療効果に関する実験的ならびに臨床的検討が主として digoxin で行われており, digitoxin との比較研究が少ない。近年, 臨床薬理学の進歩に伴い, 家畜におけるジギタリスの薬物動態に関する知見も蓄積されつつあるが, 不明な点も少なくない。とくに, 薬物代謝の主要部位である肝の関与に関する検討が乏しい。本研究は, 犬の実験的胆汁うっ滞時における digoxin と digitoxin の薬物動態から, 両剤の代謝・排泄に対する肝の関与について検討したものである。成績の概略を以下に述べる。

1. Digoxin 投与による薬物動態の検討

健常雑種犬18頭を対照 (C) 群, 総胆管結紮 (L) 群, phenobarbital 前処置後総胆管結紮 (P) 群の3群に分け, digoxin 25 μ g/kg を1回静脈内投与した。P 群には, 肝ミクロゾームの薬物代謝酵素系を活性化することが知られている phenobarbital を 5 mg/kg/day の割合で1日1回, 2週間連続投与し, その後に総胆管結紮を施している。C 群は開腹して総胆管を確認しただけで腹壁を閉鎖したものである。いずれの群も術後5~6時間後に digoxin を投与し, その後 0.5, 1, 2, 3, 6, 8, 12, 18, 24, 30, 36 および 48 時間目にヘパリン採血し, 血漿 digoxin 濃度を radioimmunoassay (RIA) 法で測定した。

各群の血漿 digoxin 濃度推移は, 指数関数的に急速に減少する分布 (α) 相と, 静脈内投与 6~8 時間以降の排泄 (β) 相とに分けられ, 2-compartment open model に一致し, 次のような2つの指数関数の和として表わされた。

$$C_t = A \cdot e^{-\alpha \cdot t} + B \cdot e^{-\beta \cdot t}$$

C_t : 静注 t 時間後の血漿中薬物濃度

A : 分布相における $t = 0$ での外挿血漿中薬物濃度 (外挿 Y 軸交点)

B : 排泄相における $t = 0$ での外挿血漿中薬物濃度 (外挿 Y 軸交点)

α : 分布相の消失速度定数

β : 排泄相の消失速度定数

この式から求められた血漿 digoxin 理論濃度は、RIA 法による実測値とよく一致した。

C 群における digoxin の薬物動態をみると、 $t_{1/2\alpha}$ は 0.928 ± 0.094 (\pm SE) 時間、また $t_{1/2\beta}$ は 19.56 ± 2.16 時間であった。外挿法により求めた見かけの分布容量 (Vd) は 6.608 ± 0.769 l/kg、血漿濃度曲線下面積法による見かけの分布容量 (Vdarea) は 9.424 ± 1.571 l/kg であった。総体クリアランス (TBCL) は 5.65 ± 0.96 ml/min/kg となった。

L 群の血漿 digoxin 濃度は、どの測定時においても他 2 群の値との間で有意差が認められなかった。薬物動態パラメータを C 群と比較すると、 $t_{1/2\alpha}$ には有意差がなく、排泄 (β) 相における消失速度定数 β は低値 ($P \leq 0.05$) を示した。 $t_{1/2\beta}$ は C 群のそれ (19.56 ± 2.16 時間) との間に有意差を認めなかったけれども、 25.18 ± 1.53 時間と延長した。中央 (血液) コンパートメントから末梢 (組織) コンパートメントへの移行速度定数 K_{12} は大きく ($P \leq 0.05$)、Vd も増大した。TBCL は C 群のそれより低かったが、有意差はなかった。

P 群では L 群と同様な総胆管結紮を行なっても、 $t_{1/2\beta}$ の延長および Vd の増大は認められず、C 群とはほぼ同じ値となった。L 群と比較すると $t_{1/2\beta}$ は短縮 ($P \leq 0.05$)、Vd は減少 ($P \leq 0.01$) した。また、TBCL は C 群および L 群のそれとの間に有意差を認めなかったが、高値を示す傾向がみられた。

この実験期間中、どの犬の血中尿素窒素量および血清クレアチニン量には変化がなく、群間にも有意差を認めなかった。また、各群の体重 kg 当り尿量にも有意差がなく、これらの所見から腎機能に変化がなかったものと推定される。

一方、総胆管結紮をした L および P 群の血清総ビリルビン値、ALP および GPT 活性値は C 群のそれらに比較して高くなった。実験終了後の剖検および組織学的所見でも、胆汁うっ滞の証拠が明瞭であった。P 群ではさらに、肝細胞の著しい肥大が観察され、薬物代謝酵素系の活性化が示唆された。

以上のごとく、実験的に作出した胆汁うっ滞犬に投与された digoxin の薬物動態には、組織分布の増大、血漿消失速度の遅延、 $t_{1/2\beta}$ の遅延など、明らかに胆汁うっ滞の影響が認められた。さらに P 群で分布容量の増大や $t_{1/2\beta}$ の延長が認められなかったことは、digoxin の代謝・排泄に肝が関与していることを間接的に示したものと考えられる。しかし、静脈内 1 回投与後の血漿中濃度は群間で差がなかったことから、この関与は主排泄経路としての腎よりも小さいと推測される。今回の実験は静脈内 1 回投与であるが、胆汁うっ滞をはじめ、他のタイプの肝障害が存在する場合の維持療法では、血中および組織内濃度が有意に上昇すると思われる。従って本剤の使用にあたっては、腎機能とともに肝機能に十分な配慮が必要と結論された。

2. Digitoxin 投与による薬物動態の検討

健常雑種成犬 15 頭を C、L および P 群に分け、digitoxin $20 \mu\text{g}/\text{kg}$ を 1 回静脈内投与した。その後の実験方法は digoxin の場合と同じである。さらに別な雑種成犬 10 頭を、前記 3 群と胆管瘻を設けた F 群の計 4 群に分け、 ^3H 標識 digitoxin $50 \mu\text{Ci}/14\text{kg}$ および非標識 digitoxin $20 \mu\text{g}/\text{kg}$ を静脈内投与した。投与後 1、3、6、12 および 24 時間目に採血した。血漿、尿および胆汁中の放射活性をジクロロメタン (CH_2Cl_2) 溶性および非溶性分画にわけて計測した。

各群の血漿 digitoxin 濃度推移は、digoxin と同様 2 つの指数関数の和として表わされ、その理論濃度は実測値とよく一致した。C 群の $t_{1/2\alpha}$ は 0.909 ± 0.465 時間、 $t_{1/2\beta}$ は 7.57 ± 1.57 時間であった。Vd は 0.807 ± 0.085 l/kg、Vdarea は 0.905 ± 0.093 l/kg であった。TBCL は 1.56 ± 0.45 ml/min/kg となった。

L 群における各測定時間での血漿 digitoxin 濃度は、C および P 群より有意に ($P \leq 0.05$) 高い値を続けた。 $t_{1/2\beta}$ は 24.45 ± 3.40 時間に延長し ($P \leq 0.05$)、Vd および Vdarea も低く ($P \leq 0.01$)、C 群のそれらとの間で有意差を認めた。

P 群では総胆管結紮を行っているにもかかわらず、digitoxin 血中濃度は C 群とほぼ同じレベルで推移した。 $t_{1/2\beta}$ 、Vd、Vdarea および TBCL も C 群のそれらとの間に有意差を認めなかった。しかし、L 群との比較では、これらパラメータに有意差が存在した。この実験期間における腎機能指標は、digoxin の場合と同様、変化がなかった。一方、血清総ビリルビン量は P 群でのみ、ALP と GPT 活性は L および P 群で増高した。剖検および組織学的変化は digoxin 群のそれと基本的には等しかった。

^3H 標識 digitoxin 投与の結果、 CH_2Cl_2 溶性分画 (digitoxin および強心作用を有する脂溶性代謝産物) の放射活性が 12 および 24 時間後において、C、P、F 群より L 群で高かった。C、L、F 群の 24 時間尿における放射活性は投与量の 15~20% で、その 95% が CH_2Cl_2 不溶性分画 (強心作用を失った水溶性代謝産物) にあった。P 群の排泄量は他群よりも多く、主として不溶性分画であった。F 群における胆汁の放射活性は投与量の 7% で、その約 85% は不溶性分画にあった。

以上の実験から、胆汁うっ滞時に投与された digitoxin は高い血漿濃度を維持し、 $t_{1/2\beta}$ は正常時の約 3 倍に延長すること、phenobarbital による前処置はこうした変化を抑制し、強心作用を失った水溶性代謝産物の尿中排泄を増加させることなどがわかった。またこのものは胆汁中にも排泄されるが、その割合は小さいことも明らかとなった。ここから、digitoxin もまた、digoxin と同様、その代謝・排泄に肝の関与していることが明らかとなった。しかし $t_{1/2\beta}$ の延長度合は digoxin よりも digitoxin で大きく、また血漿濃度が digitoxin でのみ有意に高値を続けたことから、胆汁うっ滞の薬物動態に及ぼす影響は、digitoxin のほうが大きいと考えられる。临床上、胆汁うっ滞をはじめ他のタイプの肝障害がある場合、ジギタリス剤としてはその代謝・排泄に肝の関与が相対的に小さい digoxin を選ぶべきである。

本研究では以上の如く、犬での実験がきわめて少なかった digitoxin の薬物動態を明らかにするとともに、これまで推測に過ぎなかった digoxin および digitoxin の代謝・排泄に及ぼす肝の役割と胆汁うっ滞の影響を実証した。また両薬物の犬における動態を比較し、後者の $t_{1/2\beta}$ がヒトのそれにくらべて非常に短く、種差の存在することを明らかにした。これらの知見は、獣医学領域におけるジギタリス研究への新たな関心を喚起すると同時に、犬に対する臨床応用の理論的根拠を与えるものと思う。

論文審査結果の要旨

ジギタリスは、*Digitalis purpurea* および *Digitalis lanata* の葉から抽出される強心作用をもつ物質である。この植物抽出物が薬として使用された歴史は古く、ギリシャ・ローマの時代にまでさかのぼることができる。近代医学の時代となってからはじめて *Digitalis* を使ったのは、イギリス、バーミンガムの医師、William Withering (1785) である。彼は、浮腫の民間医療に使われていた 20 種類以上の植物混合抽出物のなかから、ジギタリスが効果の主役を果していることを見出したのである。それから以後、おびただしい研究が行われ、

この物質の心筋に対する陽性変力作用が明らかにされてきた。今日では家畜のうっ血性心不全、心房細動、ある種の不整脈の治療にも、ジギタリス製剤は欠かせない存在となっている。一方、この薬物の治療域は狭く、副作用を発現しやすいという欠点の家畜の場合にもついてまわっている。Digitoxinやdigoxinの血中濃度を正確に測定する方法としてradioimmunoassay法が開発され、ジギタリス製剤の薬物動態がかなりはっきりしてきた。しかし、獣医学領域では、薬物動態の動物種によるちがいが、digoxinとdigitoxinのちがいが、さらには代謝・排泄過程における肝および腎の役割など、ジギタリス剤に関する知見で欠落している部分が少なくない。このことは、ジギタリス製剤の臨床応用をちゅうちょさせる原因となっている。

本論文は、犬におけるdigoxinおよびdigitoxinの薬物動態と、それに及ぼす胆汁うっ滞の影響を実験的に明らかにしたものである。実験は大きく2つに分けられる。すなわちdigoxinの薬物動態を調べた部分と、digitoxinに関してのそれとである。それぞれの実験には、総胆管を結紮して胆汁うっ滞を起させたL群、phenobarbitalの前処置後に総胆管を結紮したP群、および対照のC群が設定されている。phenobarbitalは、肝ミクロゾーム薬物代謝酵素系の活性を誘導することが知られており、この群における薬物動態を通じて、digoxinおよびdigitoxinの代謝・排泄に肝がどのような関与をしているかを知ろうとして設定されたものである。

1. Digoxin 投与による薬物動態の検討

健常雑種成犬18頭を前記3群に分け、digoxin 25 μ g/kgを1回静脈内投与した。P群にはphenobarbital 5 mg/kg/dayを1日1回、2週間経口投与している。digoxin投与後、0.5, 1, 2, 3, 6, 8, 12, 18, 24, 30, 36および48時間目に採血し、血漿digoxin濃度をradioimmunoassay(RIA)法で測定している。この実験の成績は次のように概略できる。

各群の血漿digoxin濃度推移は、指数関数的に急速に減少する分布(α)相と、静脈内投与6~8時間以降の排泄(β)相とに分けられ、2-compartment open modelに一致し、次のような2つの指数関数の和として表わされた。

$$C_t = A \cdot e^{-\alpha \cdot t} + B \cdot e^{-\beta \cdot t}$$

C_t : 静注 t 時間後の血漿中薬物濃度

A : 分布相における $t = 0$ での外挿血漿中薬物濃度 (外挿 Y 軸交点)

B : 排泄相における $t = 0$ での外挿血漿中薬物濃度 (外挿 Y 軸交点)

α : 分布相の消失速度定数

β : 排泄相の消失速度定数

この式から求められた血漿 digoxin 理論濃度は、RIA 法による実測値とよく一致している。

C群におけるdigoxinの薬物動態をみると、 $t_{1/2\alpha}$ は 0.928 ± 0.094 (\pm SE) 時間、また $t_{1/2\beta}$ は 19.56 ± 2.16 時間であった。外挿法により求めた見かけの分布容量 (Vd) は 6.608 ± 0.769 l/kg、血漿濃度曲線下面積法による見かけの分布容量 (Vd_{area}) は 9.424 ± 1.571 l/kgであった。総体クリアランス (TBCL) は 65 ± 0.96 ml/min/kg となった。

L群の血漿 digoxin 濃度は、どの測定時においても他2群の値との間で有意差が認められなかった。薬物動態パラメータをC群と比較すると、 $t_{1/2\alpha}$ には有意差がなく、排泄(β)相における消失速度定数 β は低値 ($P \leq 0.05$) を示した。 $t_{1/2\beta}$ はC群のそれ (19.56 ± 2.16 時間) との間に有意差を認めなかったけれど

も、 25.18 ± 1.53 時間と延長した。中央（血液）コンパートメントから末梢（組織）コンパートメントへの移行速度定数 K_{12} は大きく（ $P \leq 0.05$ ）、 V_d も増大した。TBCLはC群のそれより低かったが、有意差はなかった。

P群ではL群と同様な総胆管結紮を行なっても、 $t_{1/2\beta}$ の延長および V_d の増大は認められず、C群とはほぼ同じ値となった。L群と比較すると $t_{1/2\beta}$ は短縮（ $P \leq 0.05$ ）、 V_d は減少（ $P \leq 0.01$ ）した。またTBCLはCおよびL群のそれとの間に有意差を認めなかったが、高値を示す傾向がみられた。

この実験期間中、どの犬の血中尿素窒素量および血清クレアチニン量にも変化がなく、群間にも有意差を認めなかった。また各群の体重kg当り尿量にも有意差がなく、これらの所見から腎機能に変化がなかったものと推定される。

一方、総胆管結紮をしたLおよびP群の血清総ビリルビン値、ALPおよびGPT活性値はC群のそれらに比較して高くなった。実験終了後の剖検および組織学的所見でも、胆汁うっ滞の証拠が明瞭であった。P群ではさらに、肝細胞の著しい肥大が観察され、薬物代謝酵素系の活性化が示唆された。

以上の実験で明らかになったことは、

- 1) 健常雑種成犬に digoxin を 1 回静脈内投与したときの薬物動態、
- 2) 実験的胆汁うっ滞の場合には、組織分布の増大、血漿消失速度の遅延、 $t_{1/2\beta}$ の遅延が起こること、および
- 3) P群で分布容量の増大や $t_{1/2\beta}$ の延長が認められなかったので、digoxinの代謝・排泄に肝が関与しているらしいことである。

なお、今回の成績は静脈内1回投与という条件で得られたものである。胆汁うっ滞をはじめ他のタイプの肝障害が存在する場合の維持療法では、さらに血中および組織内濃度が上昇すると予想される。従ってかかる症例への digoxin 応用にあたっては、腎機能とともに肝機能への十分な配慮が必要と結論している。

2. Digitoxin 投与による薬物動態の検討

健常雑種成犬15頭をC、LおよびP群に分け、digitoxin $20 \mu\text{g}/\text{kg}$ を1回静脈内投与した。その後の実験方法は digoxin の場合と同じである。さらに別な雑種成犬10頭を、前記3群と胆管瘻を設けたF群の計4群に分け、 ^3H 標識 digitoxin $50 \mu\text{Ci}/14\text{kg}$ および非標識 digitoxin $20 \mu\text{g}/\text{kg}$ を静脈内投与した。投与後1、3、6、12および24時間目に採血した。血漿、尿および胆汁中の放射活性をジクロロメタン溶性および非溶性分画にわけて計測した。

各群の血漿 digitoxin 濃度推移は、digoxin と同様2つの指数関数の和として表わされ、その理論濃度は実測値とよく一致した。C群の $t_{1/2\alpha}$ は 0.909 ± 0.465 時間、 $t_{1/2\beta}$ は 7.57 ± 1.57 時間であった。 V_d は $0.807 \pm 0.085 \text{ l}/\text{kg}$ 、 $V_{d\text{area}}$ は $0.905 \pm 0.093 \text{ l}/\text{kg}$ であった。TBCLは $1.56 \pm 0.45 \text{ ml}/\text{min}/\text{kg}$ となった。

L群における各測定時間での血漿 digitoxin 濃度は、CおよびP群より有意に（ $P \leq 0.05$ ）高い値を持続した。 $t_{1/2\beta}$ は 24.45 ± 3.40 時間に延長し（ $P \leq 0.05$ ）、 V_d および $V_{d\text{area}}$ も低く（ $P \leq 0.01$ ）、C群のそれらとの間で有意差を認めた。

P群では総胆管結紮を行なっているにもかかわらず、digitoxin 血中濃度は、C群とはほぼ同じレベルで推移した。 $t_{1/2\beta}$ 、 V_d 、 $V_{d\text{area}}$ およびTBCLもC群のそれらとの間に有意差を認めなかった。しかしL群との比較では、これらパラメータに有意差が存在した。この実験期間における腎機能指標は、digoxin の場

合と同様変化がなかった。一方血清総ビリルビン量はP群でのみ、ALPとGPT活性はLおよびP群で増高した。剖検および組織学的変化はdigoxin群のそれと基本的には等しかった。

^3H 標識 digitoxin 投与の結果、 CH_2Cl_2 溶性分画 (digitoxin および強心作用を有する脂溶性代謝産物) の放射活性が12および24時間後において、C、P、F群よりL群で高かった。C、L、F群の24時間尿における放射活性は投与量の15~20%で、その95%が CH_2Cl_2 不溶性分画 (強心作用を失った水溶性代謝産物) にあった。P群の排泄量は他群よりも多く、主として不溶性分画であった。F群における胆汁の放射活性は投与量の7%で、その約85%は不溶性分画にあった。

この実験から明らかにされたことは、

- 1) 健常雑種犬に digitoxin を1回静脈内投与した際の薬物動態 ($t_{1/2\beta}$ はヒトのそれにくらべ非常に短い)、
- 2) 胆汁うっ滞時には digitoxin が高い血漿濃度を維持し、 $t_{1/2\beta}$ は正常時の約3倍に延長する、
- 3) P群では強心作用を失った水溶性代謝産物が尿中に増加していることから digitoxin もその代謝・排泄に肝が関与しているであろうということである。

また2つの実験成績を比較すると、胆汁うっ滞時の $t_{1/2\beta}$ の延長は、digoxin よりも digitoxin で大きく、血漿濃度も digitoxin でのみ有意な高値を持続するという両薬剤のふるまいの差が明らかである。以上の成績から本論文は、1) 犬における digoxin および digitoxin の薬物動態を明らかにし、2) とくに digitoxin の $t_{1/2\beta}$ はヒトのそれよりもきわめて短いことを見出した。またこれまで推測に過ぎなかった digoxin および digitoxin の代謝・排泄に及ぼす肝の役割と胆汁うっ滞の影響を実験的に証明した。これらの知見は、獣医薬理学領域への貢献とともに、犬に対するジギタリス剤の臨床応用の理論的根拠を与えるものとして高く評価でき、獣医学博士の学位を授与するにふさわしいものと認めた。