

薬物動態による移植肝ミクロソーム機能の検討

筑波大学臨床医学系, 同 社会医学系*

大塚 雅昭 石川 詔雄 湯沢 賢治
飯田 浩行 近藤 匡 足立 信也
轟 健 深尾 立 田中栄之介*

肝移植に伴う肝阻血障害が移植肝ミクロソーム機能におよぼす影響について、タクロリムスとトリメタジオン (TMO) の薬物動態により検討した。雑種成犬を用いた同所性全肝移植後第1日と第7日に、タクロリムスと TMO の薬物動態を調べ、無処置犬を対照群として比較した。タクロリムスは0.3 mg/kg を30分かけて静注し、全血中濃度の変化を測定した。TMO は4mg/kg を急速静注し、血清中の TMO とその代謝物であるジメタジオン (DMO) の変化を測定した。両群とも薬物動態を調べる日以外はタクロリムス0.3mg/kg/日を経口的に投与した。TMO のクリアランスと投与2時間後の血清中 DMO/TMO 比は、肝移植群で移植後第1日に低下していたが第7日には両群間に差を認めなかった。タクロリムスのクリアランス、投与24時間後の血中濃度は移植後第1日、第7日とも両群間に差を認めなかった。TMO の代謝はタクロリムスの代謝に比べて肝阻血による障害を強くうけることが示された。

Key words: liver transplantation, pharmacokinetics, tacrolimus, trimethadione

目 的

生体に投与された薬剤の吸収、代謝には個人差があり、また中毒症状、副作用の発現にも個人差があることが知られている。薬剤によっては有効治療濃度の範囲の狭いものや、作用を直接評価しにくいものがあり、これらの薬剤の投与法を決めるには血中濃度の測定 (therapeutic drug monitoring : 以下, TDM と略記) が重要といわれている¹⁾。このことは高齢者や肝臓、腎臓などの臓器障害を有する患者に薬物を投与する際に、特に必要となる。TDM が必要な薬剤として、ジゴキシン、テオフィリン、リチウム製剤などがあげられるが、免疫抑制剤であるシクロスポリンやタクロリムスの投与にも血中濃度のモニターが重要といわれている。タクロリムス²⁾は、欧米においては肝臓移植に盛んに用いられるようになってきたが、主として肝臓で代謝されることが知られており、移植肝の機能がその代謝に大きくかかわっていることが報告されている。私たちは肝機能を評価する検査の1つとして、トリメタジオン (trimethadione : 以下, TMO と略記) はオキサゾリジ

ン系抗てんかん剤で、肝ミクロソームで脱メチル化されジメタジオン (dimethadione : 以下, DMO と略記) となる³⁾。この反応は1-コンパートメントモデルで解析され、薬物濃度の測定も容易なことから、TMO の代謝能の測定を種々の肝疾患の肝機能評価⁴⁾や肝臓外科における術前検査⁵⁾に用いてきた。またイヌを用いた60分間肝虚血再灌流実験では、TMO の代謝が肝虚血により可逆的に障害されることが明らかにされている⁶⁾。そこで肝移植にともなう肝虚血再灌流障害により、移植肝ミクロソーム機能がどのような影響を受けるのかについて、TMO とタクロリムスの薬物動態により検討した。

方 法

1. 実験動物と実験群

体重10~20kg の雑種成犬を用い同所性全肝移植を行い、肝移植群とした。移植後免疫抑制剤として、タクロリムス0.3mg/kg を投与した。ただし移植当日は輸液にまぜて静注し、移植後第1日と第7日は薬物動態を調べるために別に示すように静注した。またこれ以外の日は、同量を経口的に投与した。対照群として無処置犬にタクロリムス0.3mg/kg を肝移植群と同様に投与した。肝移植群については、移植後定期的に採血し、GOT, GPT, 総ビリルビン, プロトロンビン時

<1995年10月11日受理>別刷請求先: 大塚 雅昭
〒305 つくば市天王台1-1-1 筑波大学臨床医学系

Table 1 Changes of GOT, GPT, total bilirubin levels and prothrombin time after the liver transplantation

	control (n=13)	Post-transplant day (n=5)			
		1	3	5	7
GOT (IU/l)	42±13	1,810±877**	341±218	105±46	313±265
GPT (IU/l)	35±11	1,511±367***	650±396*	558±218***	799±428*
T. Bilirubin (mg/dl)	0.11±0.05	0.08±0.07	0.48±0.85	0.58±0.93	0.23±0.15
Prothrombin (sec)	8.1±0.8	17.3±7.1	10.6±3.9	11.0±3.9	12.4±7.2

Mean±SD *p<0.05 **p<0.02 ***p<0.01

Table 2 Clearance of TMO and serum ratio of DMO/TMO at 2 hours after the administration. A significant difference was found at 1st post transplant day

		Tx group (n=5)	Control (n=5)	
		Clearance (ml/min/kg)	Donor	
	1 post Tx day	0.94±0.41	2.43±0.78	p<0.01
	7 post Tx day	3.65±1.74	2.35±0.52	NS
Serum DMO/TMO ratio	Donor	1.30±0.75	—	
	1 post Tx day	0.22±0.13	0.91±0.30	p<0.01
	7 post Tx day	1.35±0.96	0.99±0.20	NS

Tx, transplantation NS, not significant Mean±SD

間を測定した。

2. 薬物動態検査

タクロリムスと TMO の薬物動態検査は、肝移植群は移植後第 1 日と第 7 日に施行し、対照群はタクロリムス投与開始後第 2 日と第 8 日に施行した。また肝移植群のドナー犬についても、術前に TMO の薬物動態を調べた。タクロリムスは 0.3mg/kg を生理食塩水 40 ml に溶解し、テルフェージョンシリンジポンプ STC-523 (テルモ) を用いて、30 分かけて静注した。投与終了時、1 時間後、2 時間後、4 時間後、24 時間後に採血し、ELISA 法により全血中濃度を測定した。さらに 2-コンパートメントモデルによりクリアランスを算出し、クリアランスと 24 時間後血中濃度 (trough 値) を比較した。TMO は 4mg/kg を急速静注し、投与前、投与後 30 分、1 時間後、2 時間後に採血し、血清中 TMO、DMO 濃度をガスクロマトグラフィーにより測定した。1-コンパートメントモデルによりクリアランスを算出し、クリアランスと投与 2 時間後の血清中 DMO/TMO 比を比較した。

3. 統計学的検討

結果は平均値±標準偏差で記した。有意差の検定は Student's t test で行い、p<0.05 を有意とした。

成績

1. 肝移植群の血液生化学検査

肝移植群は 7 日以上生存した 5 頭について検討した。肝移植手術による総阻血時間は平均 104 分 (93~118 分) で、それぞれの生存日数は 9 日、10 日、20 日、27 日、50 日であった。肝移植後の血液生化学検査を無処置雑犬 (n=13) の GOT、GPT、総ビリルビン、プロトロンビン時間と比較すると、GOT は移植後第 1 日に、GPT は移植後第 1、3、5、7 日に有意に上昇しているが、総ビリルビンとプロトロンビン時間には有意の変動を認めなかった (Table 1)。

2. TMO の薬物動態

肝移植群 (n=5) と対照群 (n=5) を比較すると、移植後第 1 日にクリアランスと血清中 DMO/TMO 比は肝移植群で有意に低下していた。しかし移植後第 7 日にはクリアランスと血清中 DMO/TMO 比のどちらも、両群間で差を認めなかった。肝移植群の第 1 日と第 7 日を比較すると、クリアランスでは差を認めないが血清中 DMO/TMO 比は第 7 日に有意に改善していた (Table 2)。

3. タクロリムスの薬物動態

タクロリムスのクリアランスと投与 24 時間後の血中

Table 3 Clearance and whole blood levels of tacrolimus at 24 hours after the administration. No significant difference was found at either 1st or 7th post transplant day

		Tx group (n=5)	Control (n=3)	
Clearance (ml/min/kg)	1 post Tx day	3.08±1.95	4.23±1.60	NS
	7 post Tx day	3.63±1.52	2.47±0.77	NS
Whole blood levels at 24 hours (ng/ml)	1 post Tx day	29.0±18.0	14.4±5.2	NS
	7 post Tx day	20.0±9.6	30.0±13.5	NS

Tx, transplantation NS, not significant Mean±SD

濃度は、移植群 (n=5) と対照群 (n=3) で、移植後第1日と第7日のどちらにおいても差を認めなかった。また同じ群の投与開始時と1週後を比較しても差を認めなかった (Table 3)。

考 察

タクロリムスはシクロスポリンより強力な免疫抑制作用を有し、肝移植⁷⁾⁸⁾、腎移植⁹⁾¹⁰⁾の臨床においても有用性が報告されるようになった。本邦で行われた腎移植におけるタクロリムスの臨床試験では、拒絶反応や副作用の発現が血中濃度に関係しており、血中濃度をモニターしながら投与することが重要であると報告されている¹¹⁾。そしてタクロリムスは主として肝ミクロソーム P450¹²⁾で代謝されるため、血中濃度は肝ミクロソーム機能の影響を受け個人差も大きい。橋田ら¹³⁾は生体肝移植患者について肝機能とタクロリムスの血中濃度について検討している。それによると、免疫反応が原因と思われる移植肝機能障害を認めた症例の血中濃度は低く、タクロリムス投与量を増量することにより肝機能が改善したと述べている。一方、Abu-Elmagdら¹⁴⁾は肝移植後に黄疸の遷延した症例ではタクロリムスの濃度が高く、腎障害などの副作用の原因となっていることを報告している。このように肝移植症例においては、タクロリムスの免疫抑制作用や副作用の発現が移植肝ミクロソーム機能に依存していると考えられるため、移植肝ミクロソーム機能が移植に伴う肝阻血障害によりうける影響について検討した。

私たちは肝ミクロソーム機能の測定を、肝予備力を知る検査の1つと考え検討してきた。肝ミクロソーム機能を測定するためにアンチピリンやアミノピリンなどの薬剤を用いた報告が有るが、私たちは抗てんかん薬である TMO を用いている。TMO はアンチピリンやアミノピリンと同様に肝ミクロソームで脱メチル化され DMO となる。血清中の TMO、DMO 濃度はガス

クロマトグラフィーで測定可能である。生体中の蛋白とは結合せず、薬物動態も1-コンパートメントモデルで解析できるため、肝ミクロソーム機能を測定するのに適した薬剤であると考えている¹⁵⁾。雑種成犬を用いた肝阻血再灌流実験では、TMO の代謝は60分間肝阻血により著明に障害され、その回復に4~7日かかることが明らかになっている¹⁶⁾。今回の肝移植実験でも、移植後第1日に障害されていた TMO の代謝は移植後第7日に対照群と同じレベルに回復した。一方タクロリムスの代謝は移植後第1日においても第7日においても対照群と差を認めず、TMO の代謝に比べて肝阻血に対する耐性が強いことが示唆された。

今回の肝移植実験では総阻血時間は短く、移植後にトランスアミナーゼの上昇を認めたものの、総ビリルビンやプロトロンビン時間の変動は認めなかった。Abu-Elmagdら¹⁴⁾は肝移植後の血清ビリルビン値とタクロリムスの血中濃度の相関を報告しており、さらに阻血時間が延長し阻血による障害が増強すれば、タクロリムス代謝の低下や総ビリルビン値の上昇が生じるものと推察される。

近年チトクローム P450は細かく分類され¹⁷⁾、それぞれの酵素についての研究が行われるようになった。イヌではタクロリムスの代謝は P450 3A¹²⁾で、TMO の代謝は P450 2B と 3A¹⁸⁾で行われると報告されている。一方、Rappaport¹⁹⁾は、門脈と肝動脈の終末枝である小葉間動静脈と中心静脈の間の微小循環と機能を結び付けて腺房 (acinus) の概念を報告したが、種々の酵素活性が門脈周囲と中心静脈周囲で不均一に分布していることが知られている。このような主たる代謝酵素の違いあるいはその腺房内の局在の違いが、肝阻血後の TMO 代謝とタクロリムス代謝の差として認められたのではないかと推察している。

文 献

- 1) 齋藤侑也, 伊賀立二, 沢田康文: 薬物療法における血中濃度測定 of 臨床的意義. 伊賀立二, 齋藤侑也編. 薬物投与設計のための TDM の実際. 薬業時報社, 東京, 1993, p3-8
- 2) Kino T, Hatanaka H, Hashimoto M et al: FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a Streptomyces. I. Fermentation, isolation, and physico-chemical and biological characteristics. *J Antibiot (Tokyo)* 40 : 1249-1255, 1987
- 3) Kretzschmar R, Teschendorf HJ: Oxazolinediones. Edited by Frey HH, Janz D. *Handbook of experimental pharmacology* 74. Springer-Verlag, Berlin, 1985, p537-555
- 4) Tanaka E, Ishikawa A, Ono A et al: Trimethadione tolerance test for evaluation of functional reserve of the liver in patients with liver cirrhosis and esophageal varices. *J Pharmacobiodyn* 9 : 297-302, 1986
- 5) 岩崎洋治, 石川詔雄, 小林幸雄ほか: 肝硬変患者に対する手術適応とその予後. *外科治療* 56 : 251-256, 1987
- 6) 大塚雅昭, 石川詔雄, 田中栄之介ほか: トリメタジオンの薬物動態からみた虚血肝ミクロソーム機能の検討. *肝臓* 34 : 427-432, 1993
- 7) US multicenter FK506 liver study group: Use of Prograft (FK506) as rescue therapy for refractory rejection after liver transplantation. *Transplant Proc* 25 : 679-688, 1993
- 8) European FK506 multicenter liver study group: Randomised trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporin in prevention of liver allograft rejection. *Lancet* 344 : 423-428, 1994
- 9) Shapiro R, Jordan ML, Scantlebury VP et al: Randomised trial of FK506/prednisone vs FK506/Azathioprine after renal transplantation: preliminary report. *Transplant Proc* 25 : 669-672, 1993
- 10) 深尾 立, 落合武徳, 高橋公太ほか: 腎移植における FK506 (tacrolimus) の後期第II相試験成績. *移植* 29 : 614-631, 1994
- 11) 石橋道男, 高原史郎, 深尾 立ほか: 腎移植における FK506 (tacrolimus) の前期第II相試験成績. *移植* 29 : 294-313, 1994
- 12) Shiraga T, Matsuda H, Nagase K et al: Metabolism of FK506, a potent immunosuppressive agent, by cytochrome P450 3A enzymes in rat, dog and human liver microsomes. *Biochem Pharmacol* 47 : 727-735, 1994
- 13) 橋田 亨, 池西政幸, 虎口美典ほか: 生体肝移植患者における FK506 の TDM. *TDM 研* 10 : 211-212, 1993
- 14) Abu-Elmagd KM, Fung JJ, Alessiani M et al: Strategy of FK506 therapy in liver transplant patients: Effect of graft function. *Transplant Proc* 23 : 2771-2774, 1991
- 15) 石川詔雄, 田中栄之介, 辻 勝久ほか: 肝切除モデルにおける肝ミクロソーム機能の測定. *日外会誌* 88 : 303-307, 1987
- 16) 大塚雅昭, 石川詔雄, 湯沢賢治ほか: 虚血障害肝におけるトリメタジオン代謝能の変化. *肝臓* 35 : 461-462, 1994
- 17) Gonzalez FJ: Cytochrome P450 evolution and nomenclature. Edited by Schenkman JB, Greim H. *Handbook of experimental pharmacology* 105. Springer-Verlag, Berlin, 1993, p211-219
- 18) Daling Z, Tanaka E, Nakamura T et al: Effect of E-5110, a novel non-steroidal anti-inflammatory drugs, on trimethadione metabolism as an indicator of hepatic drug-oxidizing capacity in beagle dog. *Xenobiotica* 24 : 215-220, 1994
- 19) Rappaport AM: Acinar units and pathophysiology of the liver. Edited by Rouiller C. *The liver*. Academic Press, New York, 1963, p265-328

**Pharmacokinetics of Tacrolimus and Trimethadione after
Canine Liver Transplantation**

Masaaki Otsuka, Akio Ishikawa, Kenji Yuzawa, Hiroyuki Iida, Tadashi Kondo,
Shinya Adachi, Takeshi Todoroki and Katashi Fukao, Einosuke Tanaka*
Institute of Clinical Medicine, *Institute of Community Medicine University of Tsukuba

To study the effect of ischemic injury on drug metabolism after liver transplantation, the pharmacokinetics of tacrolimus and trimethadione (TMO) were examined after canine liver transplantation. Tacrolimus (0.3 mg/kg) was administered intravenously over 30 minutes. Whole blood levels of tacrolimus were determined by ELISA. TMO (4 mg/kg) was rapidly injected intravenously. Serum levels of

TMO and its metabolite dimethadione (DMO) were determined by gas chromatography. Pharmacokinetic analysis was made on the 1st and 7th posttransplant days, and compared with the control group in which the animals did not undergo the operation. Animals of both groups received an oral dose of tacrolimus (0.3 mg/kg) on the other post-operative days. On the 1st post-transplant day, the clearance of TMO and serum ratio of DMO/TMO 2 hours after the administration were 0.94 ± 0.41 ml/min/kg and 0.22 ± 0.13 in the liver transplant group (n=5). These were significantly lower than those of the control group (2.43 ± 0.78 ml/min/kg and 0.91 ± 0.30 , n=5). On the 7th post-transplant day, the clearance of TMO and the serum ratio of DMO/TMO were 3.65 ± 1.74 ml/min/kg and 1.35 ± 0.96 in the transplant group. No statistical difference was found between the two groups. The clearance and the whole blood levels 24 hours after the administration were compared to evaluate the pharmacokinetics of tacrolimus. No statistical differences were found between the transplant group and the control group on the 1st or 7th post-transplant day. The results indicate that the metabolism of TMO is more vulnerable to ischemic injury than that of tacrolimus. This suggests a difference in susceptibility to ischemia between P450 subspecies.

Reprint requests: Masaaki Otsuka Institute of Clinical Medicine, University of Tsukuba
1-1-1 Tennoudai, Tsukuba-shi, 305 JAPAN
