

—総説—

エンドトキシン血症時における薬物体内動態および 腎排泄挙動の変化

灘井雅行

要約：グラム陰性菌の細胞壁の構成成分であるエンドトキシンは、アジュバント活性、抗腫瘍活性やマクロファージ活性化など免疫機能を亢進する。また、エンドトキシンは腎機能や肝機能を低下させることも知られている。特に、エンドトキシンによって誘発される急性腎不全は、薬物の体内動態ならびに腎排泄挙動を変化させると考えられる。エンドトキシンを静注することにより作製したエンドトキシン血症モデルラットにおいて、糸球体濾過速度の低下に伴ってアミノ配糖体系抗生物質の腎排泄が低下したが、尿細管からの再吸収は増加した。一方、有機アニオン性薬物の尿細管分泌は低下したが、有機カチオン輸送系による尿細管分泌は変化しなかった。エンドトキシンの活性本体であるリピド A 部分を投与したところ、エンドトキシン血症時と同様の腎機能低下と薬物排泄能の低下が認められ、リピド A が急性腎不全の発現に関与すると考えられた。また、エンドトキシンによる薬物腎排泄の低下は時間依存的に回復した。さらに、アデノシン拮抗薬であるテオフィリンを前投与した場合にはエンドトキシンによる腎機能の低下が防御されたことから、エンドトキシンによる急性腎不全発現にはアデノシンが関与していることが明らかとなった。以上の知見は、エンドトキシン血症時の薬物腎排泄挙動ならびにグラム陰性菌感染症患者の治療に対して有益な情報を与えるものである。

索引用語：エンドトキシン、急性腎不全、薬物腎排泄挙動、糸球体濾過速度 (GFR)、尿細管分泌、尿細管再吸収

Alterations in the Pharmacokinetics and Renal Handling of Drugs in Endotoxemia

Masayuki NADAI

Abstract: Endotoxin, a Gram-negative bacterial cell-wall component, has various biological and immunological activities, including adjuvant effects, antitumour activity and macrophage activation. Endotoxin induces nephrotoxicity and hepatotoxicity. Acute renal failure induced by endotoxin may alter the pharmacokinetics and renal handling of drugs. Renal excretion of aminoglycoside antibiotics decreases with glomerular filtration rate in endotoxemic rats made by intravenous administration of endotoxin at 250 µg/kg, although tubular reabsorption increases. The tubular secretion of anionic drug decreases, but organic cation transport system does not change in endotoxemic rats. Lipid A, an active component of endotoxin, decreases renal function and renal excretion of drugs as seen in endotoxemic rats, indicating that lipid A contributes to the action of endotoxin. Recovery from decrease in renal excretion of drug after endotoxin treatment occurs time-dependently. Protective effect of theophylline, adenosine antagonist, against endotoxin-induced reduction in renal function suggests adenosine to be involve in the induction of acute renal failure by endotoxin. These findings provide clarification of the renal excretion of drugs in endotoxemia as well as information for treating patients with Gram-negative bacterial infection.

Keyphrases: endotoxin, acute renal failure, renal handling of drug, glomerular filtration rate (GFR), tubular secretion, tubular reabsorption

緒言

近年、グラム陰性菌感染症の治療に対して種々の優れた抗生物質が開発され、臨床で用いられているが、重症感染症においては、起炎菌から遊離されるエンドトキシンが誘発するグラム陰性菌敗血症が临床上で問題となっている。しかし、グラム陰性菌敗血症に対する有効な治療法は、未だ確立されていない。

エンドトキシンは、一般に発熱性物質と呼ばれている毒素の一つで、大腸菌や肺炎桿菌などグラム陰性菌の外膜（細胞壁）構成成分である。その活性本体がリポドAとその菌に特異的なO抗原性を決定しているO特異多糖体から構成されていることから、リポ多糖体とも呼ばれている（Fig. 1）。エンドトキシンは、一般に生菌からは細胞外に遊離されないが、抗生物質などで死滅すると細胞外に遊離され、発熱、ショック、致死毒性、血液凝固など多彩な生体反応を惹起する。一方、微量のエンドトキシンを生体に投与すると、免疫系、特に網内系機能が亢進し、抗体応答の増強（アジュバント活性）、抗腫瘍活性など、生体にとって有益な作用を発揮することが知られている。

1971年、加藤らは *Klebsiella pneumoniae* 粕谷株 (O3:K1) の培養上清から分離した莢膜多糖体に富む分画が、マウスにて可溶性蛋白抗原に対する抗体応答を著しく増強する活性（アジュバント活性）を示すことを見だし、その作用機構と活性物質の本態について研究した¹⁾。その結果、アジュバント活性は、莢膜多糖体に富む分画の中に大量含まれる酸性多糖体分画（莢膜型抗原）ではなく、少量含まれる中性多糖体分画にあり、この中性多糖体分画は血清学的に *Klebsiella* O3 抗原 (KO3) に一致することを報告している。また、この物質は、抗体応答だけでなく、蛋白抗原に対する遅延型過敏症も著しく増強する活性を示し、これらアジュバント活性は *Escherichia coli*、*Salmonella enteritidis* および *S. minnesota* R595 由来のリポ多糖体に比べて遥かに強力であることを明らかにしている。さらに、この物質は約 20% のリポドと多糖体からなることが明らかになり、化学的にリポ多糖体であることを解明し、その多糖体分画は、化学的分析の結果、マンノース 5 個から成る pentasaccharide を繰り返し単位とするマンナンであることを明らかとしている。この推定構造式は、菌体から抽出された *Klebsiella* O3 抗原、*E. coli* O9 抗原の多糖体分画の構造と一致している。

エンドトキシンは様々な領域で研究されている。中でも、BRM (biological response modifier) としての研究、免疫学的領域での B 細胞活性化の機構解析、モノクローナル抗体を用いた構造研究とその臨床応用、細胞表面上の受容体と細胞内情報伝達機構の解明に関する研究が精力的に行われている。一般に、薬物は血漿中蛋白と結合して

いない非結合型薬物のみが薬理活性を発揮すると定義されている。一方、エンドトキシンは、その結合蛋白 (lipopolysaccharide binding protein, LBP) に、あるいは septin と呼ばれる複数の血漿中蛋白と結合し、その複合体がマクロファージ膜表面 CD14 (phosphatidylinositol-linked cell surface protein) に結合してエンドトキシンの活性が発揮すると言われている⁸⁻¹⁰⁾。

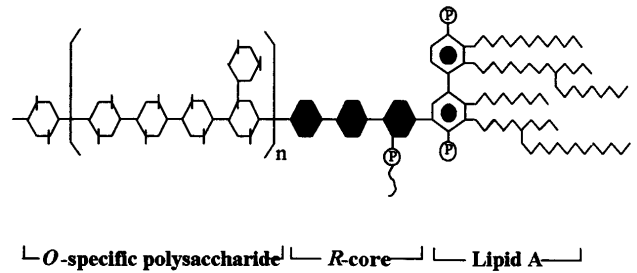


Fig. 1. Structure of endotoxin (lipopolysaccharide).

日常臨床においては、術後のグラム陰性菌感染症により生じるエンドトキシンによるショックや多臓器不全などで多くの患者が死亡している。そこで、エンドトキシンがヒトの各種病態にどのように関わっているかを明らかにすると共に、エンドトキシンによる臓器障害に対する予防薬あるいは克服薬の開発が望まれている。一方、エンドトキシンによる生体反応や生理状態の変化、特に、腎および肝機能の低下は、外因性に投与された薬物の尿中への排泄を変化させると共に、肝臓の薬物処理機能にも影響を及ぼすと考えられる。しかし、エンドトキシンが薬物の体内動態、特に肝代謝や腎排泄挙動にどのような影響を及ぼすかについては未だ明らかにされていない。

著者らは、*Klebsiella pneumoniae* 粕谷株 (O3:K1) より抽出、精製したエンドトキシンをラットに 250 μ g/kg 静脈内投与 2 時間後に急性腎不全が生じることを見出している¹¹⁾。そこで、本論文では、この方法により作製したエンドトキシン血症モデルラットにおける薬物の体内動態ならびに腎排泄挙動の変化について、著者らの実験結果を中心に述べる。

1. エンドトキシン血症時におけるアミノ配糖体系抗生物質トブラマイシンの腎排泄挙動の変化

エンドトキシンは、腎血漿流量、糸球体濾過速度 (GFR) および腎尿細管におけるナトリウム再吸収の減少を伴う急性腎不全を誘発することが多くの研究者により明らかにされている¹¹⁻¹³⁾。従って、エンドトキシン血症時における腎機能の変化は、薬物の体内動態、特に腎排泄を変化させると考えられる。中でも、グラム陰性菌感染症時

に用いられるアミノ配糖体系抗生物質は体内で代謝を受けることなく、腎からのみ排泄されるものが多く、またそれ自身が腎毒性を有することから、エンドトキシン血症時における体内動態の変化を把握することが不可欠である。

薬物体内動態に及ぼすエンドトキシンの影響としては、エンドトキシンに最も感受性が高い動物であるウサギに *E. coli* 由来エンドトキシンを投与したところ、エンドトキシンが誘発する体温上昇(発熱)が組織への分布速度あるいは組織との結合を高めることにより、細胞外液のみに分布するアミノ配糖体系抗生物質やβ-ラクタム系抗生物質などの分布容積は増加することが報告されている¹⁵⁻¹⁷⁾。逆に、エンドトキシン血症時にはゲンタマイシンを始めとするアミノ配糖体系抗生物質の腎への蓄積が増加するが、分布容積には変化がないとの報告もある^{18,19)}。一方、エンドトキシン血症時にはゲンタマイシンの全身クリアランスには変化が生じないことが報告されている^{15,18)}。しかし、この報告はエンドトキシンが急性腎不全を誘発するという事実と矛盾することになる。これらの実験結果の相違や矛盾はゲンタマイシンの血漿中濃度-時間推移のデータが1-コンパートメントモデルにより解析されたことに起因すると考えられる。多くの研究者によりアミノグリコシド系抗生物質の血漿中濃度が2-コンパートメントモデルに従って消失していくことが明らかにされている^{20,21)}。そこで、著者らはエンドトキシン血症モデルラットにアミノ配糖体系抗生物質トブラマイシン 2 mg/kg を急速静注した後の体内動態について検討したところ、エンドトキシンの投与量 (50~500 μg/kg) が増加するに伴ってトブラマイシンの血漿中からの消失が遅延した (Fig. 2)²²⁾。2-コンパートメントモデルを用いた薬物速度論的解析結果から、全身クリアランスは投与量に依存して低下、平均体内滞留時間は延長するが、定常状態における分布容積および消失半減期は有意に変化しないことが明らかとなった。一方、組織への分布速度定数はエンドトキシン処置群で有意に増加した。また、トブラマイシンの尿中未変化体排泄率はいずれの群においても有意な差が認められず、75%以上であったことから、エンドトキシンはトブラマイシンの尿中排泄率には影響を及ぼさないことが確認された。Rowland ら²³⁾は、ヒトにおいてその腎機能が著しく低下した場合のみゲンタマイシンの消失半減期が低下すると報告している。これはゲンタマイシンの消失における律速が腎からの排泄速度ではなく、組織コンパートメントから血漿コンパートメントへの再分布の速度であることに起因するとしている。従って、我々の実験で用いた最も高いエンドトキシンの投与量 (500 μg/kg) ではトブラマイシンの半減期を変化させるまでの著しい腎機能低下は誘発されないことが示唆された。また、この結果は、*E. coli* 由来のエンド

トキシンがゲンタマイシンの全身クリアランスを減少させたものの、消失半減期を変化させなかったとする Tardif ら¹⁹⁾の結果を支持するものであった。

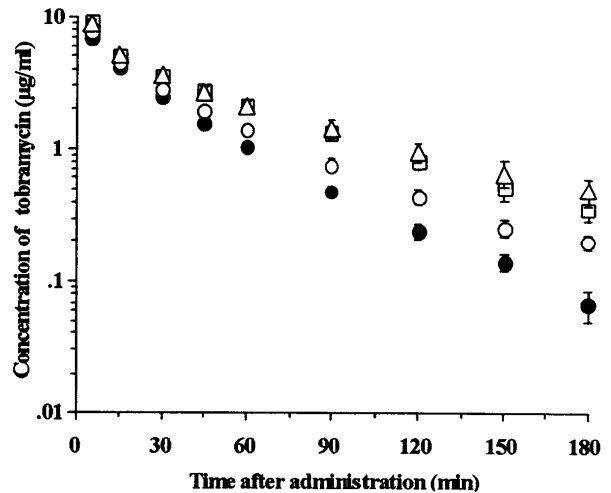


Fig. 2. Mean semilogarithmic plots of plasma concentration-time curves of tobramycin in control (●) and endotoxin-pretreated (○, 50; □, 250; △, 500 μg/kg) rats after a single intravenous administration of tobramycin 2 mg/kg. Each plot represents mean ± SE (n = 5). When the SE is small, it is included in the symbol.

トブラマイシンは体内において、血漿中蛋白と結合することなく、細胞外液にのみに分布すること、また、糸球体で濾過された後、その一部が尿細管で adsorptive endocytosis により再吸収されることが知られている^{20,21)}。そこで、エンドトキシンによるトブラマイシンの体内動態変化の機序を明らかにするため、イヌリンを用いてエンドトキシン 250 μg/kg 処置ラットにおける GFR および細胞外液量を測定した。その結果、トブラマイシンの全身クリアランスの低下は GFR の低下に起因することが明らかとなった。さらに、トブラマイシンの全身クリアランスと GFR の比(クリアランス比; 全身クリアランス/GFR)が、エンドトキシン血症モデルラットで低下したことから、エンドトキシンを投与することによりトブラマイシンの尿細管からの再吸収が増加することが推察された。エンドトキシンは投与後速やかに肝組織に分布し、その一部は中和されるが、中和されなかったエンドトキシンやエンドトキシンが分解されて生成されるリポD A は腎尿細管細胞に分布するといわれている^{18,24-26)}。従って、トブラマイシンの尿細管再吸収増加の機序として、負電荷(チャージ)を持つエンドトキシンあるいはリポD A が尿細管上皮細胞膜上に存在するリン脂質の負電荷を高めることにより、正電荷を有するトブラマイシンの再吸収の第一段階であるリン脂質膜への結合を増大させ、この結

果として、トブラマイシンの尿細管での再吸収が増加したものと推察される。一方、エンドトキシン処置により細胞外液量を表わすイヌリンの分布容積には変化が認められなかったが、この結果はトブラマイシンの分布容積がエンドトキシンにより影響を受けないことを裏づけるものと考えられた。以上の結果から、エンドトキシン血症時におけるトブラマイシンの体内動態の変化は、GFRの低下に加えて、尿細管における再吸収が増加することによる腎クリアランスの低下に起因するものであることが明らかとなった。

トブラマイシンを始めとするアミノ配糖体系抗生物質はグラム陰性菌に対する治療薬として開発され、広く臨床で用いられている。また、臨床では腎障害時におけるアミノ配糖体系抗生物質の投与設計はGFRの指標であるクレアチニンクリアランスに基づいて行うことが推奨されている。従って、本研究結果は、エンドトキシン血症時にアミノ配糖体系抗生物質を用いる場合にはクレアチニンクリアランスに基づいた投与設計が不可欠であることを示唆するものである。

2. エンドトキシン血症時における有機アニオン性薬物セファゾリンの腎排泄挙動の変化

薬物の腎排泄過程は糸球体濾過、尿細管分泌および尿細管再吸収の和として考えられる。そこで、エンドトキシン血症時における薬物の尿細管分泌の変化についても把握する必要があると考えられるが、現在までに詳細な研究は行われていない。一方、グラム陰性菌感染症の治療にβ-ラクタム系抗生物質が広く臨床で用いられているが、多くのβ-ラクタム系抗生物質は主に尿細管から有機アニオン輸送系を介した分泌により尿中に排泄される特性を有する。そこで我々は、グラム陰性菌感染症に伴うエンドトキシン誘発腎不全時における抗生物質療法を確立する目的で、主に有機アニオン輸送系を介して尿細管分泌により尿中に排泄されるβ-ラクタム系抗生物質であるセファゾリン²⁷⁻²⁹⁾をモデル薬物として用い、エンドトキシン血症モデルラットにおける体内動態および腎排泄挙動の変化について検討した³⁰⁾。その結果、エンドトキシン血症モデルラットにおいてセファゾリンの血漿中からの消失が顕著に遅延し(Fig. 3)、全身クリアランスの有意な低下、定常状態分布容積に若干の増加が認められた。しかし、尿中未変化体排泄率には有意な変化は認められなかった(>86%)。

セファゾリンは、トブラマイシンとは異なり、血漿中アルブミンと強く結合することが知られている³¹⁻³³⁾。一方、体内での薬物の分布、排泄には、アルブミンと結合していない、すなわち、非結合型の薬物が関与している

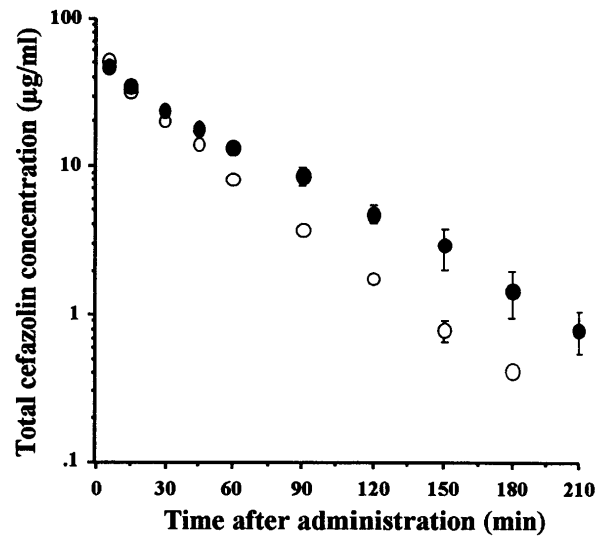


Fig. 3. Mean semilogarithmic plots of plasma concentration-time data for cefazolin in control (○) and endotoxin-treated (●) rats after a single intravenous administration of cefazolin (20 mg/kg). Each plot represents mean \pm SE (n = 4-5).

と考えられている。そこで、エンドトキシン血症モデルラットにおけるセファゾリンの蛋白結合の変化について検討した(Fig. 4)。エンドトキシン血症モデルラットで解離定数は変化しなかったが、アルブミン1分子上の結合部位数と血漿中アルブミン濃度の積として得られる結合能力には有意な低下が認められた。従って、このエンドトキシン血症モデルラットにおけるセファゾリンの蛋白結合の低下は、エンドトキシンがアルブミン分子に何らかの作用を及ぼし、そのコンフォメーションを変化させることに起因するものと考えられた。

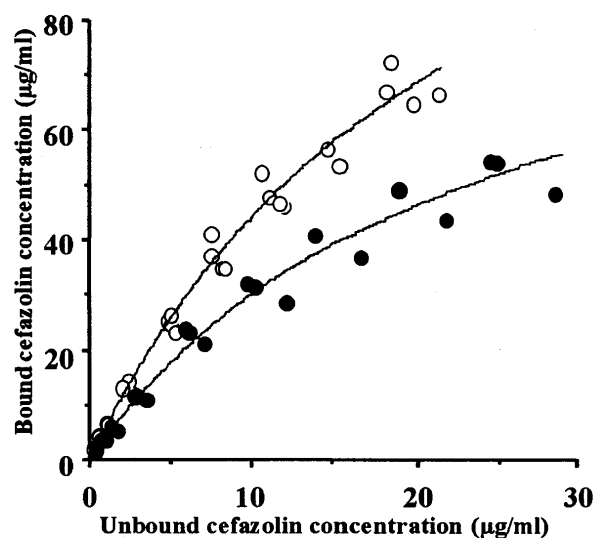


Fig. 4. Protein binding profiles of cefazolin in fresh plasma obtained from control (○; n = 4) and endotoxin-treated (●; n = 3) rats. Solid lines represent computer-fitted curves.

エンドトキシン血症時の蛋白結合の変化が体内動態に及ぼす影響を除外するため、セファゾリンの血漿中蛋白非結合型の体内動態を検討したところ、非結合型セファゾリンの全身クリアランスは有意に低下していたが、定常状態の分布容積に差はなかった。この結果から、セファゾリンの血漿中総薬物濃度から算出された分布容積の変化は、蛋白結合の低下による見かけ上の変化であり、真の薬物分布容積を表わすと考えられる非結合型の分布容積はトブラマイシンと同様にエンドトキシンの処置により変化しないことが明らかとなった。また、セファゾリンは処理臓器である肝臓や腎臓には分布するが、他の非処理臓器には分布せず、主に細胞外液に分布するといわれている^{31,34,35}ことから、本研究においてエンドトキシンによるセファゾリンの分布容積の変化が認められなかったことはエンドトキシンが細胞外液量を変化させなかったとする前述の結果を支持するものと考えられる。

一方、非結合型セファゾリンの全身クリアランスが有意に低下していたことから、セファゾリンの全身クリアランスの変化は薬物蛋白結合の変化に起因する見かけ上の低下ではないことが示唆された。前述したように、セファゾリンは体内でほとんど代謝を受けず、糸球体濾過、尿細管分泌により尿中へ排泄されることから、非結合型薬物の腎クリアランスは、GFR と尿細管分泌クリアランスの和となる。そこで、非結合型セファゾリンの腎クリアランスおよび GFR を測定し、その腎排泄挙動を定量的に評価した。この結果、エンドトキシン血症モデルラットでは、GFR が低下、すなわち糸球体濾過による排泄が低下することに加え、尿細管分泌能も著しく低下していることが明らかとなった (Fig. 5)。以上の成績より、エンドトキシン処置群において観察されたセファゾリンの体内動態の変化は、蛋白結合の低下と、GFR および尿細管分泌の低下による腎排泄挙動の変化に起因するものであることが明らかとなった。

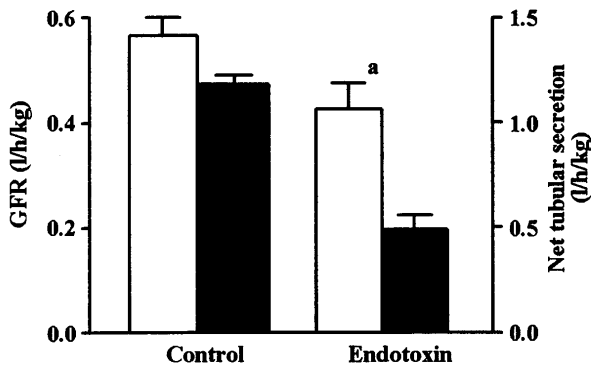


Fig. 5. GFR and net tubular secretion ($CL_r - GFR$) for cefazolin in control and endotoxin-treated rats. Open and closed columns represent GFR and ($CL_r - GFR$), respectively. Each column represents mean \pm SE (n = 4-5). * Significantly different from control ($p < 0.05$).

腎臓は体液や電解質のバランスの維持、生体内で産生された老廃物の排泄などとともに薬物やその代謝物の排泄を担っている。このため、腎機能の変化は直接薬物の体内動態に影響を及ぼす。従来から臨床の場においては、腎機能低下時の薬物投与設計はクレアチニンクリアランスを指標としたインタクトネフロン説に基づいて行われている。しかし近年、硝酸ウラニルやグリセロールで作製した急性腎不全ラットにおいて GFR の低下は腎尿細管における薬物能動輸送機能の低下を反映しないことが報告されている^{36,37}。また、Kikeri ら³⁸)はエンドトキシンが有機アニオン輸送系を介して尿細管分泌される p-aminohippuric acid (PAH)の腎抽出率 (renal extraction ratio) を減少させると報告している。さらに、本研究においてもエンドトキシンによる GFR の低下率よりもセファゾリンの尿細管分泌低下率の方が大きいことが明らかとなった。これらは腎尿細管分泌を介して尿中へ排泄される薬物についてインタクトネフロン説に基づいた薬物投与設計を行うことは不適当であることを示唆するものである。従って、エンドトキシン血症時における腎機能や腎血流の変化はこれら薬物の腎排泄挙動に影響を及ぼし、ひいては感染症の治療効果ならびに副作用の発現に影響すると考えられる。

セファゾリンを始めとする有機アニオン性薬物の尿細管分泌には、血液から側底膜を介した腎上皮細胞内への能動的な取り込みと、上皮細胞内から尿中への刷子縁膜を介した促進拡散の 2 つの過程がある。すなわち、有機アニオン性薬物の腎臓中への能動的な取り込みは尿細管分泌の第一段階として考えられる。そこで、エンドトキシン血症時におけるアニオン能動輸送機構の変化の機序を明らかにするため、セファゾリンと同様に有機アニオン輸送系を介して尿中へ排泄されることが知られている

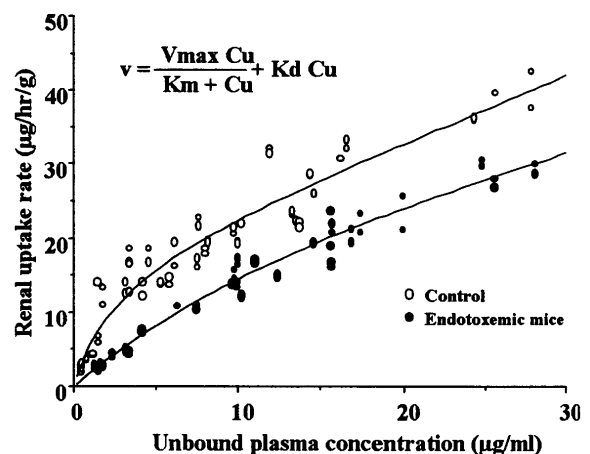


Fig. 6. Relationship between renal uptake rate of enprofylline and its steady-state unbound plasma concentration in control and endotoxemic mice. Solid lines represents computer-fitted curves.

キサンチン誘導体エンプロフィリン³⁹⁻⁴²⁾の Maus 腎への取り込み挙動について検討した (Fig. 6)⁴³⁾。エンドトキシン 1 mg/kg を前処置したマウスにおいて、エンプロフィリンの血漿中非結合型濃度と腎取り込み速度の関係を Michaelis-Menten 式を用いて解析したところ、エンドトキシンが Michaelis 定数 (K_m) を著しく増加、すなわち有機アニオン輸送担体への親和性を低下させ、エンプロフィリンの真の腎取り込み能 (V_{max}/K_m) を著しく低下させることが明らかとなった。これはエンドトキシンがエンプロフィリンの血液から腎臓中への能動的な取り込みを障害することにより尿細管分泌を低下させること示唆するものである。従って、エンドトキシンによって誘発される急性腎不全時には、GFR および腎尿細管有機アニオン輸送能が低下し、セファゾリンの血漿中からの消失が遅延すると考えられた。

3. エンドトキシン血症時における有機カチオン性薬物 ファモチジンの腎排泄挙動の変化

先に著者らは、エンドトキシンが薬物の糸球体濾過に加えて有機アニオン性薬物の腎尿細管分泌を低下させることを明らかにした。一方、腎尿細管において有機カチオン性薬物は有機アニオン性薬物とは異なる能動輸送系を介して尿中へ分泌されることが知られている。しかし、エンドトキシンが尿細管における有機カチオン性薬物の能動輸送に及ぼす影響については未だ明らかにされておらず、興味を持たれるところである。そこで著者らは、主として有機カチオン輸送系を介した尿細管分泌により尿中へ排泄されるヒスタミン H_2 受容体拮抗薬ファモチジン^{44,45)}を用い、エンドトキシン血症時における体内動態および腎排泄挙動について検討した⁴⁶⁾。その結果、エンドトキシン血症モデルラットではファモチジン 20 mg/kg 投与後の血漿中からの消失が著しく遅延していた (Fig. 7)。薬物速度論的パラメータを算出したところ、エンドトキシン血症モデルラットでは GFR に加えて、ファモチジンの全身クリアランスおよび腎クリアランスが低下するが、腎外クリアランス (全身クリアランス - 腎クリアランス) は変化しないこと、また、ファモチジンの分布容積はエンドトキシン血症モデルラットにおいて有意に低下することが明らかとなった。

ファモチジンは大きな分布容積 (組織移行性が高い) と極めて低い血漿中蛋白結合率 (約 25%) を有し、投与量非依存的な体内動態特性を示す有機カチオン性薬物である⁴⁴⁾。従って、エンドトキシン血症時においてもファモチジンの血漿蛋白との結合率は変化しないと考えられ、エンドトキシン血症モデルラットにおけるファモチジンの定常状態分布容積の低下は、エンドトキシンがファモチジンの組織移行ならびに組織への結合を阻害することに起因

するものと推察できる。一方、ファモチジンの尿中未変化体排泄率には変化が認められず、また、全身クリアランスの減少率 (26%) と腎クリアランスのそれ (27%) とがよく一致したことから、エンドトキシン血症モデルラットにおける全身クリアランスの低下は腎クリアランスの低下に起因するものと考えられる。

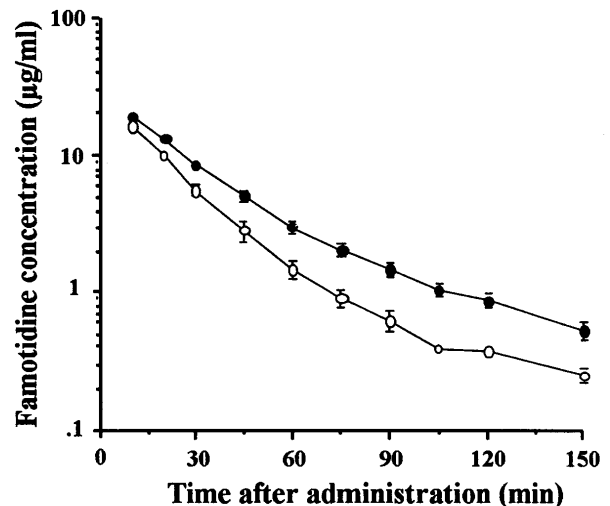


Fig. 7. Mean semilogarithmic plots of plasma concentration-time data of famotidine after a single intravenous administration of famotidine at a dose of 20 mg/kg in rats pretreated without (○) and with endotoxin (●). Each plot represents mean \pm S.E. ($n = 5$). When the SE is small, it is included in the symbol.

一般に、蛋白結合率が低い薬物の場合には、腎排泄における尿細管分泌の寄与の割合は GFR に対する腎クリアランスの比で表されるクリアランス比 (腎クリアランス/GFR) によって評価できる。すなわち、クリアランス比が 1 以上の薬物は糸球体濾過に加えて尿細管分泌で尿中へ排泄され、また、その値が大きいほど尿細管分泌の割合が高いことを示す。エンドトキシン血症モデルラットにおいて、ファモチジンのクリアランス比は有意に増加していた。一方、尿細管分泌クリアランス (腎クリアランス - GFR) は両群において、有意な差は認められなかった (Fig. 8)。この結果から、エンドトキシン血症時においてもファモチジンの尿細管分泌クリアランスは変化しないと考えられた。また、エンドトキシン処置群において観察されたクリアランス比の上昇の原因はエンドトキシンによる GFR の低下が大きいため、見かけ上増加したものと推察された。以上の知見から、エンドトキシン血症時においても腎尿細管での有機カチオン分泌は変化しないことが明らかとなり、ファモチジンの腎クリアランスの低下は主に糸球体濾過による排泄の低下に起因するものであることが示唆された。

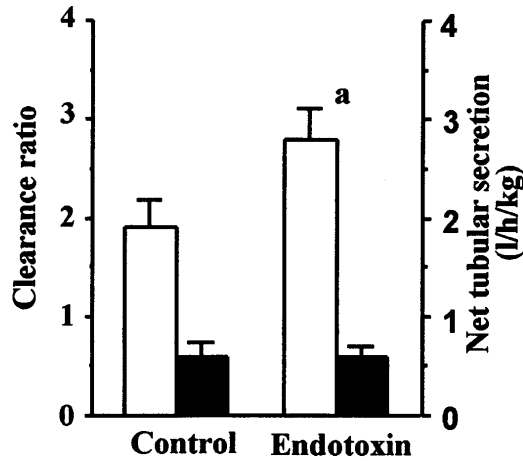


Fig. 8. Clearance ratio (CL_r/GFR) and net tubular secretion (CL_r - GFR) for famotidine in rats treated with (endotoxin) and without (control) endotoxin. Open and closed columns represent CL_r/GFR and (CL_r - GFR), respectively. Column represents mean ± SE (n = 5-6).

^aSignificantly different from control.

腎尿管上皮細胞の膜小胞を用いた研究結果から、有機アニオン性薬物は上皮細胞側底膜ではNa⁺勾配に依存したアニオン交換輸送系⁴⁷⁾、あるいは細胞内Cl⁻との交換反応により細胞内へ能動的に輸送され⁴⁸⁾、また、刷子縁膜から促進拡散により尿中へ排泄されることが報告されている⁴⁹⁾。一方、有機カチオン性薬物は血管側から側底膜に存在する細胞内負の膜電位を駆動力としたキャリアーを介して細胞内部に取り込まれた後、刷子縁膜上のH⁺勾配を駆動力としたキャリアーにより尿中へ輸送されることが明らかにされている⁵⁰⁻⁵²⁾。Horiら⁵⁰⁾は、硝酸ウラニルによって作製した急性腎不全ラットから調製した刷子縁膜小胞において有機カチオン性薬物である tetraethylammonium (TEA)の輸送は低下するが、有機アニオン性薬物である p-aminohippuric acid (PAH)の輸送は変化しないこと、また、側底膜でのPAH輸送能は低下するが、TEAの輸送には影響が認められないことを明らかにし、薬物の尿管分泌に対する硝酸ウラニル処置の影響が刷子縁膜および側底膜の各輸送系によって異なること報告している。さらに、Linら³⁶⁾は、硝酸ウラニルならびにグリセロールを用いて作製した急性腎不全モデルラットにおける尿管分泌の変化について検討し、急性腎不全の作製方法によっても、また、アニオン輸送系、カチオン輸送系という薬物の輸送経路によっても、その変化が異なることを報告している。著者らの実験で得られたエンドトキシン血症時には、有機アニオン性薬物の尿管分泌は低下するが、有機カチオン性薬物の分泌には変化が認められないという成績は、急性腎不全の発症機序によってアニオン、カチオン両輸送系への影響が異なるか、また、エンドトキシンそのものが尿管上皮細胞に及ぼす影響が異なることを示唆するものと考えられるが、その詳細

については今後の検討が必要である。

4. エンドトキシン血症時における腎機能低下とゲンタマイシンの腎排泄挙動の変化に対するリポドAの役割

エンドトキシンは、腎上皮細胞に取り込まれ、腎毒性を発現させることが明らかにされている²⁶⁾。一方、Fig.1に示したように、エンドトキシンの構造はオリゴサッカライドであるR-コア、その菌に特異的なO抗原を決定しているO特異多糖体とリポドA部分に分けることができる。エンドトキシンのアジュバント活性、抗腫瘍活性などの多彩な生理活性を発現させる活性本体はリポドAであると言われており、リポドAも腎上皮細胞に分布することが報告されている²⁵⁾。しかし、エンドトキシンによって誘発される腎機能低下がエンドトキシン自身によるものか、あるいは、その活性本体であるリポドAによるものかについては不明である。そこで、エンドトキシンからリポドAを分離精製し²⁷⁾、血漿中で蛋白質とほとんど結合せず、糸球体で濾過された後、その一部が尿管で adsorptive endocytosis によって再吸収されるアミノ配糖体系抗生物質であるゲンタマイシン⁵³⁻⁵⁵⁾をモデル薬物として、その腎排泄挙動に及ぼすエンドトキシンあるいはリポドAの影響についてラットを用いて詳細に検討した (Fig. 9)⁵⁶⁾。その結果、エンドトキシン血症モデルラットではGFRおよびゲンタマイシンの全身クリアランスが前述したトブラマイシンの場合と同様に減少した。しかし、エンドトキシン処置とリポドA処置によるゲンタマイシンのクリアランス減少の程度はほぼ等しかった。さらに、腎機能の指標となる血漿中クレアチニン濃度および尿素窒素濃度はエンドトキシン処置群とリポドA処置群で対照群に対し有意に上昇していたが、両群間では有意な差が認められなかった (Fig. 10)。従って、エンドトキシンによる腎機能低下あるいは薬物の体内動態の変化はエンドトキシン自身によるものではなく、リポドAによって誘発されることが示唆された。すなわち、エンドトキシンが生体内で加水分解を受け、エンドトキシンからリポドAが遊離し、このリポドAが腎機能あるいは薬物の体内動態に変化を与えるものと推察できる。

一方、本研究においてエンドトキシンおよびリポドAの処置が細胞外液にのみ分布するゲンタマイシンの分布容積を変化させなかったという成績は、トブラマイシンでの結果とよく一致した。しかし、*E. coli*由来エンドトキシンを前処置したウマにゲンタマイシンを投与したところ、その分布容積が減少したと報告されている⁵⁷⁾。また、ウサギではその分布容積が増加した¹⁹⁾が、ラットでは変化が認められなかった^{18,19)}とする報告もあり、動物種による差が観察されている。これらの知見から、各動物におけるゲンタマイシンの分布容積に及ぼすエンド

キシンの影響の違いはエンドトキシンに対する感受性の種差に起因するものであることが推察される。

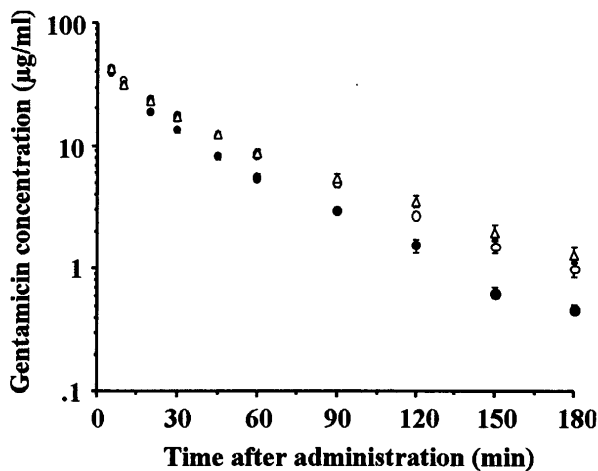


Fig. 9. Mean semilogarithmic plasma concentration-time data for gentamicin after intravenous administration at a dose of 10 mg/kg in control (●), endotoxin (○)- and lipid A (△)-treated rats. Each plot represents mean \pm SE of seven control and five endotoxin- and lipid A-treated rats. When the SE is small, it is included in the symbol.

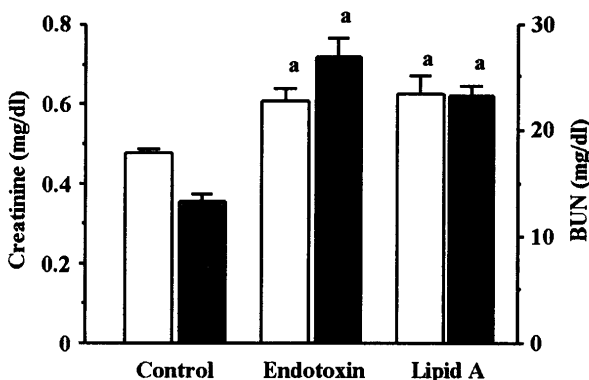


Fig. 10. Effects of endotoxin and lipid A on concentrations of plasma creatinine (open column) and BUN (closed column). Each column represents mean \pm SE of five control and six endotoxin- and lipid A-treated rats. * Significantly different from control ($p < 0.05$).

一方、Halkin ら¹⁵⁾は、エンドトキシンに最も感受性があるウサギを用いた実験系で、本実験で使用した投与量よりも低い投与量 ($35 \mu\text{g/kg}$) ではゲンタマイシンの全身クリアランスを変化させないとしている。また、Bergeron らのグループは、*E. coli* 由来エンドトキシン $250 \mu\text{g/kg}$ を前処置した Sprague-Dawley ラットにゲンタマイシンを急速静注したところ、その全身クリアランス (CL) が変化しなかったとしている¹⁸⁾。しかし、彼らは¹⁹⁾その後の研究でエンドトキシンを $500 \mu\text{g/kg}$ および 5mg/kg という高投与量で処置することによりゲンタマイシンの全身クリアランスが減少することを報告しており、これは著者

が行ったトブラマイシンおよびゲンタマイシンを用いた実験結果と一致するものである。このような背景より、エンドトキシンによるゲンタマイシンの全身クリアランスの減少は、エンドトキシンによって誘発される腎機能低下、いわゆる GFR の減少に起因するものと考えられる。さらに、本研究で得られた成績が、Bergeron ら¹⁸⁾や Tardif ら¹⁹⁾の初期の報告とは一致しなかった原因として、本研究で用いた肺炎桿菌と彼らが用いた大腸菌由来エンドトキシンの種差あるいは精製法の違いに起因する可能性が考えられる。

アミノ配糖体系抗生物質は、腎尿細管上皮細胞の刷子縁膜上のリン脂質に結合し、adsorptive endocytosis により細胞内へ取り込まれ、蓄積されるといわれている。また、著者らは、エンドトキシン血症時において同じアミノ配糖体系抗生物質であるトブラマイシンの尿細管での再吸収が増加することを明らかにしている。しかし、本研究で、エンドトキシン血症時におけるゲンタマイシンの尿細管での再吸収の変化を検討するために、腎クリアランスと GFR のクリアランス比 (CL/GFR) を算出したところ、リポド A 処置によりゲンタマイシンの尿中排泄量が有意に減少したにもかかわらず、エンドトキシン処置、リポド A 処置によってクリアランス比 (CL/GFR) は変化しなかった。また、ゲンタマイシン投与 1 時間後に腎臓を摘出し、その蓄積量を測定したところ、エンドトキシン、リポド A 処置ともゲンタマイシンの腎蓄積量には影響を及ぼさないことが明らかとなった。そこで、ゲンタマイシンの尿細管での再吸収に及ぼすエンドトキシンおよびリポド A の影響をさらに詳細に検討するため、各処置群における再吸収率を計算したところ、対照群、エンドトキシンおよびリポド A 処置群における再吸収率はそれぞれ 0.27、0.27 および 0.29 であり、エンドトキシンおよびリポド A はゲンタマイシンの尿細管再吸収に影響を及ぼさないことが確認された。この成績は、トブラマイシンの場合とは異なる結果であった。著者らは、トブラマイシンの尿細管再吸収増加の機序として、負電荷(チャージ)をもつエンドトキシンあるいはリポド A が尿細管上皮細胞膜上に存在するリン脂質の負電荷を高めることにより、正電荷を有するトブラマイシンの再吸収の第一段階であるリン脂質膜への結合を増大させる可能性を述べた。一方、ゲンタマイシンはトブラマイシンと比較してラット尿細管刷子縁膜上のリン脂質に吸着する親和性が低いことが報告されている²⁰⁾。従って、トブラマイシンおよびゲンタマイシンの尿細管再吸収に対するエンドトキシンの影響が異なる可能性として、両薬物の刷子縁膜への吸着性の差が推察される。また、エンドトキシン処置およびリポド A 処置により腎臓湿重量の増加傾向、また、体重に対する腎重量比の有意な増加が認められたことから、エンドトキシンが投与後短時間において腎組織の機能的

変化を起こし、その結果として、腎臓が肥大した可能性が考えられる。

以上の結果より、エンドトキシンの活性本体であるリピドAが急性腎不全の発現ならびに腎排泄挙動の変化に強く関与していることが示唆された。

5. 薬物の腎排泄挙動に及ぼすエンドトキシンの時間依存的な影響

前述したように、著者らはエンドトキシン血症時において薬物の体内動態および腎排泄挙動が変化することを明らかにしてきたが、これらの知見は、エンドトキシン投与 2 時間後における動物モデルを用いた実験から得られたものである。また、他の研究者らによるエンドトキシン血症時の薬物体内動態や腎機能の検討においても、エンドトキシン投与 30 分から 3 時間後に行った実験結果の報告^{15,18,19,59}がほとんどであり、エンドトキシン処置後の腎機能ならびに薬物腎排泄能の経時的な変化についてはほとんど検討がなされていない。特に、エンドトキシン投与によって生じる腎機能の低下がどの程度の時間持続するのかを検討することで、急性腎不全の発現がエンドトキシンの細胞毒性によって誘発されるものか否かを検討することが可能であると考えられる。しかし、このエンドトキシン処置後の腎機能ならびに薬物腎排泄挙動の経時的変化については、Kikeri ら³⁸がエンドトキシンを高投与量 (20-40 mg/kg) で投与すると直ちに、糸球体濾過速度 (GFR) が減少し、7-9 日以内に正常に回復することを、また、Auclair ら⁶⁰がエンドトキシンの低投与量 (1 mg/kg) を連続 7 日間持続点滴静注することによりゲンタマイシンの腎取り込みが増加し、腎毒性が亢進することを報告しているのみである。そこで、著者らは低用量の

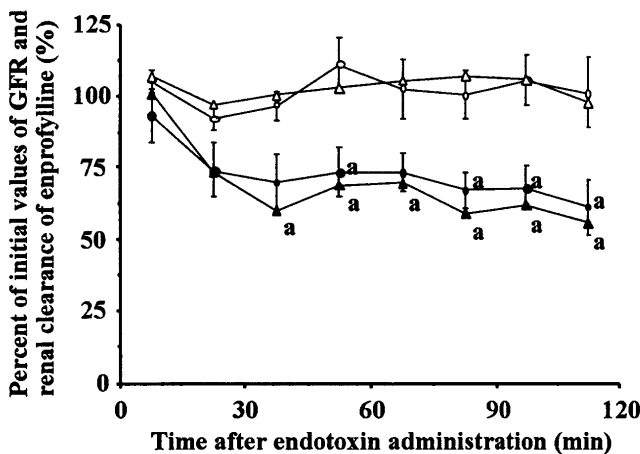


Fig. 11. Changes in relative percentage of the GFR (○, ●) and renal clearance (△, ▲) for enprofylline measured against their initial mean values in control (open symbol) and endotoxin-treated (closed symbol) rats, respectively. Each plot represents mean ± SE (n = 4). * Significantly different from control (p < 0.05).

エンドトキシンを投与することにより作製したエンドトキシン血症モデルラットでの腎薬物排泄機能の経時的な変化を解明することを試みた⁶¹。

糸球体濾過と有機アニオン輸送系を介した尿細管分泌の 2 つの機序により尿中へ排泄されるキサンチン誘導体エンプロフィリン^{39,42}をモデル薬物として、腎排泄挙動に及ぼすエンドトキシンの時間依存的な影響を検討したところ、エンプロフィリンの腎クリアランスならびに GFR は、エンドトキシン投与後 30 分にわたり徐々に低下し、これらの低下は少なくとも 2 時間持続することが明らかとなった (Fig. 11)⁶¹。さらに、エンドトキシン処置により生じたエンプロフィリンの腎クリアランス低下の程度が GFR の低下よりも大きかったことから、エンドトキシンは尿細管分泌をより強く障害することが示唆された。一方、エンドトキシン投与 2、10、24 時間後におけるエンプロフィリンの体内動態の変化について検討したところ、エンドトキシン投与 2 時間後においてエンプロフィリンの血漿からの消失が最も遅延していた。10 時間後におけるエンプロフィリンの消失にも若干の遅延が認められたものの、24 時間後において、その消失は対照群(エンドトキシン未処置群)とほぼ一致した (Fig. 12)。また、エンドトキシン投与 2 時間後において定常状態の分布容積が有意に増加し、全身クリアランスが有意に減少していた。しかし、この変化は時間経過とともに消失し、24 時間後におけるエンプロフィリンの薬物速度論的パラメータは対照群とほぼ等しい値であった。この結果より、エンドトキシンにより誘発される腎障害および薬物の腎排泄挙動の変化は一過性のものであることが示唆され、本研究で用いた 250 μg/kg のエンドトキシンによる腎機能の低下は 24 時間以内に消失することが明らかとなった。

Kamiya らは塩化水銀の投与により作製した急性腎不全モデルラットにおいて、サルファ剤であるスルファメチゾールの尿細管分泌が腎不全誘発後 72 時間にわたって徐々に低下すること、また、ネオマイシンにより急性腎不全を作製した場合には、その尿細管分泌能がほぼ正常な状態に回復するまでに約 2 週間を要することを報告している⁶²。これらの腎不全誘発物質が腎尿細管上皮細胞に致命的な障害を与えること、腎尿細管上皮細胞のターンオーバー時間を考えあわせると、本研究でエンドトキシン投与後 24 時間で薬物腎排泄機能が回復したという結果は、少なくとも、この投与量におけるエンドトキシンの腎障害、特に腎尿細管上皮細胞に対する障害作用は可逆的であり、致命的な細胞毒性ではないことが示唆された。また、著者らの実験結果とは異なり、Kikeri らは 20-40 mg/kg のエンドトキシン処置後、GFR が正常値まで回復するには 7-9 日を要することを報告している³⁸。しかし、著者らが用いたエンドトキシンの投与量は Kikeri らの約 1/80 であり、エンドトキシンの投与量によって腎機能に

与える影響が大きく異なる可能性も考えられた。

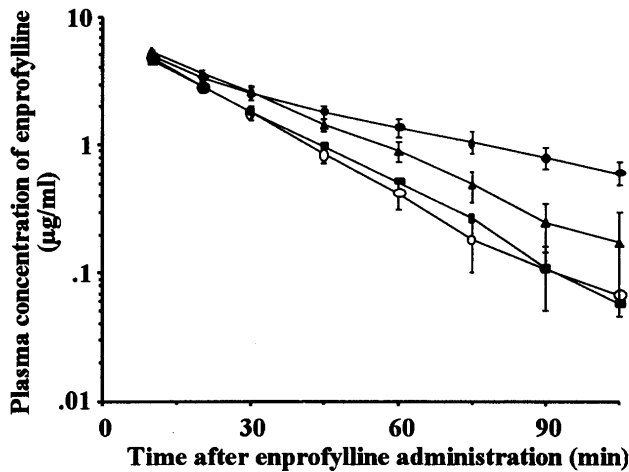


Fig. 12. Mean semilogarithmic plots of the plasma concentration-time data for enprofylline after a single intravenous administration of enprofylline at 2.5 mg/kg in control rats (○) and rats pretreated with endotoxin at 2 (■), 10 (▲) and 24 h (●) earlier. Each plot represents mean \pm SE (n = 4-5).

6. エンドトキシン血症時の急性腎不全誘発に対するアデノシンの関与

エンドトキシンが急性腎不全を誘発する機序については、現在のところ、完全には解明されていない。エンドトキシンにより産生される活性酸素が上皮細胞に対する毒性の発現に関与している可能性も考えられている^{63,64}。しかし、superoxide dismutase(SOD)や catalase の前処置ではエンドトキシンによる急性腎不全の発現を防御することができないことが報告されていること⁶⁵、また、著者らの実験において、少量のエンドトキシンによる GFR ならびに尿細管分泌機能の低下は 24 時間という比較的短い時間で回復することが明らかとなったことから、細胞毒性を有する活性酸素が急性腎不全誘発の原因物質とは考えにくい。一方、単離腎灌流実験において、灌流液中にエンドトキシンを添加しても腎機能には変化がない、すなわち、エンドトキシンが腎機能に対して直接的な毒性を有するものではないということが報告されている¹³。従って、エンドトキシン血症時の腎機能低下にはエンドトキシン処置により産生される内因性物質が関与していると推察される。エンドトキシンにより産生される内因性物質としては、トロンボキサンやロイコトリエンなどのプロスタグランジン類、血小板活性化因子(PAF)、エンドセリンならびに腫瘍壊死因子(TNF)やインターロイキンなどのサイトカイン類が知られているが、中でも、プロスタグランジン類、PAF、エンドセリンは血管を収縮させ、腎機能を低下させると考えられる¹⁰。このような血管収

縮作用を有する内因性物質の一つとしてアデノシンがある。アデノシン拮抗薬がグリセロールによる急性腎不全時の腎機能低下を軽減する⁶⁶⁻⁷⁰ことから、アデノシンは、腎虚血による腎血行動態の変化に関与していると考えられており、急性腎不全の発症機序に重要な役割を果たしている可能性がある。一方、アデノシン拮抗薬であるテオフィリン自身は、血圧、GFR あるいは腎血漿流量に変化を与えないと報告されている⁷¹。また、Yates ら⁶⁸はアデノシン受容体に対する親和性が低いエンプロフィリン⁷²⁻⁷⁵が、グリセロール誘発急性腎障害に対して軽減作用を持たないとしている。これらの知見は、アデノシンが急性腎不全の誘発に重要な役割を果たしていることを示唆するものである。エンドトキシン血症時の急性腎不全に対するアデノシンの関与について、Churchill ら⁷¹はテオフィリンが *E. coli* 由来エンドトキシンを 5mg/kg/h で 2 時間持続注入した場合の GFR および有機アニオン輸送系を介して尿細管分泌される p-aminohippuric acid (PAH) のクリアランスの減少を軽減すること、この軽減作用がテオフィリンの血管拡張や利尿効果によるものではないことを報告している。しかし、著者らが用いたような低用量 (250 μ g/kg) のエンドトキシンで惹起される腎機能障害におけるアデノシンの役割と機序については、詳細な検討はなされていない。そこで著者らは、テオフィリン (10 mg/kg) をエンドトキシン投与 10 分前に急速静注したラットを用いて、ファモチジンの体内動態ならびに腎機能の変化について検討した⁴⁶。その結果、テオフィリンを前投与した場合には、エンドトキシンによって誘発されるファモチジンの体内動態の変化がテオフィリンにより顕著に防御されることが明らかとなった。また、テオフィリンはエンドトキシン投与によって誘発されるファモチジンの腎クリアランスおよび GFR の低下を顕著に防御した (Fig. 13)。

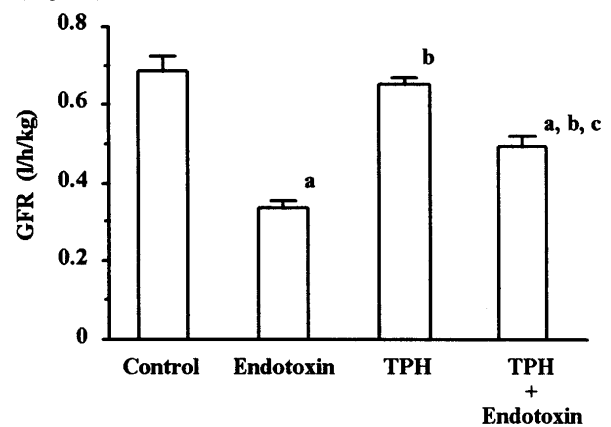


Fig. 13. GFR in rats treated with (endotoxin) and without (control) endotoxin, and in theophylline (TPH)-pretreated rats treated with (TPH + endotoxin) and without (TPH) endotoxin. Column represents mean \pm SE (n = 5-6). ^{a,b,c} Significantly different from control, endotoxin, and TPH, respectively.

アデノシンは、テオフィリンと類似した化学構造を有し、生体の各組織に局在し、生体機能調節物質として重要な役割を担っている。腎臓系において、アデノシンが糸球体濾過速度を低下させる作用、尿細管でのナトリウムと水の再吸収を促進させ尿量を減少させる作用を有することはよく知られている⁷⁶⁾。しかし、本研究においてテオフィリンがエンドトキシンによる糸球体濾過速度の低下に対して顕著な防御効果を発揮したものの、尿量には変化を与えなかったことから、エンドトキシン誘発腎障害に対するテオフィリンの防御効果は、その利尿効果によるものではないことが示唆された。著者らは、テオフィリンがアデノシン A₁ 受容体に高い親和性を有し、アデノシンの受容体結合阻害定数値が約 10 μmole であることを報告している⁷²⁾。テオフィリンを前処置したラットにおけるファモチジン投与直後の血漿中テオフィリン濃度は、いずれの群においてもほぼ 55 μmole が得られており、本研究で用いたテオフィリンはアデノシンを拮抗的に阻害するに十分な投与量であり、且つ、その濃度は臨床で気管支拡張作用が認められる有効血漿中濃度域内 (55-110 μmole) であった。従って、テオフィリンはエンドトキシンが誘発する虚血によって腎組織内 ATP から分解、生成されたアデノシンが血管系および腎臓内に局在しているアデノシン A₁ 受容体に作用するのを拮抗的に阻害し、腎臓機能の低下を抑制したものと考えられる。また、Knight ら⁷⁷⁾も、エンドトキシンが誘発する急性腎不全に対してアデノシンが関与していることを報告している。すなわち、アデノシンはエンドトキシン血症時において腎臓機能の障害を誘発させる内因性物質の一つであることが明らかとなった。さらに、本研究の結果から、アデノシン A₁ 受容体拮抗薬によりエンドトキシン血症時の腎臓障害を防御できる可能性が示唆され、テオフィリンよりも安全で、且つ、より選択的なアデノシン A₁ 受容体拮抗薬の臨床応用が期待される。しかし、エンドトキシン血症時に ATP が分解されアデノシンが生成されるような虚血状態を始めに誘発する物質については未だ不明である。前述したような血管収縮作用を有する内因性物質の関与について、さらに検討を進める必要がある。

おわりに

以上述べてきたように、エンドトキシン血症時には多くの薬物の腎排泄挙動が変化する。また、エンドトキシン血症時には薬物の代謝能^{78,79)}や胆汁中への排泄能^{80,81)}も低下することが報告されている。従って、エンドトキシン血症時に、薬物療法をより有効、かつ安全に行うためには、その薬物の排泄経路を始めとする体内動態の特徴を十分把握した上で投与設計を行う必要がある。

引用文献

- 1) M. Ohta, I. Nakashima, N. Kato, *Immunobiology*, **163**, 460 (1982).
- 2) T. Hasegawa, M. Ohta, M. Mori, I. Nakashima, N. Kato, *Micobiol. Immunol.*, **27**, 683 (1983).
- 3) K. Miyamoto, R. Koshiura, T. Hasegawa, N. Kato, *Jpn. J. Pharmacol.*, **36**, 51 (1984).
- 4) N. Kato, M. Ohta, N. Kido, S. Naito, I. Nakashima, F. Nagase, T. Yokochi, *Med. Microbiol., Immunol.*, **174**, 1 (1985).
- 5) N. Kido, M. Ohta, H. Ito, S. Naito, F. Nagase, I. Nakashima, N. Kato, *Cell. Immunol.*, **91**, 52-59 (1985).
- 6) T. Hasegawa, M. Ohta, N. Kido, N. Kato, K. Miyamoto, R. Koshiura, *Jpn. J. Pharmacol.*, **38**, 355 (1985).
- 7) T. Hasegawa, M. Ohta, I. Nakashima, N. Kato, K. Morikawa, T. Hanada, T. Okuyama, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 333 (1985).
- 8) S. D. Wright, R. A. Ramos, M. Patel, D. S. Miller, *J. Exp. Med.*, **169**, 173 (1989).
- 9) S. D. Wright, R. A. Ramos, P. S. Tobias, R. J., Ulevitch, J. C. Mathis, *Science*, **249**, 1431 (1990).
- 10) J. A. Hewett, R. A. Roth, *Pharmacol. Rev.*, **45**, 381 (1993).
- 11) M. Nadai, T. Hasegawa, K. Kato, L. Wang, T. Nabeshima, N. Kato, *Drug Metab. Dispos.*, **21**, 611-616 (1993).
- 12) K. F. Badr, V. E. Kelley, H. G. Reunke, B. M. Brenner, *Kidney Int.*, **30**, 474 (1986).
- 13) J. J. Cohen, A. J. Black, S. J. Wertheim, *Kidney Int.*, **37**, 1219 (1990).
- 14) K. F. Badr, *Am. J. Kidney Dis.*, **20**, 207 (1992).
- 15) H. Halkin, M. Lidji, E. Rubinstein, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **216**, 415 (1981).
- 16) O. Lodefoged, *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **41**, 507 (1977).
- 17) U. Ganzinger, A. Haslberger, H. Schiel, R. Omilian-Rosso, E. Schutze, *J. Antimicrob. Chemother.*, **17**, 785 (1986).
- 18) M. G. Bergeron, Y. Bergeron, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **29**, 7 (1986).
- 19) D. Tardif, D. Beauchamp, M. G. Bergeron, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **34**, 576 (1990).
- 20) J.-C. Pechere, R. Dugal, *Clin. Pharmacokinet.*, **4**, 170 (1979).
- 21) M. Wenk, S. Vozeh, F. Follath, *Clin. Pharmacokinet.*, **9**, 475 (1984).
- 22) M. Nadai, T. Hasegawa, K. Kato, L. Wang, T. Nabeshima, N. Kato, *J. Pharm. Pharmacol.*, **45**, 971 (1993).
- 23) M. Rowland, N. T. Tozer, *Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Application*. 2nd, Lea and Febiger, Philadelphia, 1989.
- 24) A. I. F. Braude, J. Carey, M. Zalesky, *J. Clin. Infect.*, **34**, 858 (1955).
- 25) M. C. Westenfelder, C. Galanos, P. O. Madsen, *Invest. Urol.*, **12**, 337 (1975).
- 26) J. C. Mathison, R. J. Ulevitch, *J. Immunol.*, **123**, 2133 (1979).
- 27) J. M. Brogard, F. Comte, M. Pinget, *Antibiot. Chemother.*, **25**, 123 (1978).

- 28) I. Yamazaki, Y. Shirakawa, T. Fugono, *J. Antibiot.*, **34**, 1055 (1981).
- 29) H. Matsui, T. Okuda, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **11**, 67 (1988).
- 30) M. Nadai, T. Hasegawa, K. Kato, L. Wang, T. Nabeshima, N. Kato, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **37**, 1781 (1993).
- 31) A. Tsuji, T. Yoshikawa, K. Nishide, H. Minami, M. Kimura, E. Nakashima, T. Terasaki, E. Miyamoto, C. H. Nightingale, T. Yamana, *J. Pharm. Sci.*, **72**, 1239 (1983).
- 32) T. Terasaki, N. Imaeda, K. Nishide, A. Tsuji, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **9**, 81 (1986).
- 33) M. Nadai, H. Yoshizumi, T. Kuzuya, T. Hasegawa, I. Johno, S. Kitazawa, *Drug Metab. Dispos.*, **18**, 565 (1990).
- 34) A. Tsuji, K. Nishide, H. Minami, E. Nakashima, T. Terasaki, T. Yamana, *Drug Metab. Dispos.*, **13**, 729 (1985).
- 35) A. Tsuji, T. Terasaki, N. Imaeda, E. Nakashima, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **8**, 167 (1985).
- 36) J. H. Lin, T.-H. Lin, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **246**, 896 (1988).
- 37) C. A. Gloff, L. Z. Benet, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **17**, 169 (1989).
- 38) D. Kikeri, J.P. Pennell, K.H. Hwang, *Am. J. Physiol.*, **250**, F1098 (1986).
- 39) M. Nadai, T. Hasegawa, I. Muraoka, K. Takagi, T. Nabeshima, *J. Pharm. Sci.*, **80**, 648 (1991).
- 40) R. Apichartpichean, T. Hasegawa, M. Nadai, T. Kuzuya, T. Nabeshima, *J. Pharm. Pharmacol.*, **43**, 262 (1991).
- 41) L. Wang, T. Hasegawa, M. Nadai, T. Nabeshima, *J. Pharm. Pharmacol.*, **45**, 622 (1993).
- 42) O. Borga, R. Larsson, E. Lunnell, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **30**, 221 (1986).
- 43) M. Nadai, T. Hasegawa, L. Wang, S. Haghgoo, T. Okasaka, T. Nabeshima, N. Kato, *J. Pharm. Pharmacol.*, **48**, 744 (1996).
- 44) J. H. Lin, L. H. Los, E. H. Ulm, D. E. Duggan, *Drug Metab. Dispos.*, **15**, 212-216 (1987).
- 45) J. H. Lin, L. H. Los, E. H. Ulm, D. E. Duggan, *Drug Metab. Dispos.*, **16**, 52 (1988).
- 46) T. Hasegawa, M. Nadai, L. Wang, Y. Takayama, K. Kato, T. Nabeshima, N. Kato, *Drug Metab. Dispos.*, **22**, 8 (1994).
- 47) J. S. Kasher, P. D. Holohan, C. R. Ross, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **227**, 122 (1983).
- 48) R. Hori, M. Takano, T. Okano, S. Kitazawa, K. Inui, *Biochem. Biophys. Acta*, **692**, 97 (1982).
- 49) K. Inui, M. Takano, T. Okano, R. Hori, *Biochem. Biophys. Acta*, **855**, 425 (1986).
- 50) R. Hori, M. Takano, T. Okano, K. Inui, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **233**, 776 (1985).
- 51) M. Takano, K. Inui, T. Okano, H. Saito, R. Hori, *Biochem. Biophys. Acta*, **773**, 113 (1984).
- 52) R. Hori, H. Maegawa, T. Okano, M. Takano, K. Inui, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **241**, 1010 (1987).
- 53) C. Josepovitz, E. Pastoriza-munoz, D. Timmerman, M. Scott, S. Feldman, G. J. Kaloyanides, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **223**, 314 (1982).
- 54) R. P. Wedeen, V. Batuman, C. Cheeks, E. Marquet, H. Sobel, *Lab. Invest.*, **48**, 212 (1983).
- 55) R. A. Giuliano, G. A. Verpooten, L. Verbist, R. P. Wedeen, M. E. de Broe, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **236**, 470 (1986).
- 56) T. Hasegawa, M. Nadai, L. Wang, S. Haghgoo, T. Nabeshima, N. Kato, *Biol. Pharm. Bull.*, **17**, 1651 (1994).
- 57) R. C. Wilson, J. N. Moore, N. Eakle, *Am. Vent. Rev.*, **45**, 1746 (1983).
- 58) M. Sastrasih, T. C. Knauss, J. M. Weinberg, H. D. Humes, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **222**, 350 (1982).
- 59) M. G. Bergeron, Y. Bergeron, M. Tardif, S. Marchand, D. Beauchamp, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **33**, 1342 (1989).
- 60) P. Auclair, D. Tardif, D. Beauchamp, P. Gourde, M.G. Bergeron, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **34**, 889 (1990).
- 61) M. Nadai, T. Hasegawa, L. Wang, S. Haghgoo, T. Nabeshima, N. Kato, *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 1089 (1996).
- 62) A. Kamiya, K. Okumura, R. Hori, *J. Pharm. Sci.*, **73**, 892 (1984).
- 63) K. L. Brigham, B. Meyrick, L. C. Berry Jr., J. E. Repine, *J. Appl. Physiol.*, **63**, 840 (1987).
- 64) T. Matsuda, C. A. Eccleston, I. Rubinstein, S.I. Rennard, W. L. Joyner, *J. Appl. Physiol.*, **71**, 1483 (1991).
- 65) P. D. Walker, S. V. Shah, *Kidney Int.*, **38**, 1125 (1990).
- 66) A. K. Bidani, P. C. Churchill, *Can. Physiol. Pharmacol.*, **61**, 567 (1983).
- 67) C. J. Bowmer, M. G. Collis, M.S. Yates, *Br. J. Pharmacol.*, **88**, 205 (1986).
- 68) M. S. Yates, C. J. Bowmer, R. Kellett, M. G. Collis, *J. Pharm. Pharmacol.*, **39**, 803 (1987).
- 69) R. Kellett, C. J. Bowmer, M. G. Collis, M. S. Yates, *Br. J. Pharmacol.*, **98**, 1066 (1989).
- 70) M. R. Panjehshahin, T. S. Munsey, M. G. Collis, C. J. Bowmer, M. S. Yates, *J. Pharm. Pharmacol.*, **44**, 109 (1992).
- 71) P. C. Churchill, A. K. Biadani, M. M. Schwartz, *Am. J. Physiol.*, **253**, F244 (1987).
- 72) R. Sakai, K. Konno, Y. Yamamoto, E. Sanae, K. Takagi, T. Hasegawa, N. Iwasaki, M. Kakiuchi, H. Kato, K. Miyamoto, *J. Med. Chem.*, **35**, 4039 (1993).
- 73) C. G. A. Persson, G. Kjellin, *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **49**, 313 (1981).
- 74) C. G. A. Persson, J.-A. Karlsson, J. Erjefalt, *Life Sci.*, **30**, 2180 (1982).
- 75) K. Ogawa, K. Takagi, T. Satake, *Br. J. Pharmacol.*, **97**, 542 (1989).
- 76) 薬物受容体、高柳一成 編、南山堂、1992年。
- 77) R. J. Knight, C. J. Bowmer, M. S. Yates, *J. Pharm. Pharmacol.*, **45**, 979 (1993).
- 78) S. I. Shedlofsky, B. C. Israel, C. J. McClain, D. B. Hill, R.A. Blouin, *J. Clin. Invest.*, **94**, 2209 (1994).
- 79) M. B. Sewer, D. R. Koop, W. T. Morgan, *Drug Metab Dispos.*, **24**, 401 (1996).
- 80) R. Utili, C.O. Abernathy, H.J. Zimmerman, *Gastroenterology*, **70**, 248 (1976).
- 81) S. Haghgoo, T. Hasegawa, M. Nadai, L. Wang, T. Nabeshima, N. Kato, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **39**, 2258 (1995).