

四塩化炭素肝障害ラットにおける 1-(2-Tetrahydrofuryl)-5-fluorouracil の血中消失速度定数に及ぼす還元型グルタチオンとビタミン E の影響

岡山大学医学部第一内科教室 (主任: 長島秀夫教授)

芳原 準男 · 渡辺 明治 · 長島 秀夫

(昭和55年2月1日受稿)

Key words: 四塩化炭素肝障害, FT, ビタミン E, 還元型グルタチオン, 血中消失速度定数

緒 言

抗悪性腫瘍剤として広く使用されている 1-(2-Tetrahydrofuryl)-5-fluorouracil (FT)^{1,2)}は、いわゆる masked compound であり、主として肝ミクロゾームの薬物代謝酵素により、5-Fluorouracil (5-FU) に代謝され、さらに Fluoro-deoxyuridine monophosphate (FdUMP) などの活性化物質に同化され核酸合成を阻害し、抗腫瘍効果を発揮すると考えられている³⁾ いっぽう、障害肝では Cytochrome P-450 量 (P-450) の減少に基づく各種薬剤の代謝能の低下がみられ⁴⁾、正常肝機能に依存する FT の活性化すなわち制癌効果を増強させる点できわめて不利と考えられる。障害肝で FT の活性化を増強させるために各種薬剤を併用し、よりすぐれた抗腫瘍効果を得るための検討が従来からなされて来た⁵⁾。高速液体クロマトグラフィーによる特異性の高い FT の定量法を用いて⁶⁾、その血中消失速度定数 (K)⁷⁾ を求め、抗脂質過酸化剤の還元型グルタチオン (GSH) とビタミン E 投与時の代謝動態を K 値の変化から解析した。また四塩化炭素 (CCl₄) 投与後の肝障害ラットでも、K 値に及ぼす GSH, ビタミン E の影響を観察した。

実 験 の 部

1. 実験材料

FT は大鵬薬品工業、ニコチン酸トコフェロール、トコフェロールはエーザイ、GSH は山之内製薬、CCl₄ (試薬特級) は片山化学工業より購入した。蒸留水、アセトニトリル、メタノールは液体クロマトグラフ分析用 (和光純薬工

業) を使用した。

2. 実験動物

体重 200 g 前後の Sprague-Dawley 系雌性ラット (8 週令) を使用し、オリエンタル固型飼料と水を自由に摂取させた。CCl₄ 肝障害ラットは、12 時間絶食後 CCl₄ 20% 流動パラフィン溶液を体重 kg 当り 5 ml 経口投与した。

3. 投与量および投与方法

対照ラット (CCl₄ は投与されていない) にニコチン酸トコフェロール体重 kg 当り 100mg, トコフェロール体重 kg 当り 80mg を 1 日 1 回連続 3 日間胃ゾンデを用いて経口的に前投与し、4 日目、すなわち 3 回目の投与翌朝に FT (体重 kg 当り 100mg) を尾静脈より注射し血中 FT 消失速度定数を求め、また FT 静注前 2 時間、静注後 6 時間と 14 時間の計 3 回トコフェロール (80 mg/体重 kg, 経口)、ニコチン酸トコフェロール (100mg/体重 kg, 経口) あるいは GSH (250 mg/体重 kg, 皮下) をそれぞれ投与して同様に薬物クリアランスを求めた。

CCl₄ の投与前や直後に GSH やビタミン E を投与すると、CCl₄ 肝障害が防止されるとの報告があり⁸⁾、CCl₄ 投与 24~48 時間後に肝障害が最も顕著である⁹⁾ ことなどを考慮して、CCl₄ 肝障害ラットに対しては、CCl₄ 投与後 22 時間、30 時間および 38 時間 (すなわち FT 静注前 2 時間と静注後 6 時間および 14 時間の 3 回) にトコフェロール、ニコチン酸トコフェロールあるいは GSH をそれぞれ投与した。

4. 肝ミクロゾーム Cytochrome P-450 量の測定

トコフェロール (80mg/体重 kg, 経口)、ニコチン酸トコフェロール (100mg/体重 kg, 経口)

や GSH (250mg/体重 kg, 皮下注射) をそれぞれ 3 日間 (1 日 1 回) 投与し, 4 日目に肝ミクロゾーム P-450 量および肝ミクロゾーム蛋白量を測定した^{10, 11)}.

5. FT の血中消失速度定数の測定

ラットの尾静脈に FT を 1 回注射した後, 1, 3, 5, 12 と 24 時間目にそれぞれ尾静脈より採血 (0.2ml) した. アセトニトリルで抽出後, 高速液体クロマトグラフィー法⁶⁾ で血中 FT 濃度を測定した. FT の血中消失速度定数 K は $0.693/T_{1/2}$ から計算して求めた⁷⁾.

結 果

トコフェロールまたはニコチン酸トコフェロールをラットに 3 日間前投与すると, FT の血中消失曲線の勾配は著るしく大きくなり, K 値も 0.128, 0.165 と, 前処置をしない対照ラットの 0.094 に比べて明らかに増加した (図 1). その際の肝 P-450 量は無処置ラットに比べてわずかに増加した (表 1).

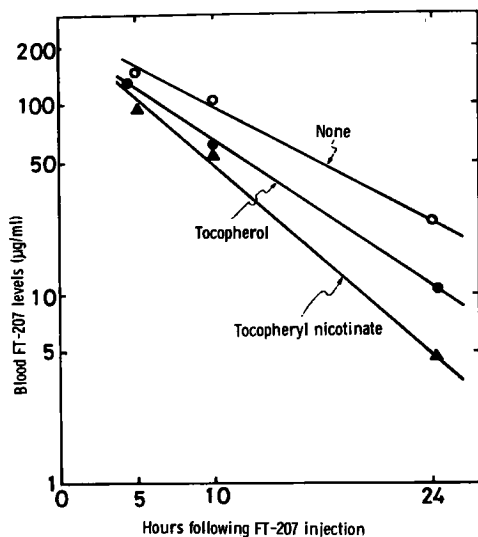


Fig. 1. Effect of pretreatment of control rats with tocopherol and tocopheryl nicotinate on disappearance rate of FT from the blood.

Tocopherol and tocopheryl nicotinate were given intragastrically to control rats daily for 3 days at doses of 80 and 100 mg per kg body weight, respectively. Each value represents mean of two experiments.

つぎにトコフェロールやニコチン酸トコフェロールを 3 日間前もって連続的に投与する代り

TABLE 1. EFFECT OF TOCOPHEROL AND TOCOPHERYL NICOTINATE ON CONTENTS OF CYTOCHROME P-450 AND MICROSOMAL PROTEIN IN RATS

	Cytochrome P-450 m μ moles/mg microsomal protein	Microsomal protein mg/g liver
None	0.71 \pm 0.01	17.46 \pm 1.14
Tocopherol	0.81 \pm 0.04	16.00 \pm 0.50
Tocopheryl nicotinate	0.75 \pm 0.06	15.71 \pm 0.95

Values are expressed as mean \pm S.E. (NO. of the experiments = 3)

に, FT 静注前後に 3 回, トコフェロール, ニコチン酸トコフェロールや GSH を投与してその K 値の変化を求めると, いずれもこれら薬物を投与しない時に比べて, トコフェロール投与で 0.161, GSH 投与で 0.173 と高値であった (図 2).

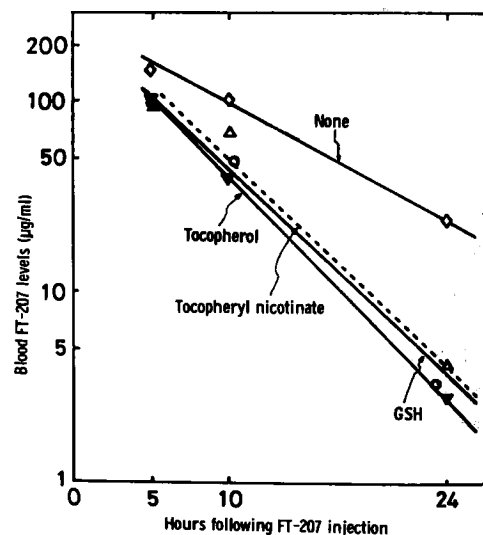


Fig. 2. Disappearance rate of FT from the blood during treatment of control rats with tocopherol, tocopheryl nicotinate and GSH.

Tocopherol, tocopheryl, nicotinate and GSH were given intragastrically and intrahypodermically at doses of 80, 100 and 250mg per kg body weight 2 hours before, and 6 and 14 hours after FT administration, respectively. Each value represents mean of two experiments. Control, \diamond — \diamond ; Tocopherol, \blacktriangledown — \blacktriangledown ; Tocopheryl nicotinate, \triangle — \triangle ; GSH, \circ — \circ :

いっぽう CCl_4 の投与後に肝障害が最も顕著となる24時間後のK値は0.067と著しく低値を示し、血中消失曲線の勾配は明らかにゆるやかとなった(図2)。FT静注前2時間と静注後6時間と14時間にニコチン酸トコフェロールやGSHを CCl_4 肝障害ラット(CCl_4 投与後24時間後にFTを静注した)に投与しても、FTのK値は増加せず、むしろこれらを投与しない時のK値よりも減少し、ニコチン酸トコフェロール投与で0.020、GSH投与で0.033であった(図3)。

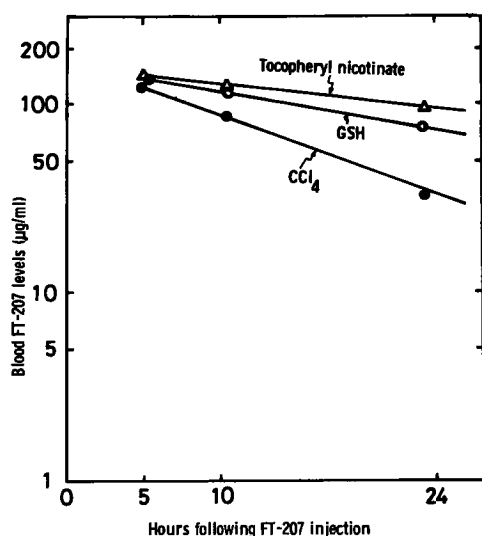


Fig. 3. Unresponsiveness of FT disappearance rate to tocopheryl nicotinate and GSH administrations in CCl_4 -injured rats. CCl_4 was given intragastrically at a dose of 1 ml per kg body weight 24 hours, before FT administration. Tocopheryl nicotinate and GSH were given intragastrically and intrahypodermically to treated rats doses of 100 and 250 mg per kg body weight 2 hours before, and 6 and 14 hours after FT administration, respectively. Each value represents mean of two experiment.

考 察

ラットにFTを静注するとその後5~24時間の血中FT濃度からえられるK値が、肝ミクロゾーム薬物代謝酵素活性の変動を最も鋭敏に反映することはすでに著者らが報告した⁷⁾。ビタミンEを3日間投与すると肝ミクロゾームのP-

450量がわずかに増加傾向を示すが(表1)、その増加程度はフェノバルビタール⁷⁾に比べて小さく、FTのK値はフェノバルビタール投与時のK値⁷⁾と同程度の増加が認められた(図1)。抗脂質過酸化剤であるトコフェロールやニコチン酸トコフェロールおよびGSHをそれぞれFTと同時に投与すると、K値は明らかに増加した(図2)。これはP-450の酵素誘導によるよりむしろ薬物代謝へのNADPH供給をGSHやビタミンEが増大させ⁵⁾、その結果FT代謝が促進され、K値が増大したものと考えられた。

CCl_4 投与24時間目のP-450は著しく低下し⁷⁾、FTのK値(0.067)もまた減少した(図3)。 CCl_4 投与により生じるP-450の低下を防止するために抗脂質過酸化剤(ビタミンEやGSH)を同時投与したのでなく、 CCl_4 投与、24時間以後に抗脂質過酸化剤を同時に併用することにより、障害でのP-450量の低下に基づく薬物代謝能の減少をこれら薬剤で賦活させ、FT代謝の促進を企図しようとしたものである。しかしこのような薬剤を併用しても薬物処理能の増加は肝障害時にはみられず、FTの血中クリアランスの促進効果は明らかでなかった。これらの成績は、 CCl_4 投与24時間後に肝薬物代謝酵素活性が低下し⁹⁾、抗脂質過酸化剤の併用によってもFTの肝での活性化が期待しにくい可能性を示唆している。

重症肝疾患例では生体の薬物処理能は一般に低下し、肝ミクロゾームの薬物代謝酵素や薬物の血中クリアランスが遅延することが報告されている¹²⁾。重症肝疾患例でFTの薬剤効果の増強を期待することはこのようなアプローチでは困難で、今後さらに肝癌例で制癌剤の効果増幅法を臨床薬学的に検討する必要がある。

謝 辞

稿を終るにあたり、本研究に貴重な御助言をいただいた岡山大学第一内科武田和久講師と岡山大学薬剤部長荒木泰典教授に深謝致します。

尚、本文の要旨は、昭和53年4月、日本薬学会第98年会(岡山)で発表した。

文 献

1. Valdivieso, M., Bodey, G.P., Gottlieb, J.A. and Freireich, E.J.: Clinical evaluation of Ftorafur (Pyrimidine-deoxyribose N₁-2'-furanidyl-5-fluorouracil). *Cancer Res.* **36**, 1821-1824, 1976.
2. Blokhina, N.G., Vozny, E.K. and Garin, A.M.: Results of treatment of malignant tumors with Ftorafur. *Cancer.* **30**, 390-392, 1972.
3. Heidelberger, C. and Ansfield, F.J.: Experimental and clinical use of fluorinated pyrimidines in cancer chemotherapy. *Cancer Res.* **23**, 1226-1243, 1963.
4. 赤松興一, 田中 昭, 幡 慶一, 太田康幸: 肝疾患者の肝ミクロゾームにおける薬物水酸化反応について, 臨床化学シンポジウム, **17**, 107-111, 1977.
5. 大平貞雄: 癌化学療法における肝薬物代謝酵素の動態と意義, 癌の臨床, **23**, 720-733, 1977.
6. Hobara, N. and Watanabe, A.: Rapid determination of 1-(2-tetrahydrofuryl)-5-fluorouracil in human blood by high-pressure liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **146**, 518-521, 1978.
7. 芳原準男, 渡辺明治, 湯本泰弘, 東 俊宏, 武田和久, 荒木泰典, 長島秀夫: 肝障害時の抗悪性腫瘍剤 FT-207 の代謝動態とその効果発現について—高速液体クロマトグラフィーによる基礎的, 臨床的検討, 臨床化学シンポジウム, **17**, 122-125, 1977.
8. Watanabe, A., Taketa, K. and Kosaka, K.: Glutathione-dependent interconversion of microheterogenous forms of glucose-6-phosphate dehydrogenase in rat liver. *J. Biochem.* **72**, 695-701, 1972.
9. 田中 昭, 小林敏成, 河野 宏: アルコールによる肝障害と薬物代謝, 肝臓, **14**, 76-80, 1973.
10. Omura, T. and Sato, R.: The carbon monoxide binding pigment of liver microsomes. *J. Biol. Chem.* **239**, 2370-2378, 1964.
11. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275, 1951.
12. Farrell, G.C., Cooksley, W.G.E., Hart, P. and Powell, L.W.: Drug metabolism in liver disease. Identification of patients with impaired hepatic drug metabolism. *Gastroenterology* **75**, 580-588, 1978.

**Increased disappearance rate of 1-(2-tetrahydrofuryl)-5-fluorouracil
in reduced glutathione- or vitamin E-treated rats and its unresponsiveness
to these drugs in carbon tetrachloride-injured rats**

Norio HOBARA, Akiharu WATANABE and Hideo NAGASHIMA

First Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director : Prof. H. Nagashima)

The pharmacokinetics of 1-(2-tetrahydrofuryl)-5-fluorouracil (FT) were analysed by measuring its disappearance rate (K) from the circulating blood using a high-pressure liquid chromatographic technique. An increase in the disappearance rate of FT was observed by treatment with reduced glutathione (GSH)- or tocopheryl nicotinate-treated rats. The clearance rates of FT from the circulating blood in carbon tetrachloride (CCl₄)-injured rats were much smaller than those in untreated rats. The unresponsiveness of K values to treatment with GSH or tocopheryl nicotinate was seen in liver-injured rats.