

## —Regular Article—

**Crush syndrome モデルラットにおける dexamethasone の薬物動態の変化と特徴**

村田 勇,\* 大塚晃生, 原 千裕, 本橋理沙, 河野詩穂, 井上 裕, 金本郁男

**Pharmacokinetics Characteristics of Dexamethasone in Crush Syndrome Model Rats**

Isamu Murata,\* Akio Otsuka, Chihiro Hara, Risa Motohashi, Shiho Kouno, Yutaka Inoue, and Ikuo Kanamoto

*Laboratory of Drug Safety Management, Faculty of Pharmaceutical Science, Josai University; 1-1 Keyakidai, Sakado, Saitama 350-0295, Japan.*

(Received August 28, 2014; Accepted October 10, 2014)

Crush syndrome (CS) is characterized by ischemia/reperfusion-induced rhabdomyolysis and subsequent systemic inflammation and has a high mortality rate, even when treated with conventional therapy. In previous studies, we demonstrated that treatment of rats with acute lethal CS using dexamethasone (DEX) had therapeutic effects in laboratory findings and improved the clinical course of CS. However, because the application of DEX in CS therapy is unknown, evaluation of the pharmacokinetic parameters of DEX was considered essential to support its clinical use. Here, we investigated the pharmacokinetic characteristics of DEX in a rat model of CS. Anesthetized rats were subjected to bilateral hind limb compression using rubber tourniquets for 5 h, followed by reperfusion for 0 to 24 h. Rats were divided randomly into 4 groups: saline-treated sham (S) and CS groups and 5.0 mg/kg DEX-treated S (S-DEX) and CS (CS-DEX) groups. Blood and tissue samples were collected for HPLC analysis. In the CS-DEX group, the pharmacokinetic parameters of the area under the concentration-time curve, mean residence time, and distribution volume levels increased significantly compared to the S-DEX group, whereas total body clearance, elimination rate constant, and renal clearance levels decreased significantly. Moreover, decrease of muscle tissue DEX concentration and of CYP3A activity were observed in the CS-DEX group. These results show the pharmacokinetic characteristics of DEX in the rat CS model and support the potential use of DEX in disaster medical care.

**Key words**—crush syndrome; dexamethasone; pharmacokinetic parameter; HPLC-UV

## 緒 言

Crush syndrome (CS) は、地震などのような突発的な出来事の後に生じる致死率の高い外傷性疾患である。<sup>1)</sup>これまでに阪神淡路大震災、<sup>2)</sup> 四川大地震、<sup>3)</sup> 東日本大震災<sup>4)</sup>などの大規模な震災に多く報告されている。今日では、圧迫又はクラッシュの結果生じる骨格筋細胞傷害によって引き起こされる全身症状と定義<sup>5)</sup>され、発症機序は、倒壊物の下敷きとなり骨格筋に圧迫が加わった後に、救出などの圧迫解除、すなわち、筋肉組織の虚血再灌流によって骨格筋細胞傷害が引き起こされることを発端とし、<sup>6)</sup> 心不全や低循環性ショック、ミオグロビン (myoglobin; Mb) 尿性急性腎不全、全身炎症反応

症候群 (systemic inflammatory response syndrome; SIRS) が生じて重篤な状態をたどる。特に、SIRS は急性呼吸窮迫症候群 (acute respiratory distress syndrome; ARDS) や多臓器不全 (multiple organ dysfunction syndrome; MODS) を引き起こすことから、治療施行中から高度な管理が要求される。<sup>7)</sup>

CS の治療法は、輸液薬剤の大量投与を行うことで、高カリウム血症や低循環性ショックによる死亡の回避、尿のアルカリ化や血液透析によって Mb 尿性急性腎不全などの発症リスクを低減することで、死亡や重篤化の回避が可能となってきた。<sup>8)</sup>しかしながら、それら治療の施行によっても、SIRS による ARDS や MODS、敗血症などの症状が防げないケースが報告されている。<sup>1,3,7)</sup> この原因是、時間経過とともに進行(又は重篤化)する炎症反応が、初期に治療されないと考えられた。

デキサメタゾン (dexamethasone; DEX) は、ス

テロイド性抗炎症薬の一種であり、炎症性疾患だけでなくがん治療の制吐などに幅広く使用されている。われわれは、CS ラットに対して DEX を低用量 (0.1 mg/kg) 及び高用量 (5.0 mg/kg) を急速静脈内投与した。特に高用量に抗ショック、抗不整脈効果だけでなく、内皮型 NO 合成酵素の活性化を介する抗炎症作用を示し高い生存性をもたらすことを明らかにし、CS 発症の初期から炎症反応に着目した治療の重要性を示した。<sup>9)</sup>

臨床現場において安全かつ有効に使用するためには体内動態が明らかでなければならないが、CS のような疾患は、傷害部位の浮腫形成による細胞外スペース (third space) が生じるだけでなく、炎症性サイトカインによる肝臓中薬物代謝酵素の誘導抑制<sup>10)</sup>やグルココルチコイド作用や免疫抑制作用も有することから、CS の発症状況では感染症に対しても注意が必要である。そのため、CS に対する治療戦略を構築するために DEX 投与後の体内動態の特徴を知ることは重要である。

われわれは、CS モデルラットを用いて DEX の体内挙動を明らかにするために薬物の動態パラメーターやその影響因子について調査した。

## 方 法

**1. 使用動物** 日本エスエルシー株式会社から得られた Wistar 系雄性ラット (SPF grade: 228–330 g) を室温  $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度  $55 \pm 15\%$ 、明暗サイクル 12 時間で餌と水が自由に食べられる状態で管理した。なお、本研究で使用されるすべての実験動物は城西大学生命科学研究センターによって承認された動物用ガイドラインに従って実施された。

### 2. Crush syndrome モデルラット作製方法

ペントバルビタールナトリウム麻酔下 [初回量として 50 mg/体重 (kg)、維持量として 15–20 mg/体重 (kg)/h] のラットを仰臥位で固定し、後肢を伸ばした状態でステンレスパイプの中に入れ、圧迫用ラバーバンドをスライドさせて適用し、両後肢を 5 時間圧迫した。その後、ラバーバンドを切開し除去、圧迫を解除して作製した。<sup>11)</sup>

**3. 実験デザイン** 本実験で使用した DEX 注射溶液は、以前の報告を参考<sup>9)</sup>に、デキサメタゾンリン酸エステル二ナトリウム (Sigma-Aldrich) をデキサメタゾンとして 0.1 及び 5.0 mg/体重 (kg)/

生理食塩液 100  $\mu\text{L}$  の濃度に調製を行った。

麻酔下においてラットは、無作為に以下に示す 6 群に分けた。圧迫を行わずに 5 時間の麻酔処置した後に生理食塩液 (生食) 100  $\mu\text{L}$ , 0.1 及び 5.0 mg/kg DEX を急速尾静脈内投与した群は、sham (S), S-DEX 0.1 及び S-DEX 5.0 群とした。一方、圧迫用ラバーバンドを用いて CS モデルラットを作製し、圧迫解除直前に、生食 100  $\mu\text{L}$ , DEX 0.1 及び DEX 5.0 mg/kg を急速尾静脈内投与した群は、CS, CS-DEX 0.1 及び CS-DEX 5.0 群とした。なお、S 及び CS-DEX 0.1 群の DEX 濿度は、実験期間内に定量下限未満が存在し、十分な解析が不可能であったことから、5.0 mg/kg DEX 投与した群のみとし、以降 DEX 5.0 を DEX と表記した。

**4. 血漿及び尿サンプルの経時的採取** 実験期間中、ペントバルビタール麻酔は維持した。すべての処置群のラットは、経時的に採血を行うためにラットの右頸静脈にヘパリン化したポリエチレンチューブ (INTRAMEDIC<sup>TM</sup> PE50) を挿入して固定した。採血は圧迫解除後 0.083, 0.167, 0.25, 0.5, 1, 3, 6, 12, 15, 18, 21 及び 24 時間後 (計 12 回) に行った。採血量は 300  $\mu\text{L}$  とし、採血後に等量の生食を注入した。採取した血液は速やかに遠心分離 ( $4^{\circ}\text{C}$ ,  $3000 \times g$ , 5 min) して血漿サンプルを得た。尿サンプルは、採取するために排尿ルートを遮断した後に膀胱内にポリエチレンチューブを挿入して筋層及び皮膚の順に縫合して固定したチューブより得た。採尿は、再灌流前 1 時間から再灌流後 24 時間まで 1 時間毎に行った。採取した尿は、速やかに遠心分離 ( $25^{\circ}\text{C}$ ,  $3000 \times g$ , 5 min) して、上清をサンプルとした。得られた血漿及び尿上清サンプルは、HPLC による測定時まで凍結保存 ( $-80^{\circ}\text{C}$ ) した。

**5. 血漿及び組織サンプルの 1 point 1 kill による採取方法** 再灌流 0.5, 1, 3, 6, 12 及び 24 時間後に麻酔処置を施したラットを開腹して下大静脈より採血を行って血漿に分離した。採血後は、心臓、肺、腎臓、肝臓及び下肢筋肉 (圧迫部位) を得るために、リン酸緩衝液にて心肺灌流処理した。得られたサンプルは、使用時まで凍結保存 ( $-80^{\circ}\text{C}$ ) した。

**6. 血漿及び尿サンプル調製方法** 血漿及び尿サンプル調製は、サンプル (50  $\mu\text{L}$ ) にパラオキシ安息香酸プロピル (internal standard; i.s.) メタノール溶液 (0.02  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ , 30  $\mu\text{L}$ ) 及びメタノール (20

$\mu\text{L}$ ) を加えて混合攪拌した。その後、遠心分離(4°C, 20000×g, 20 min)によって、除タンパク操作を行い、上清を測定用サンプルとした。

一方、摘出組織サンプルは、組織重量(g)4倍量メタノール中で POLYTRON® PT-MR 2100 を用いてホモジナイズ(26000 rpm, 1 min)した。得られたホモジネート液は速やかに遠心分離(4°C, 12000×g, 20 min)を行った。得られた上清(400  $\mu\text{L}$ )に蒸留水(800  $\mu\text{L}$ )及びi.s.溶液(30  $\mu\text{L}$ )を加えた。その後、組織中DEXを抽出するために固相抽出(solid phase extraction; SPE)操作を行った。SPEの方法は、SPEカートリッジ(Strata™ X 33u Polymeric Reversed Phase, Phenomenex®)を用いて得られた溶出液を十分に窒素乾固させたのちに移動相(100  $\mu\text{L}$ )に再溶解して用いた。

**7. HPLC測定の条件** Iqbal らの報告<sup>12)</sup>を参考にして、移動相はリン酸緩衝液(pH 5.4)/アセトニトリル/メタノール=1.73/1.16/1, 検出波長は254 nm, カラム温度は40°C, 流速は1 mL/min及び試料注入量は20  $\mu\text{L}$ の条件で測定を行い、カラムはInertsil ODS-3(4.6 mm×250 mm,  $\phi$  5  $\mu\text{m}$ )を用いた。なお、検量線は0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50 及び100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度範囲を用いた。

**8. DEXの定量下限** 定量下限(limit of quantitation; LOQ)は、 $\text{LOQ} = 10\sigma/\text{slope}$ の式を用いて算出した。血漿、尿及び組織のLOQ値は、それぞれ0.02  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 付近であった。なお、 $\sigma$ は、ブランク試料の測定値の標準偏差を示し、slopeは、定量下限付近の検量線より算出した。

**9. 薬物動態学的解析** 薬物動態(pharmacokinetics; PK)パラメーターは、以下の項目を用いた。血漿中濃度-時間曲線下面積(area under the concentration-time curve; AUC)は、台形公式を用いて算出した。平均滞留時間(mean residence time; MRT)の算出において用いたモーメント曲線下面積(area under the moment curve; AUMC)は、台形公式を用いて算出した。分布容積( $V_d$ )、全身クリアランス( $CL_{\text{tot}}$ )、腎クリアランス( $CL_r$ )、最大血中濃度( $C_{\text{max}}$ )、消失速度定数( $K_{\text{el}}$ )及び組織-血漿中濃度比( $K_p$ )値は、一般的な手法を用いて算出した。

**10. シトクロムP450 3A活性測定法** Nomura らの報告<sup>13)</sup>を参考に、肝臓中ミクロソーム分画を抽出するために組織重量(g)4倍量1.15%リン酸緩衝液中で POLYTRON® PT-MR 2100 を用いてホモジナイズした。得られたホモジネート溶液は、速やかに超遠心分離操作を行ってミクロソームを得た。ミクロソームは0.1 M 塩化ナトリウム(pH 7.4)に懸濁し、タンパク質濃度を5 mg/mLに調製した。タンパク質濃度はビシンコニン酸(BCA)タンパク質測定キット(Thermo SCIENTIFIC)を用いて説明書に従って測定した。なお、得られたミクロソームは、測定時まで凍結保存(-80°C)した。

シトクロムP450(CYP)3A活性値測定は、Baltes らの報告<sup>14)</sup>を参考にHPLCシステムを用いてテストステロンから $6\beta$ -ヒドロキシテストステロンへの変換から算定した。サンプル中の $6\beta$ -ヒドロキシテストステロンのHPLCの測定条件は、移動相はリン酸緩衝液(pH 6.0)/アセトニトリル/メタノール=35/35/30, 検出波長は242 nm, カラム温度は40°C, 流速: 1.2 mL/min, 試料注入量20  $\mu\text{L}$ , カラムはInertsil ODS-3(4.6 mm×250 mm,  $\phi$  5  $\mu\text{m}$ )を用いた。乾固させたサンプルは、移動相(100  $\mu\text{L}$ )で溶解させた。なお、検量線は0, 0.0411, 0.0822, 0.1644, 0.411, 0.822, 1.644, 4.11 及び8.22  $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度範囲を用いた。

**11. 血漿中DEXタンパク質結合率、血漿中糖濃度及び血漿又は肝臓組織中糖化アルブミン率の算出** 血漿サンプル中のDEXの遊離型(DEX free)を得るために、Centrifree®(Merck Millipore)を用い、限外濾過法によってDEX freeを単離した。操作方法は、取扱い説明書に従った。DEX total及びDEX freeのサンプル調製は、血漿及び尿サンプル調製方法に従いHPLCの条件も同様として、血漿中DEXタンパク結合率を算出した。血漿並びに肝臓組織中アルブミン(Alb)量の測定は、BCAタンパク質測定キットを用いた。血糖(Glu)値は、血漿サンプルをグルテスト Neo スーパー[株三和化学研究所]によって測定して算出した。糖化Alb(G-Alb)値は、Glycoprotein Carbohydrate Estimation Kit(Thermo SCIENTIFIC)によってアルブミンの糖化率を測定して算出した。

**12. 統計学的解析** データは、平均値±標準

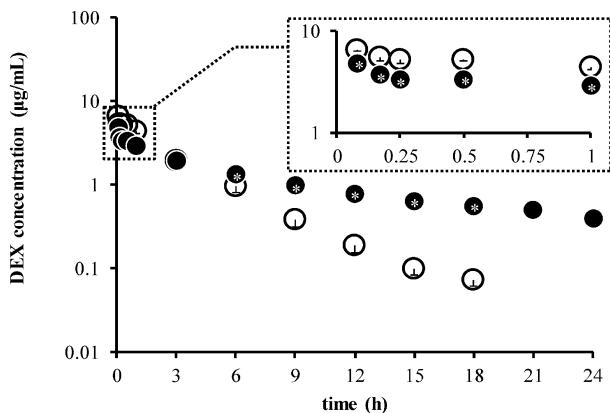


Fig. 1. Plasma Concentration Profile of Dexamethasone by Sequential Sampling 0 to 24 h in Sham and Crush Syndrome Rats (semi-log scale)

Plasma concentrations of dexamethasone in ○: S-DEX group and ●: CS-DEX group. Values are shown as the mean  $\pm$  S.E.M., \* $p$  < 0.05 vs. S-DEX group, (Student's *t*-test). Dexamethasone concentrations of S-DEX group were not detected at 21 to 24 h.

誤差 (S.E.M.) で表記した。2群間の比較に *f*-test を実施後, *t*-test を行った。また, 3群間以上の比較は, 分散分析 (ANOVA) を行い各群の差異を評価し, 群間の比較は, Tukey 検定を用いた。なお  $p$  < 0.05 を有意差ありと判断した。

## 結果

1. 経時的サンプリングによる血漿及び尿中 DEX 濃度プロファイル 経時的サンプリングによる血漿中 DEX 濃度推移及び PK パラメーターの結果は, Fig. 1 及び Table 1 に示した。

CS-DEX 群の血中濃度は, S-DEX 群に比して薬物投与後 3 時間までは低値を示し, 特に, 薬物投与後 5 分の DEX 濃度は, S-DEX 群に比して, CS-DEX 群が有意に低下した。薬物投与 6 時間目以降は, S-DEX 群に比べて CS-DEX が高値を示した。CS-DEX 群は, S-DEX 群と比較して AUC, MRT 及び  $V_d$  値が有意に増加し,  $CL_{tot}$  値は有意に減少した。

未変化体 DEX の累積尿中排泄量及び PK パラメーターは, Fig. 2 及び Table 2 に示した。未変化体 DEX の累積尿中排泄の時間推移は, S-DEX 群に比して CS-DEX 群で減少する傾向を示し, 薬物投与後 24 時間では約 6 分の 1 に有意に減少した。 $CL_r$  も同様に約 6 分の 1 に有意に低下し,  $CL_r/CL_{tot}$  値も有意に減少した。

## 2. 組織中 DEX 濃度プロファイル 各組織中

Table 1. Plasma Pharmacokinetic Parameters of Dexamethasone in Sham and Crush Syndrome Rats

	S-DEX	CS-DEX
AUC ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ )	$19.1 \pm 1.6$	$29.9 \pm 1.0^*$
MRT (h)	$3.86 \pm 0.28$	$10.0 \pm 1.5^*$
$V_d$ (L/kg)	$0.94 \pm 0.03$	$1.63 \pm 0.07^*$
$CL_{tot}$ (L/h/kg)	$0.27 \pm 0.02$	$0.17 \pm 0.01^*$

Values are shown as the mean  $\pm$  S.E.M.; \* $p$  < 0.05 vs. S-DEX group (Student's *t*-test). AUC: area under the concentration-time curve; MRT: mean residence time;  $V_d$ : distribution volume;  $CL_{tot}$ : total body clearance.

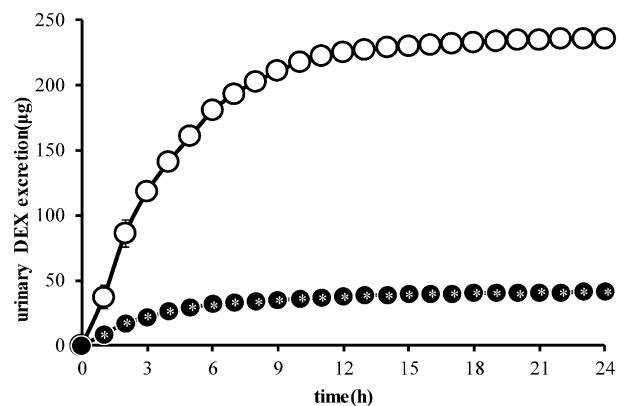


Fig. 2. Cumulative Urinary Excretion of Dexamethasone by Sequential Sampling at 0 to 24 h in Sham and Crush Syndrome Rats

Urinary excretion of dexamethasone of in ○: S-DEX group and ●: CS-DEX group was measured. Values are shown as the mean  $\pm$  S.E.M., \* $p$  < 0.05 vs. S-DEX group (Student's *t*-test).

Table 2. Urine Pharmacokinetic Parameters of Dexamethasone in Sham and Crush Syndrome Rats

	S-DEX	CS-DEX
Amount <sub>0-24 h</sub> ( $\mu\text{g}$ )	$188.3 \pm 25.2$	$29.4 \pm 8.8^*$
$CL_r$ (L/h/kg)	$0.012 \pm 0.002$	$0.002 \pm 0.001^*$
$CL_r/CL_{tot}$ (%)	$4.84 \pm 0.84$	$1.00 \pm 0.28^*$

Values are shown as the mean  $\pm$  S.E.M.; \* $p$  < 0.05 vs. S-DEX group (Student's *t*-test). Amount<sub>0-24 h</sub>: cumulative urinary excretion 0 to 24 h;  $CL_r$ : renal clearance;  $CL_r/CL_{tot}$ : renal clearance/total body clearance ratio.

DEX 濃度プロファイルを Fig. 3 に示した。DEX の薬物分布濃度は, 肝臓, 腎臓, 筋肉の順に高かった。CS-DEX 群の筋肉中 DEX は, S-DEX 群と比較して  $C_{max}$  値 ( $4.6 \pm 1.8$  vs.  $0.7 \pm 0.1 \mu\text{g}/\text{g}$ ,  $p$  < 0.05) 及び  $k_{el}$  値 ( $0.23 \pm 0.03$  vs.  $0.03 \pm 0.00 \text{ h}^{-1}$ ,  $p$  < 0.05) の有意な低下を観察した。CS-DEX 群の腎臓中は, S-DEX 群の濃度に比べて低下し,  $C_{max}$  値の有意な減少 ( $7.4 \pm 0.9$  vs.  $5.5 \pm 0.8 \mu\text{g}/\text{g}$ ,  $p$  < 0.05) を示した。一方, CS-DEX 群の肝臓中 DEX 濃度は,

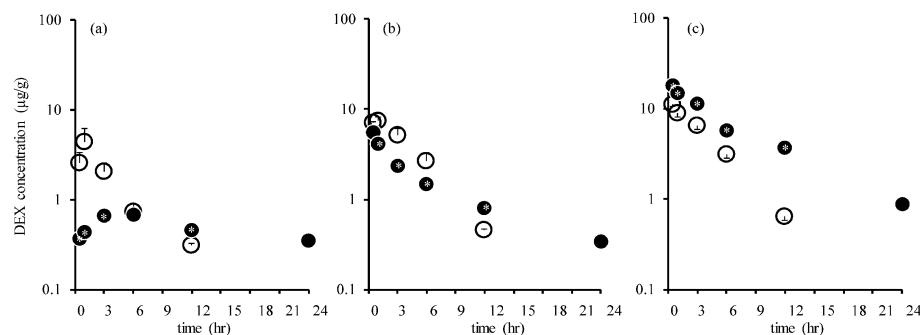


Fig. 3. Concentrations of Dexamethasone in Gastrocnemius Muscle, Kidney, and Liver by One-Point-One-Kill Sampling in Sham and Crush Syndrome Rats (semi-log scale)

Dexamethasone concentrations in (a) gastrocnemius muscle, (b) kidney, and (c) liver were measured (○: S-DEX group, ●: CS-DEX group). Values are shown as the mean  $\pm$  S.E.M., \* $p$  < 0.05 vs. S-DEX group (Student's *t*-test). Dexamethasone concentrations of S-DEX group were not detected at 24 h.

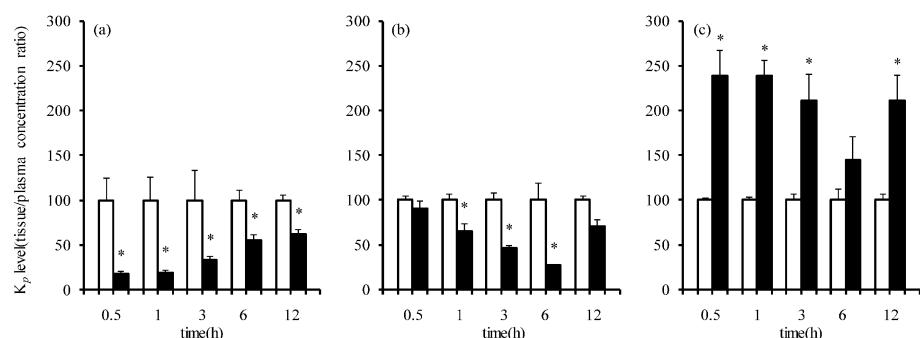


Fig. 4. Tissue/Plasma Concentration Ratio ( $K_p$ ) of Dexamethasone in Gastrocnemius Muscle, Kidney, and Liver by One-Point-One-Kill Sampling at 0.5 to 12 h in Sham and Crush Syndrome Rats

$K_p$  of dexamethasone in (a) gastrocnemius muscle, (b) kidney, and (c) liver was measured (white bar: S-DEX group, black bar: CS-DEX group). Values are shown as the mean  $\pm$  S.E.M., \* $p$  < 0.05 vs. S-DEX group (Student's *t*-test).

S-DEX 群と比較して  $C_{max}$  値の有意な上昇を示した ( $10.9 \pm 0.4$  vs.  $18.3 \pm 2.3 \mu\text{g/g}$ ,  $p < 0.05$ )。心臓及び肺組織中においても同様の傾向が観察された (data not shown)。

S-DEX 群の  $K_p$  値は、顕著な変化を観察しなかつたことから、S-DEX 群を基準とした CS-DEX 群の変化を Fig. 4 に示した。CS-DEX 群の傷害筋肉  $K_p$  値は、S-DEX 群に比して実験期間中低下することが観察された。特に、薬物投与 0.5 時間後の CS-DEX 群は、S-DEX 群の 5 分の 1 程度まで低下した。薬物投与 24 時間後の CS-DEX 群は、S-DEX 群の 5 分の 3 程度まで上昇した。一方、CS-DEX 群の肝臓組織  $K_p$  値は、S-DEX 群と比べて実験期間中、有意に高く薬物投与 0.5 時間後が最大値、薬物投与 6 時間後が最小値を示し、薬物投与後 12 時間後に上昇した。また、CS-DEX 群の腎臓組織  $K_p$  値は、S-DEX 群と比較して徐々に低下する傾向を示し、薬物投与後 6 時間後に最小値を示した。心臓及び肺組織  $K_p$  値に顕著な変化は観察されなかった

Table 3. Protein Binding Ratio and Enzyme Activity of Dexamethasone in Sham and Crush Syndrome Rats

Reperfused (h)	3	6	24	
DEX protein binding rate (%)	S			
	S-DEX	$86.2 \pm 0.3$	$88.3 \pm 0.3$	N.D.
	CS			
	CS-DEX	$84.0 \pm 0.8$	$80.9 \pm 0.8^*$	N.D.
CYP3A activity (%)	S	$100 \pm 12$	$100 \pm 20$	$100 \pm 11$
	S-DEX	$130 \pm 9^{\#}$	$175 \pm 24^{\#}$	$153 \pm 17^{\#}$
	CS	$114 \pm 3$	$104 \pm 11$	$106 \pm 18$
	CS-DEX	$123 \pm 3^{\#}$	$147 \pm 7^{\#}$	$141 \pm 26^{\#}$

Values are shown as mean  $\pm$  S.E.M.; \* $p$  < 0.05 vs. S-DEX group,  $^{\#}$  $p$  < 0.05 vs. S group (Student's *t*-test). N.D.: not detected.

(data not shown).

3. DEX のタンパク結合性 DEX は、血中 Alb に結合し肝臓の CYP3A 分子種にて代謝される薬物である。Table 3 に各群の血漿中 DEX タンパク結合率及び CYP3A 活性を示した。なお、血漿中 DEX タンパク結合率は、S- 及び CS-DEX 群のみ測

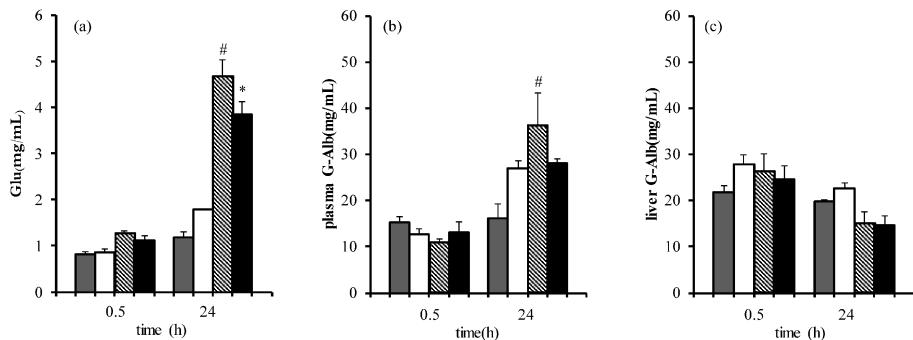


Fig. 5. Change in Blood Glucose, Plasma, and Liver Glycated Albumin of Dexamethasone by One-Point-One-Kill Sampling at 0.5 and 24 h in Sham and Crush Syndrome Rats

The effects of dexamethasone on (a) plasma glucose, (b) plasma glycated albumin, and (c) liver glycated albumin were measured (Gray bar: S group, white bar: S-DEX group, shade bar: CS group, black bar: CS-DEX group). Values are shown as the mean  $\pm$  S.E.M.,  $^{\#}p < 0.05$  vs. S group,  $^{*}p < 0.05$  vs. S-DEX group (Tukey's test).

定し、薬物投与 24 時間後は、両群において非結合薬物濃度が定量下限以下であったことから測定できなかった。

CS-DEX 群の血漿中タンパク結合率は、S-DEX 群に比して低下する傾向が観察された。肝臓中 CYP3A 活性値は、S 群に比べ、DEX 投与群は一様に上昇し、それは、CS 群と比較しても同様であり、CS-DEX 群が、実験期間中に高い値を示した。

DEX の結合する Alb は、糖化されることで肝臓の移行性を高めることから血漿 Glu、血漿中 G-Alb 及び肝臓中 G-Alb 値を Fig. 5 に示した。実験期間中の血漿及び肝臓組織中の Alb 値に顕著な変化は観察されなかった (data not shown)。薬物投与 0.5 時間後における Glu 値、血漿中及び肝臓組織中 G-Alb 変化率は、すべての群で顕著な変化は観察されなかった。一方、薬物投与 24 時間後では、Glu 値が、S 群に比して S-DEX、CS 及び CS-DEX 群に顕著な上昇が観察され、血中 G-Alb 値が S 群に比して S-DEX、CS 及び CS-DEX 群で有意な上昇を観察した。

## 考 察

われわれは、CS の初期治療の候補として静脈内 DEX 急速投与に注目している。CS ラットにおいて DEX は、抗炎症反応、抗ショック及び抗心不全作用を有し、それらの効果は一酸化窒素合成経路を正常化させた薬理効果によってもたらされることを明らかにしている。<sup>9)</sup> 臨床使用を促すとともに治療戦略を構築するために本検討を行った。

われわれは、CS 病態下において心臓や腎臓機能

低下<sup>5,11)</sup>などがもたらす低循環状態によって組織分布が一様に低下すると予想した。しかしながら、CS ラットの肝臓組織のみが薬物投与直後から高い濃度を示した。Nakajou や Onoda らによれば糖化された Alb は、肝臓に選択的に移行すると報告しているが、<sup>15,16)</sup> 血中の G-Alb 量は、CS ラットや DEX の投与による Glu 値の変化に伴って著しく上昇するも、肝臓組織中の G-Alb 値は変化せず、肝臓薬物濃度と一致しなかった。われわれは、追加的に主要組織の浮腫の評価を湿重量/乾燥重量比によって評価したところ、CS-DEX 群は sham 群に比較して肝臓浮腫が薬物投与 0.5 時間後に最大値を示したことが影響したと考えられた (sham: 2.62  $\pm$  0.09, CS: 3.43  $\pm$  0.18, CS-DEX: 3.25  $\pm$  0.10)。また、圧迫傷害筋肉の湿重量/乾燥重量比は、薬物投与 24 時間後に最大値を示した (sham: 4.04  $\pm$  0.05, CS: 5.68  $\pm$  0.19, CS-DEX: 4.84  $\pm$  0.17)。本モデルラットは、傷害を受けた筋肉が血管透過性の亢進に伴って患肢の腫脹、すなわち細胞外への体液シフトによる third space 形成を引き起こしている。<sup>11)</sup> これら変化は薬物分布の変化に関与<sup>17)</sup>することからも、DEX の薬物分布を変化させて代謝遅延を引き起こしている要因と考えられた。

DEX は、主に肝代謝を受ける薬物である。DEX は、CYP3A 分子種によって代謝を受ける。虚血再灌流傷害のような炎症反応時は、CYP3A 分子種の誘導抑制が報告<sup>10)</sup>されているだけでなく、自身の代謝酵素である CYP3A 分子種活性を上昇させる。<sup>18)</sup> 麻酔対照のラットと比較して CS 病態下に投与を行うと、酵素活性化が約 15% 程度抑制されたことに

よって薬物代謝遅延に関与したと考えられた。しかしながら、検討を実施するために用いたペントバルビタール麻酔は、CYP3A 分子種を誘導する。実際に、再灌流 0.5 時間値と比較して 24 時間後は、2 倍以上に活性値が上昇していたことから (data not shown)，更なる研究のためには、その影響を考える必要があるだろう。一方、DEX は、一部の未変化体が腎排泄によって体内から消失される。CS は、心機能や腎機能が低下する。尿中未変化体排泄量は、S-DEX 群においても投与薬物量の約 5% 程度であり CS によって排泄量が約 6 分の 1 に低下するが、薬物の消失遅延に対する影響は少ないと考えられた。以上のことから 5.0 mg/kg DEX 投与は、単回投与では問題なくとも、複数回にわたり投与する場合は、薬物の蓄積を招く可能性が考えられた。敗血症モデルラットにおける抗ショックや抗炎症作用を発揮する DEX 投与量は、0.1–6.0 mg/kg<sup>19–22</sup> であり、本検討で使用した 0.1 mg/kg DEX 投与量は、CS ラットに対して生存期間の延長をもたらすが、心不全、ショック及び炎症反応に対する有効性は低かった。<sup>9</sup> さらに、5.0 mg/kg の投与量は投与タイミングの遅れや分割投与が、生存率を低下させることも確認している (data not shown)。すなわち、高用量を一回で投与し、いかに早く血中濃度を高くできるかが重要なポイントであると考えられた。

以上より、本研究は、CS 時の主要組織における DEX 体内動態の特徴を明らかにしたことで今後これらの特徴を踏まえた DEX の使用に有益な情報を提供するものである。

**謝辞** 本研究に携わりご協力並びにご尽力頂いた研究室諸氏に感謝申し上げます。

**利益相反** 開示すべき利益相反はない。

## REFERENCES

- Yokota J., *JMAJ*, **48**, 341–352 (2005).
- Oda J., Tanaka H., Yoshioka T., Iwai A., Yamamura H., Ishikawa K., Matsuoka T., Kuwagata Y., Hiraide A., Shimazu T., Sugimoto H., *J. Trauma*, **42**, 470–476 (1997).
- Shi Y. K., Wang L. L., Lin Y. D., Pei F. X., Kang Y. M., *Chin. J. Traumatol.*, **13**, 131–136 (2010).
- Inoue Y., Kikuchi S., Onodera M., Fujino Y., Akitomi S., Yamada Y., Endo S., *Japanese Journal of Reanimatology*, **32**, 23–28 (2013).
- Greaves I., Porter K., Smith J. E., *J. R. Army Med. Corps*, **149**, 255–259 (2003).
- Better O. S., Stein J. H., *N. Engl. J. Med.*, **322**, 825–829 (1990).
- Gonzalez D., *Crit. Care Med.*, **33**, S34–S41 (2005).
- Sever M. S., Vanholder R., Lameire N., *N. Engl. J. Med.*, **354**, 1052–1063 (2006).
- Murata I., Ooi K., Shoji S., Motohashi Y., Kan M., Ohtake K., Kimura S., Ueda H., Nakano G., Sonoda K., Inoue Y., Uchida H., Kanamoto I., Morimoto Y., Kobayashi J., *J. Trauma Acute Care Surg.*, **75**, 241–249 (2013).
- Topfer F., Lenton L. M., Bygrave F. L., Behm C. A., *Int. J. Parasitol.*, **25**, 1259–1262 (1995).
- Murata I., Ooi K., Sasaki H., Kimura S., Ohtake K., Ueda H., Uchida H., Yasui N., Tsutsui Y., Yoshizawa N., Hirotsu I., Morimoto Y., Kobayashi J., *J. Trauma*, **70**, 1453–1463 (2011).
- Iqbal M. S., Shad M. A., Ashraf M. W., Bilal M., Saeed M., *Chromatographia*, **64**, 219–222 (2006).
- Nomura A., Sakurai E., Hikichi N., *Yakugaku Zasshi*, **115**, 633–640 (1995).
- Baltes M. R. H., Dubois J. G., Hanocq M., *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.*, **706**, 201–207 (1998).
- Nakajou K., Horiuchi S., Sakai M., Hirata K., Tanaka M., Takeya M., Kai T., Otagiri M., *J. Biochem.*, **137**, 607–616 (2005).
- Otagiri M., *Yakugaku Zasshi*, **129**, 413–425 (2009).
- Middleton E. S., Mathews R., Shires G. T., *Ann. Surg.*, **170**, 174–186 (1969).
- Pascussi J. M., Drocourt L., Fabre J. M., Maurel P., Vilarem M. J., *Mol. Pharmacol.*, **58**, 361–372 (2000).
- Cuzzocrea S., Tailor A., Zingarelli B., Salzman A. L., Flower R. J., Szabó C., Perretti M., *J. Immunol.*, **159**, 5089–5097 (1997).
- Dietzman R. H., Ersek R. A., Bloch J. M., Lillehei R. C., *Angiology*, **20**, 691–700 (2010).

- (1969).
- 21) Schumer W., Nyhus L. M., *Arch. Surg.*, **100**, 405–408 (1970).
- 22) Sambhi M. P., Weil M. H., Udhoji V. N., *Circulation*, **31**, 523–530 (1965).