

# Ursodeoxycholic acid の薬効薬理試験

—実験的胆汁うっ滞ラットに対する作用—

## 【要 旨】

ラットを用いて  $17\alpha$ -ethynyl estradiol 投与による実験的肝内胆汁うっ滞モデルを作製し、胆汁うっ滞に対する ursodeoxycholic acid(以下 UDCA) 及び chenodeoxycholic acid (以下 CDCA) の有効性について検討を行った。その結果、1) UDCA 及び CDCA 投与群における血液中の GOP、GPT 及びアルカリフォスファターゼは対照群に比べて低下傾向を示したが、有意差は認められなかった。ビリルビン及び総胆汁酸については各群間に差を認めなかった。2) UDCA 及び CDCA 投与群における肝臓中のコレステロール及び総胆汁酸は対照群に比べて低下傾向を示したが、有意差は認められなかった。リン脂質については各群間に差を認めなかった。3) UDCA 及び CDCA 投与群における各時間の胆汁流量は対照群のそれに比べて有意に増加した。4) UDCA 及び CDCA 投与群における胆汁中へのコレステロール排泄量は対照群に比べて増加傾向を示したが、有意差は認められなかった。総胆汁酸排泄量については対照群に比べて有意に増加した。リン脂質排泄量については各群間に差を認めなかった。5) UDCA 及び CDCA 投与群における胆汁中 ICG 排泄量については対照群との間に差を認めなかった。

以上の結果から UDCA 及び CDCA は、胆汁中の胆汁酸依存性分画の分泌を亢進することにより胆汁流量を増加し、胆汁うっ滞症を軽減することが示唆された。

## 【緒 言】

Ursodeoxycholic acid (以下 UDCA) は、熊の胆汁中に含まれる胆汁酸の一種で、ヒトや他の動物の胆汁中に存在する一次胆汁酸の chenodeoxycholic acid(以下 CDCA) の光学異性体であり、胆石溶解剤及び抗高脂血症剤として使用されている。近年、UDCA はステロイド療法の無効であった薬物性急性肝内胆汁うっ滞及び遷延性肝内胆汁うっ滞症例に対して有効性が報告<sup>1),2)</sup> され、肝内胆汁うっ滞症の治療薬として注目されている。

今回、UDCA の薬効薬理試験の一環として、ラットを用いて実験的肝内胆汁うっ滞モデルを作製し、胆汁うっ滞に対する UDCA の有効性について検討を行った。

## 【実験材料及び方法】

### 1. 使用薬物

UDCA (Lot.B290400) は当社にて製剤化予定の原末を、大東工場より入手して使用した。CDCA 及び  $17\alpha$ -ethynyl estradiol (以下 EE) は Sigma 社製を使用した。その他の試薬は市販の試薬特級を使用した。

### 2. 実験動物

体重約 200g の Jcl:Wistar 系雄性ラット(日本クレア)を購入し、水及び固型飼料(MF, オリエンタル酵母)を自由に摂取させ、1週間予備飼育した後、異常の認められない動物を実験に供した。

### 3. 実験方法

#### (1) 実験的肝内胆汁うっ滞モデルラットの作製および薬物投与方法

EE を propylene glycol に溶解し、5 mg/0.5mL/kg 体重を 1 日 1 回午前 10 時に 9 日間筋肉内投与して胆汁うっ滞モデルを作製した。これらのラットを対照群、UDCA 群及び CDCA 群の 3 群に分け、対照群には 0.5% carboxymethyl cellulose (以下 CMC) 溶液、UDCA 及び CDCA 群には各々 UDCA 及び CDCA を 0.5% CMC 溶液に懸濁して 20mg/10mL/kg を EE 投与直後に経口投与した。また、別に EE 及び薬物を投与しない無処置群を設けた。動物は 9 日目まで自由に飼料と水を摂取させ、薬物の最終投与後は絶食とした。

#### (2) 胆汁流量及び血液、肝臓、胆汁中の脂質

各群 7～9 匹の動物を用いて、胆汁排泄量を測定した。すなわち、9 日目の薬物投与から 24 時間後に、sodium pentobarbital (大日本製薬) 40mg/mL/kg i.p. 麻酔下で開腹して、総胆管にポリエチレンチューブ (PE-10、夏目) を挿入して胆汁の採取を行った。各群ともにカニューレーション後 180 分まで 30 分毎に胆汁を採取し、胆汁の比重を 1 と仮定して重量法にて胆汁流量を測定した。胆汁採取後、腹大動脈からの採血及び肝臓の摘出を行い、得られた血清についてはトランスアミナーゼ (GOT、GPT) をイアトロザイム TA-LQ (ヤトロン)、アルカリフォスファターゼ (以下 ALP) をアルカリ性フォスファターゼ測定用試薬 S (ヤトロン)、ビリルビンをビリルビン-B II テストワコー (和光純薬) 及び総胆汁酸を総胆汁酸テストワコー (和光純薬) を用いて測定した。肝臓は Bligh らの方法<sup>3)</sup> に準じて脂質を抽出し、コレステロールをイアトロリポ TC (ヤトロン)、リン脂質をイアトロセット PL-E (ヤトロン) 及び総胆汁酸を総胆汁酸テストワコーを用いて測定した。また、胆汁中コレステロール、リン脂質及び総胆汁酸の排泄量を測定した。

#### (3) 胆汁中 ICG 排泄

各群 4～5 匹の動物を用いて、indocyanine green (以下 ICG) 静注後の胆汁中 ICG 排泄量を測定した。すなわち、9 日目の薬物投与から 24 時間後に、sodium pentobarbital 40mg/mL/kg i.p. 麻酔下で開腹して、総胆管にポリエチレンチューブを挿入して胆汁の採取を行った。採取開始から 30 分後に注射用蒸留水に溶解した ICG 2.0mg/1.6mL/kg を大腿静脈より注入した。注入後、60 分までは 15 分毎に、その後は 30 分毎に 180 分まで胆汁を採取し、胆汁流量及び胆汁中の ICG 排泄量を求めた。胆汁中 ICG 濃度の測定は比色法<sup>4)</sup>により行った。

#### (4) 統計的処理

結果における統計学的有意差の検討は、無処置群と対照群及び対照群と薬物投与群の間の有意差について Student's t-test を用いて行い、危険率が 5%未満の場合に有意であると判定した。

## 【実験結果】

### 1. 血液生化学検査値及び肝臓中脂質含量

表 1 に各群における血液生化学検査値を示した。

UDCA 群及び CDCA 群における GOT、GPT 及び ALP は対照群のそれらに比べて低下傾向を示したが、有意差は認められなかった。また、各群におけるビリルビン及び総胆汁酸については各群間において差が認められなかった。

表 2 に各群における肝臓中脂質含量を示した。

対照群におけるコレステロール及び総胆汁酸は無処置群に比べて有意に増加した。UDCA 群及び CDCA 群においては対照群に比べて各々低下傾向を示したが、有意差は認められなかった。各群におけるリン脂質については各群間において差が認められなかった。

### 2. 胆汁流量

図 1 に各群における胆汁流量の時間的推移を示した。

対照群における各時間の胆汁流量は無処置群のそれに比べて有意に減少した。UDCA 群及び CDCA 群においては、対照群の各時間の胆汁流量に比べて有意に増加した。

### 3. 胆汁中脂質排泄

表 3 に各群における胆汁中への脂質排泄量を示した。

対照群におけるコレステロール排泄量は無処置群に比べて有意に減少した。UDCA 群及び CDCA 群においては対照群に比べて増加傾向を示したが、有意な差は認められなかった。無処置群と対照群における総胆汁酸排泄量には差は認められなかったが、UDCA 群及び CDCA 群においては対照群に比べて有意に増加した。また、各群におけるリン脂質排泄量については各群間において差が認められなかった。

### 4. 胆汁中 ICG 排泄

図 2 に各群における胆汁中への ICG 排泄量の時間的推移を示した。

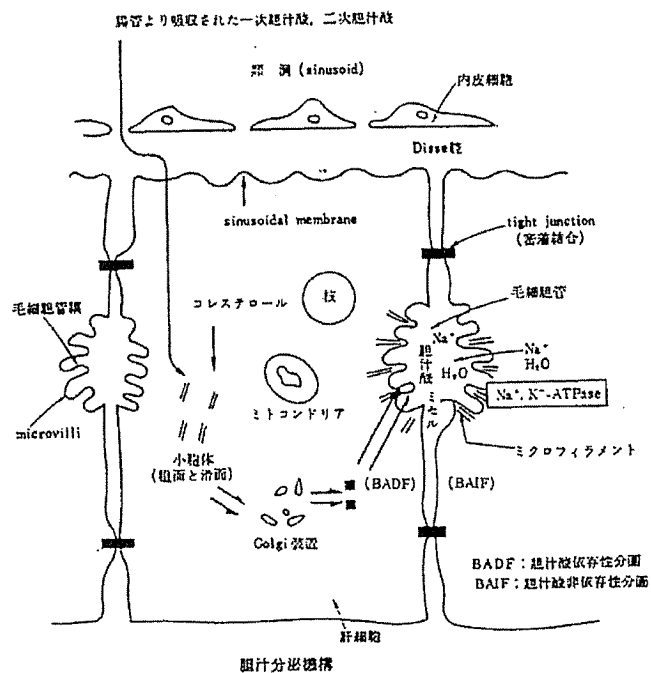
対照群における ICG 排泄量は 0 - 15 分において無処置群に比べて有意に減少したが、15 分以後においては有意な差は認められなかった。UDCA 群及び CDCA 群においては対照群の各時間の値との間に有意な差は認められなかった。

## 【考 察】

UDCA は胆石溶解及び高脂血症の治療剤として広く利用されており、その作用機序については胆汁中コレステロール濃度の低下作用<sup>5)</sup>、胆汁流量及び胆汁中胆汁酸排泄量の増加作用<sup>5)</sup>、胆汁中ムチン量の低下作用<sup>6)</sup>及びコレステロールの吸収抑制作用<sup>7)</sup>等が考えられている。また、肝内胆汁うっ滞症を始めとする肝障害時の使用については禁忌とされていたが、ステロイド療法が無効であった急性肝内胆汁うっ滞症及び遷延性肝内胆汁うっ滞症例に対して UDCA が有効であるとの報告<sup>1),2)</sup>がなされ、それ以後肝内胆汁うっ滞症の治療薬として注目されるようになった。

今回、著者らはラットを用いて  $17\alpha$ -ethynyl estradiol (EE) により惹起する実験的肝内胆汁うっ滞モデルを作製し、UDCA の胆汁うっ滞に対する効果について検討を行った。

胆汁うっ滞をきたすには、機械的閉塞機序がはっきりしている肝外閉塞性黄疸と、閉塞機序の明確でない肝内胆汁うっ滞とに大別される。このうち肝内胆汁うっ滞の機序については現在のところ、右図に示す胆汁分泌機構の各ステップの障害が絡み合って発症するものと考えられている<sup>8)</sup>。EE による胆汁うっ滞は初期には肝内の毛細胆管膜に存在する  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  ATPase を抑制して胆汁酸非依存性分画の分泌抑制、後期においては胆汁酸依存性分画の分泌を抑制することによるものと報告されている<sup>8)</sup>。



胆汁中 ICG 排泄は胆汁酸非依存性分画の分泌に対する指標であり、本モデルにおいて ICG 排泄の低下が認められず、かつ、胆汁流量が減少したことから、本モデルにおける胆汁うっ滞は胆汁酸依存性分画の分泌低下によるものと考えられた。

UDCA の胆汁分泌促進作用については重炭酸依存性の分泌、分泌型利胆及び浸透圧型利胆などの仮説<sup>9)</sup>があるが、いずれも胆汁うっ滞のない動物に対して非生理的な多量の UDCA を静脈内投与した場合の観察である。よって、UDCA が胆汁うっ滞状態に対していかなる利胆作用を及ぼすかについては明らかではない。

UDCA 及び CDCA は EE による胆汁流量の減少を抑制し、胆汁中総胆汁酸を増加した。また、肝内総胆汁酸、コレステロールの増加に対しては抑制傾向を示した。これらの事実から、UDCA 及び CDCA は胆汁酸依存性分画の分泌を亢進することにより胆汁流量を増加させ、肝内胆汁うっ滞を軽減させることが示唆された。一方、古賀らは EE 投与による胆汁うっ滞ラットモデルに対して UDCA を投与し、ICG 排泄量の減少が抑制されたことから、UDCA には胆汁酸非依存性分画の分泌亢進作用も有することを報告している<sup>10)</sup>。今回、著者らが使用したモデルは EE 投与によって ICG 排泄量が著明に減少するには至らないマイルドなモデルであったため、UDCA の胆汁酸非依存性分画の分泌作用に対しては有効性を証明しえなかった。

胆汁うっ滞から起こる血液生化学検査値に対する影響について検討した結果、GOT、

用に対しては有効性を証明しえなかった。

胆汁うっ滞から起こる血液生化学検査値に対する影響について検討した結果、GOT、GPT、ALP、ビリルビン及び総胆汁酸は各群間において著明な差を認めなかった。本モデルが比較的マイルドな胆汁うっ滞モデルであったため血液生化学検査値の変化として現れなかったものと考えられる。

以上より、UDCAは、胆汁うっ滞症に対して経口投与した場合、胆汁分泌及び胆汁中脂質排泄を促進することにより胆汁うっ滞を軽減することが示唆された。

#### 【文 献】

- 1) 友田隆ら：日消誌, 81, 2821, 1984.
- 2) 大西弘生ら：肝臓, 27, 1501, 1986.
- 3) Bligh, E.G., et al : Can. J. Biochem. Physiol., 37, 911, 1959.
- 4) 末松俊彦ら：日本臨床, 37, 2343, 1979.
- 5) 井上昭男ら：基礎と臨床, 11, 170, 1977.
- 6) 菅田文夫：肝胆膵, 17, 317, 1988.
- 7) 笠井博：基礎と臨床, 10, 63, 1976.
- 8) 田中直見ら：代謝, 17, 107, 1980.
- 9) Kitani, K., et al : Life Sci., 31, 1973, 1982
- 10) 古賀郁利子：肝臓, 28, 1597, 1987.

表 1. 実験的胆汁うっ滞ラットにおける血液生化学検査値に対する UDCA 及び CDCA の作用

群	GOT (Karmen Unit)	GPT (Karmen Unit)	ALP (K-A Unit)	ビリルビン (mg/dL)	総胆汁酸 (mg/dL)
無処置群 (n = 8)	163.7 ± 43.5	57.4 ± 13.5	14.2 ± 2.6	0.134 ± 0.067	1.99 ± 1.20
対照群 (n = 7)	119.0 ± 75.5	49.8 ± 31.8	19.0 ± 8.7	0.094 ± 0.030	1.44 ± 0.52
UDCA群 (n = 9)	98.1 ± 31.4	32.1 ± 18.1	17.4 ± 5.9	0.104 ± 0.027	1.62 ± 1.38
CDCA群 (n = 9)	70.5 ± 27.7	21.2 ± 9.6	14.2 ± 3.4	0.102 ± 0.025	1.13 ± 0.57

(平均値 ± 標準偏差)

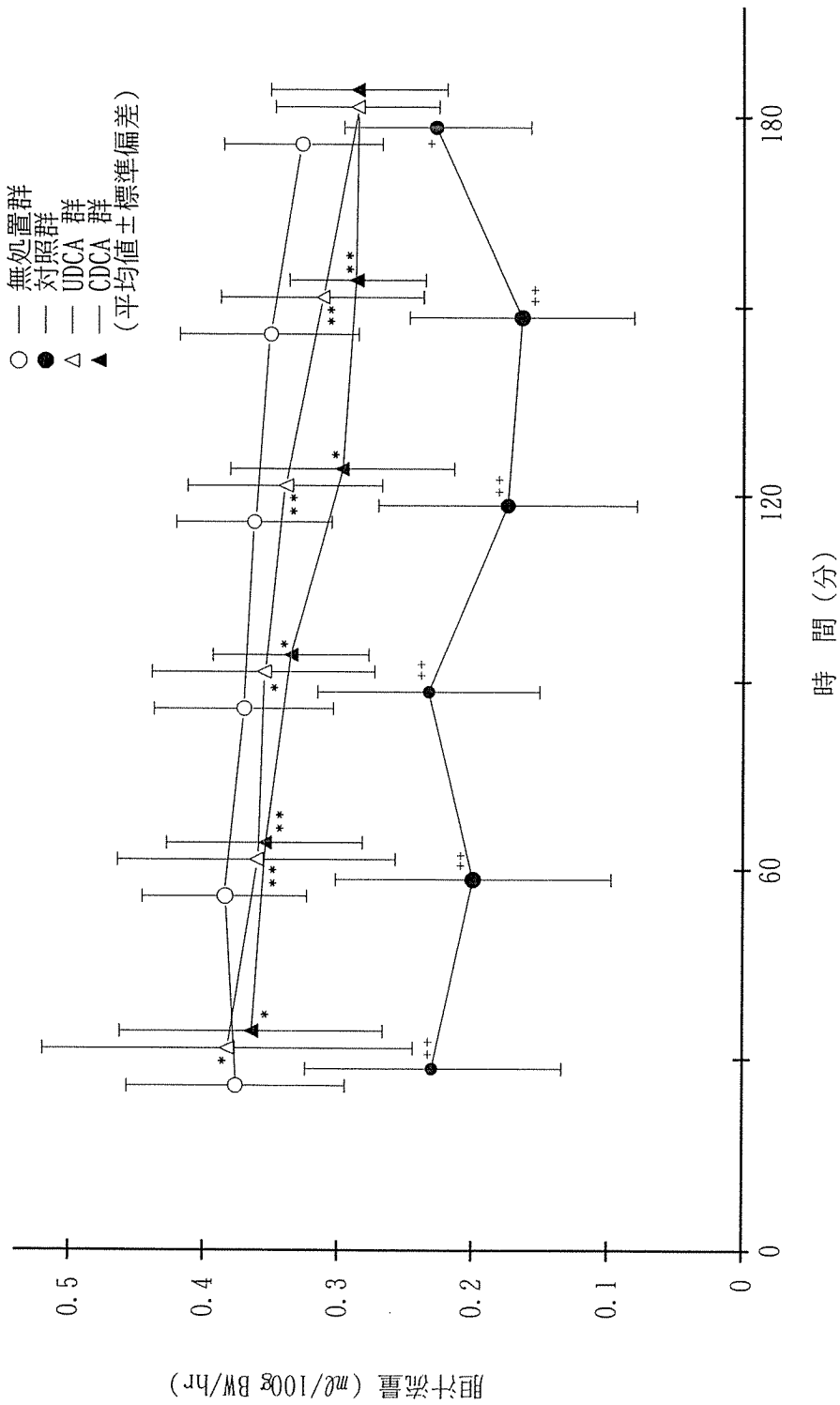


図1. 実験的胆汁うっ滞ラットにおける胆汁流量に対する UDCA 及び CDCA の作用

+ : 無処置群に対して5%の危険率において有意差あり。  
 ++ : 無処置群に対して5%の危険率において有意差あり。  
 \* : 対照群に対して5%の危険率において有意差あり。  
 \*\* : 対照群に対して5%の危険率において有意差あり。