

第4回 日本臨床薬理学会 1983年12月1~2日 京都

ラット遊離肝細胞に関する研究—数種の薬剤 および Platonin の及ぼす影響—

波多野元久^{*1} 山田多啓男^{*1} 宮田捷信^{*1}
 吉田哲^{*1} 奥沢誠一^{*1} 清水聰^{*1}
 三浦浩一^{*1} 石原真理子^{*2} 谷覚^{*3}

目的 近年多くの新薬が開発されるのに伴って、それらの副作用の懸念も考えられてきた。そこで副作用の少ない薬剤の開発が望まれている。今回は薬剤の副作用の1つである肝障害を取りあげその検討を行った。肝障害を検査するには血清トランスアミナーゼを測定する方法などがあり、臨床的に広く用いられている。我々はさきに、肝細胞障害型に分類される四塩化炭素を用いてラットに肝障害を起こし、その遊離肝細胞のトランスアミナーゼ活性を測定することにより障害を確認しようと試みたが、遊離してくる肝細胞は組織的には変性を認めて酵素学的には一定の傾向が得られなかった¹⁾。そこで今回は正常の遊離肝細胞に直接薬剤を添加し、普遍的な細胞機能の指標として酸素摂取量を測定することにより、薬剤の肝細胞に対する影響を検討した。

方法 遊離肝細胞の作成は Berry らの方法に準じそれを若干変え用いた²⁾。体重約 200 g の Sprague-Dawley 系雄性ラットを用い、ウシ血清アルブミン (Fr-v, シグマ) を、次にコラゲナーゼ (Type 1, ワージントン) 50 mg を含む Ca^{2+} , Mg^{2+} free Hank's 液で灌流を行った。使用した遊

離肝細胞 ($1\sim5\times10^6$ 個、生存率 80~90%) は、実験の目的に従って Krebs-Ringer phosphate buffer (NaCl, 126 mM; KCl, 4.75 mM; MgSO₄, 1.19 mM; CaCl₂, 1.27 mM; KH₂PO₄, 1.19 mM; Na₂HPO₄, 8.15 mM; ブドウ糖, 5.56 mM; pH 7.4) に $1\sim2\times10^6$ 個/ml になるように浮遊した。酸素摂取量の測定は O_2 アップテスターを用い、反応容器内に遊離肝細胞浮遊液を 3 ml 入れ、薬剤は Krebs-Ringer phosphate buffer で溶解したものを 0.5 ml 添加した。37°C で 30 min preincubation 後、測定は 10 min 毎に 2 hr 連続的に行った。酸素摂取量は細胞 2.5×10^6 個当たりの μl で表し 4~5 例の平均で示した。生存率の測定方法は酸素摂取量測定後細胞浮遊液を取り出し、トリパンブルーを用いて染色性を duplicate の平均で表した。

成績 薬剤は酸素摂取量 (OU) と細胞生存率 (CV) の関係から以下の 5 級列に分類された。(1)測定濃度で OU, CV ともほとんど影響がない薬剤は、sulpyrine, barbital sodium, cefalotin sodium, cefotiam, pentoxifylline 等であった。(2) 1×10^{-2} M で OU のみ抑制したものは、cefalotin, cefalexin, cefaloglycin, phenacetin, cefoperazone sodium 等であった。(3) 1×10^{-2} M で OU, CV とも抑制したものは、hexobarbital, cefoxitin, trapidil, cefaloridine, alloxan 等であった。Trapidil は 10^{-2} M で OU 28.7%, CV 5.6% と明

*1 城西歯科大学内科学講座

〒350-02 埼玉県坂戸市けやき台 1-1

*2 同化学講座

*3 城西大学薬学部

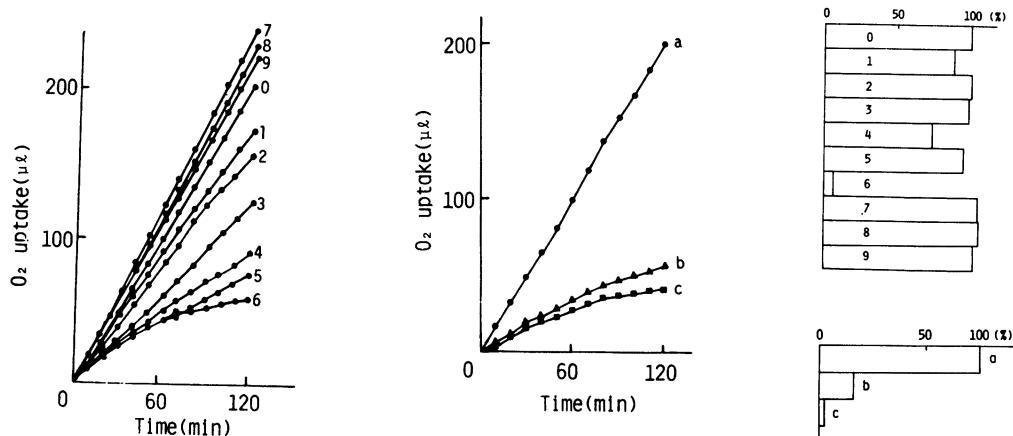


Fig. Effects of various drugs on oxygen uptake and cell viability in isolated rat hepatocytes.
 0. Control 1. Sulpyrin 2. Cefaloglycin 3. Cefoperazone 4. Hexobarbital 5. Phenacetin
 6. Trapidil 7. Platonin 8. Solcoseryl 9. PLP
 a. Control b. Trapidil+Platonin c. Trapidil

らかに抑制効果が見られた³⁾。(4) OU, CV とも 1×10^{-3} M でも抑制したものは、chlortetracycline, chlorpromazine, rifampicin 等であった。Chlorpromazine の 2 hr 後の CV は 3.0×10^{-4} M 以上では 0 % であった。Rifampicin の 2 hr 後の OU は、 10^{-2} M で 20.6 %, 10^{-3} M で 36.9 % に抑制され, CV は 10^{-2} M では 0 になり, 10^{-3} M では 3.7 % に低下した。また, 10^{-4} M および 5×10^{-5} M では OU はそれぞれ 94.4 %, 96.8 % となつたが, CV に影響は見られなかった。(5) OU, CV とも賦活したものは、platonin, PLP, solcoseryl 等であった。Platonin は 10^{-3} M で OU 104.1 %, CV 99.6 %, 10^{-2} M で OU 121.3 %, CV 104.3 % となり賦活が見られた。更に薬剤相互作用を検討する目的で、抑制効果の強い薬剤に賦活作用のある platonin を加えて見た。 10^{-2} M の trapidil 単独では OU 20.8 % であったが、platonin を添加すると 28.1 % に上がった。CV も 2.4 % から 15.7 % に上昇した。この結果 platonin に強い抑制効果の緩和が認められた。

考察・結語 今回は常用量を越えた薬物濃度で実験を行ったが一般に、細胞の機能に影響を及ぼすといわれている薬物は、呼吸機能にも影響を及

ぼすことが判明した。従って肝障害を起こす薬物の検定法として遊離肝細胞の酸素摂取量測定が簡単な方法と考えられる。呼吸活性の低下が細胞の死亡率に結びつかない薬剤もあるのは、その薬剤の作用点の違いによるものと思われる。また、同じ基本骨格をもっているにもかかわらず遊離肝細胞の呼吸活性に差異が見られたのは、基本骨格以外の化学構造が呼吸活性に影響を及ぼすことを示唆している。従来肝障害が報告されている rifampicin, phenacetin, chlorpromazine は、遊離肝細胞の呼吸活性を本実験でも強く抑制した。また、その抑制効果は platonin によって緩和された。Platonin は網内系機能亢進作用が知られており、臨床的にリウマチ治療に用いられている薬剤であるが、今回は我々の実験より肝細胞賦活作用をも推定できた。

文 献

- 1) 波多野元久ほか：城歯大紀要, 7 : 139-143 (1978).
- 2) Hatano, M. et al. : Bull. Josai Dent. Univ., 8 : 205-208 (1979).
- 3) 波多野元久ほか：城歯大紀要, 11 : 434-438 (1982).