

Ursodeoxycholic acid の薬効薬理試験

ーコレステロール代謝に対する作用ー

【要 旨】

正常及び高コレステロール血症マウスを用いて Ursodeoxycholic acid (UDCA)及び Chenodeoxycholic acid (CDCA) のコレステロール代謝に対する影響について検討を行った。

- 1) 普通食摂取マウスに UDCA 及び CDCA を経口投与した場合、血清及び肝中総コレステロール (TC) は低下傾向を示した。
- 2) 高コレステロール食を摂取させながら UDCA 及び CDCA を経口投与した場合、血清及び肝中 TC において、Control に比べて用量依存性の有意な低下が認められた。フン中 TC 排泄量においては Control に比べて有意な増加が認められた。
- 3) 高コレステロール食を摂取させた後、普通食に替えて UDCA 及び CDCA を経口投与した場合、血清及び肝中 TC において、Control に比べて用量依存性の有意な低下が認められた。この時フン中 TC 排泄量はほとんど変化しなかったが、フン中総胆汁酸排泄量は Control に比べて有意に増加した。
- 4) UDCA 及び CDCA は普通食摂取時において血清 GOT、GPT 活性に影響を与えず、高コレステロール血症時における GOT、GPT 活性の上昇を抑制した。

以上の結果から、UDCA 及び CDCA は高コレステロール血症時においてコレステロールの消化管からの吸収抑制作用を有することが示唆された。

【緒 言】

Ursodeoxycholic acid (以下 UDCA と略す) は熊胆汁の主成分で、ヒト、その他の動物の胆汁中に一次胆汁酸として広くみだされている Chenodeoxycholic acid (以下 CDCA と略す) の光学異性体であり、主としてコレステロール系の胆石生成予防や胆石溶解治療に有効な薬剤として用いられている^{1,3)}。また、コレステロールの腸管からの吸収や、コレステロールの代謝調節に重要な役割を果たしていると報告されている^{4,5)}。

今回、高コレステロール血症マウスを用いてコレステロールの吸収及び代謝に対する UDCA の影響について CDCA と比較検討した。

【実験材料及び方法】

1. 使用薬物

UDCA 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 は Sigma 社製を使用した。薬物は 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム (以下 CMC と略す、キシダ化学) 溶液に懸濁して用いた。

2. 使用動物

体重約 15 g の ddY 系雄性マウス (日本エスエルシー) を購入し、水及び固型飼料 (NMF、オリエンタル酵母、コレステロール 112mg/100 g 含有) を自由に摂取させ、1 週間予備

飼育した後、実験に供した。なお、1群には8～10匹を用いた。

3. 実験方法

1) 普通食摂取マウスに対する作用

マウスに普通食 (NMF)を与えながら、薬物投与群にはそれぞれ UDCA 及び CDCA 250mg/kg を、Control 群には 0.5%CMC 溶液を午前中に1日1回、2週間経口投与した。最終薬物投与後24時間絶食し、エーテル麻酔下で腹大動脈より採血を行った後、肝を摘出した。血液は遠心分離 (3000rpm、10min) 後、血清を採取し、血清中総コレステロール (TC) をイアトロリポ TC (ヤترون)、トランスアミナーゼ (GOT、GPT) をイアトロザイム TA-LQ(ヤترون) を用いて測定した。肝 TC は Bligh ら⁶⁾の方法によって脂質の抽出を行った後、イアトロリポ TC を用いて測定した。

2) 高コレステロール食摂取マウスにおける高コレステロール血症の予防効果

マウスに高コレステロール食 (NMF にコレステロール1%、コール酸0.5%添加)を与えながら、UDCA 及び CDCA 100 または 250mg/kg を午前中に1日1回、1週間経口投与した。最終薬物投与後24時間絶食し、エーテル麻酔下で腹大動脈より採血を行った後、肝を摘出し、血清及び肝中の TC 及び血清中の GOT、GPT 活性を測定した。また、一定期間ごとに体重を測定し、最終薬物投与日の前日から1日間の摂餌量の測定とフンの採取を行った。採取したフンはエタノールを加えてコレステロールを加温抽出した後、イアトロリポ TC を用いてコレステロール量を測定し、フン中コレステロール排泄量を求めた。

3) 高コレステロール食摂取マウスにおける高コレステロール血症の治療効果

マウスに高コレステロール食を10日間与えた後、普通食に替え、UDCA 及び CDCA 100 及び 250mg/kg を1日1回、8日間経口投与した。最終薬物投与後24時間絶食し、エーテル麻酔下で腹大動脈より採血を行った後、肝を摘出し、血清及び肝中の TC 及び血清中 GOT、GPT 活性を測定した。また、一定期間ごとに体重を測定し、最終薬物投与日の前日及び前々日の摂餌量の測定とフンの採取を行い、フン中 TC 及び総胆汁酸排泄量を求めた。フン中総胆汁酸は総胆汁酸-テストワコー (和光純薬) を用いて測定した。

【実験結果】

1. 普通食摂取マウスに対する作用 (表1)

UDCA 及び CDCA 投与1週間後の血清 TC は Control 群に比べ両群ともに低下傾向を示したものの有意な差を認めなかった。血清 GOT、GPT 活性も Control 群との間に差を認めなかった。肝中 TC は UDCA 群において Control 群に比べて低下傾向を示したものの差を認めなかった。CDCA 群は Control 群との間に差を認めなかった。

2. 高コレステロール食摂取マウスにおける高コレステロール血症の予防効果(表2、図1)

高コレステロール食を1週間摂取した Control 群の血清 TC は Normal 群に比べて

約 1.7 倍の高値を示した。UDCA 低用量群においては Control 群との間に差を認めなかったが、UDCA 高用量群及び CDCA 群においては有意に低下し、その低下率は UDCA 高用量群が最大であった。血清 GOT、GPT 活性は Control 群において Normal 群に比べて有意な高値を示したが、UDCA 及び CDCA 群においては Control 群に比べて有意な低値を示した。肝中 TC は Control 群において Normal 群に比べて約 2.6 倍に増加したが、UDCA 及び CDCA 高用量群においてはその増加が有意に抑制された。フン中 TC 排泄量は Control 群において Normal 群に比べて約 6.5 倍に増加した。UDCA 群のフン中 TC 排泄量は Control 群に比べて有意に増加したが、CDCA 群では Control 群との間に差を認めなかった。体重推移は Normal 群において順調な増加を示したが、他群においては不変もしくは減少傾向を示した。摂餌量は各群とも 4～6 g/day であり、Control 群との間に差を認めなかった。

3. 高コレステロール食摂取マウスにおける高コレステロール血症の治療効果 (表 3、4、図 2)

10 日間の高コレステロール食摂取後に普通食に変えた 8 日後の Control 群の血清 TC 値は Normal 群のそれに比べ高値を示した。UDCA 及び CDCA 群の血清 TC は Control 群に比べて用量依存性の有意な低下を示した。血清 GOT、GPT 活性については Normal 群を除いた各群間において差を認めなかった。肝中 TC は Control 群において Normal 群に比べて約 2.6 倍に増加したが、UDCA 及び CDCA 投与群において用量依存性の低下が認められ、UDCA 群及び CDCA 高用量群において Control 群との間に有意差が認められた。フン中 TC 排泄は Control 群において Normal 群に比べて有意に増加した。UDCA 投与群においては Control 群に比べて増加傾向を示し、UDCA 低用量群の 6 日目において Control 群との間に有意差が認められた。CDCA 低用量群では Control 群に比べて低下したが、CDCA 高用量群では Control 群との間に有意な差を認めなかった。フン中総胆汁酸排泄量は Control 群において Normal 群に比べて有意な増加が認められた。UDCA 及び CDCA 群においては Control 群に比べて用量依存性の有意な増加が認められた。体重推移は各群とも順調な増加を示し、各群間において有意な差を認めなかった。摂餌量は各群間において有意な差を認めなかった。

【考 察】

胆汁酸は肝においてコレステロールの主代謝物として胆汁中に分泌され、コレステロールの吸収、排泄及び生合成に関与し、コレステロールの代謝調節に重要な役割を果たしている。今回、普通食、高コレステロール食及び高コレステロール摂食後に普通食にて飼育したマウスに対して UDCA 及び CDCA を経口投与し、血清及び肝中 TC 量とフン中 TC 及び総胆汁酸排泄について検討を行った。

普通食摂取マウスに UDCA 及び CDCA を投与すると、血清及び肝中 TC に低下が認められたものの有意な低下ではなかった。つぎに、高コレステロール血症に対する予防効

果を検討するため、高コレステロール食を摂取させながら UDCA 及び CDCA を投与した。血清及び肝中 TC において Control に比べて用量依存性の有意な低下が認められた。さらに、高コレステロール血症に対する治療効果を検討するため、高コレステロール食を摂取させた後、普通食に替えて同時に UDCA 及び CDCA を投与した。血清及び肝中 TC において Control に比べて用量依存性の有意な低下が認められ、正常値までに回復した。一方、フン中 TC 排泄量については高コレステロール食を摂取させながら UDCA 及び CDCA を投与したところ、Control に比べて用量依存性の有意な増加が認められた。また高コレステロール食を摂取させた後、普通食に替えて UDCA 及び CDCA 投与したところ、フン中 TC 排泄量の著明な変化は認められなかったが、フン中総胆汁酸排泄量は Control に比べて有意に増加した。胆汁酸の種類の違いによってコレステロール代謝に対する作用が異なることが知られており、すなわち、cholic acid ではコレステロール吸収促進⁸⁾、UDCA 及び CDCA では逆に吸収抑制作用を示すことが報じられている⁹⁾。また、UDCA 及び CDCA が血清及び肝中 TC の低下作用を有することもすでに報告されている^{4,5,10)}。その作用機序については、酢酸及びメバロン酸からのコレステロール生合成の抑制¹¹⁾、肝中コレステロールの胆汁中への排泄促進及び消化管からの再吸収抑制¹⁰⁾、さらにコレステロールの胆汁酸への異化亢進¹²⁾等が考えられている。本実験では、高コレステロール血症に陥っているために肝におけるコレステロール生合成の律速酵素である HMGCoA reductase 活性が低下しているものと推察される。また、外因性に胆汁酸を多量に投与しているために、コレステロールからの胆汁酸への特異的な異化酵素である Cholesterol 7 α -hydroxylase 活性も抑制されているものと推察される。よって、本実験における UDCA 及び CDCA による血清及び肝中 TC の低下は血清及び肝中コレステロールの胆汁中への分泌促進と消化管からの吸収抑制によるフン中へのコレステロール排泄の増加の結果と推定されるが、どちらの作用が主であるかは不明である。また、この作用の特徴は血清及び肝中 TC が高値の時に著明に現れ、正常値付近ではほとんど認められないことである。これらの作用は UDCA 及び CDCA の一次的な影響なのか、胆汁中の胆汁酸組成を変化させることによる二次的な影響なのかについては不明であり、これらの点については、今後さらに検討する必要がある。また、Control 群におけるフン中総胆汁酸排泄量の増加は外因性に胆汁酸を投与していないことからコレステロールの異化によるものと考えられるが、UDCA 及び CDCA 投与におけるそれは胆汁酸が再吸収されずに排泄されたことによるものと考えられる。

胆汁酸の肝機能への影響の指標として血清 GOT、GPT 活性を測定した。その結果、UDCA 及び CDCA は普通食摂取時において血清 GOT、GPT 活性には影響を与えず、高コレステロール血症時における GOT、GPT 活性の上昇を抑制した。古賀らは、初代培養肝細胞を用いて UDCA 及び CDCA の肝細胞膜に対する作用について検討し、CDCA には膜障害作用が、UDCA には逆に膜保護作用が認められたことを報告している¹³⁾。また笠井らは著者らと同様な結果を報告している⁵⁾。これらの事実から UDCA 及び CDCA は今

回実験に用いた用量では肝機能に対してほとんど影響を与えず、むしろ肝細胞膜に対して保護作用を有することが示唆された。

【文 献】

- 1) 井上昭男 ほか：基礎と臨床, 11(10), 170, 1977
- 2) 菅田文夫 ほか：日本消化器病学会雑誌, 71, 75, 1974
- 3) 篠崎堅次郎 ほか：肝臓, 15, 450, 1974
- 4) 松井静雄 ほか：基礎と臨床, 10(1), 73, 1976
- 5) 笠井 博 ほか：基礎と臨床, 10(1), 63, 1976
- 6) Bligh, E.G., et al : Can. J. Biochem. Physiol., 37, 911, 1959
- 7) Wilson, J.D., et al : Arch, Int. Med., 130, 493, 1972
- 8) Howe E.E., et al : J. Nutr., 77, 237, 1962
- 9) Raicht, R.F., : Gastroenterology, 67, 1155, 1974
- 10) 中村治雄：日消会誌, 62, 1105, 1965
- 11) Shefer, S., et al : J. Lipid. Res., 14, 573, 1973
- 12) Danielsson, H., Steroids, 22, 667, 1973
- 13) 古賀郁利子：肝臓, 28(12), 1597, 1987

表 1 正常食摂取マウスに対するUDCA及びCDCAの作用

Group	Dose (mg/kg)	Serum cholesterol (mg/dL)	Liver cholesterol (mg/g liver)	Serum GOT (K. U.)	Serum GPT (K. U.)
Control	0.5% CMC	180.1 ± 32.7	2.90 ± 0.44	48.0 ± 8.2	23.8 ± 3.0
UDCA	250	144.5 ± 45.5	2.42 ± 0.47	50.0 ± 10.5	23.8 ± 6.9
CDCA	250	158.3 ± 23.2	3.06 ± 0.70	40.8 ± 6.0	22.0 ± 6.3

Data are expressed as the mean ± S.D. (n = 8)

表 2 高コレステロール食摂取マウスにおける高コレステロール血症に対する予防効果

Items Group	Dose (mg/kg)	Serum cholesterol (mg/dl)	Liver cholesterol (mg/g liver)	Serum GOT (K. U.)	Serum GPT (K. U.)	Cholesterol in feces (mg/day)
Normal	—	145.3 ± 25.8	4.88 ± 0.95	59.6 ± 19.4	31.6 ± 6.3	4.59 ± 0.82
Control	0.5% CMC	251.5 ± 51.1	12.95 ± 1.14	133.3 ± 53.9 ·	200.2 ± 123.6 ·	29.38 ± 6.19 ·
UDCA	100	256.4 ± 130.9	12.72 ± 3.46	63.0 ± 24.2 **	64.7 ± 38.8 *	39.44 ± 5.61 **
	250	134.6 ± 31.6 **	7.41 ± 2.28 **	43.1 ± 10.6 **	41.6 ± 16.2 **	42.60 ± 5.36 **
CDCA	100	169.4 ± 39.8 **	11.87 ± 2.66	52.4 ± 17.2 **	56.5 ± 18.6 **	32.61 ± 6.85
	250	171.1 ± 26.0 **	9.96 ± 2.33 **	49.1 ± 21.5 **	54.6 ± 38.8 **	33.00 ± 6.17

Data are expressed as the mean ± S. D. (n = 9 ~ 10)

* p < 0.05, ** p < 0.01, significantly different from the control group.

▲ : p < 0.05 Control vs Normal

表 3 高コレステロール食摂取マウスにおける高コレステロール血症に対する治療効果
血清及び肝中コレステロールに対する作用

Items Group	Dose (mg/kg)	Serum cholesterol (mg/dL)	Liver cholesterol (mg/g liver)	Serum GOT (K. U.)	Serum GPT (K. U.)
Normal	—	154.1 ± 19.3	3.62 ± 0.62	61.1 ± 5.7	34.2 ± 2.7
Control	0.5% CMC	188.1 ± 32.4	9.32 ± 1.35	46.4 ± 5.5	32.9 ± 6.5
UDCA	100	130.5 ± 26.6 **	7.41 ± 1.10 **	55.8 ± 9.0 *	34.7 ± 9.3
	250	118.2 ± 22.8 **	4.00 ± 1.07 **	47.9 ± 10.0	31.1 ± 7.4
CDCA	100	142.6 ± 26.9 *	7.90 ± 3.28	45.9 ± 9.1	30.7 ± 5.5
	250	133.4 ± 29.1 **	4.46 ± 1.44 **	60.6 ± 20.1	32.8 ± 7.7

Data are expressed as the mean ± S.D. (n = 9 ~ 10)

* p < 0.05, ** p < 0.01, significantly different from the control group.