

Ursodeoxycholic acid の薬効薬理試験

—胆石生成抑制に対する作用—

【要 約】

コレステロール (CH) 及びコール酸 (CA) を添加した胆石生成食をマウスに与え、マウスの胆石生成ならびにその生成と密接な関係を有すると思われる肝及び胆汁中脂質成分に対する ursodeoxycholic acid (UDCA) の作用について検討を行った。その結果 1) UDCA は胆石生成食摂取による胆石の生成を抑制した。2) UDCA は胆石生成食摂取による胆汁中 CH、総胆汁酸 (BA) 及びリン脂質 (PL) 濃度の増加を抑制した。更に、胆汁中ムチン量を減少させた。3) UDCA は胆石生成食摂取による肝中 CH 及び BA の増加を抑制し、PL の増加を亢進した。

以上の結果から、UDCA は肝及び胆汁中 CH 濃度の低下と胆汁中のムチン量を減少することにより、コレステロールのミセル化形成を促進することによって胆石生成を抑制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あり、古くから利胆剤として胆のう、胆管及び肝臓等の疾患に使用されて来た。近年、UDCA がコレステロールの腸管からの吸収抑制作用やコレステロール代謝調節に重要な役割を果たしていることが報告¹⁻³⁾ されて以来、高脂血症の治療、コレステロール系の胆石生成予防や胆石溶解治療薬として臨床の場で使用されている⁴⁻⁶⁾。

今回、マウスに高コレステロール食を摂取させることにより発症する、コレステロール系胆石に対する UDCA 及びその光学異性体である chenodeoxycholic acid (以下 CDCA) の胆石生成抑制作用について検討を行った。

【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。

Chenodeoxycholic acid は Sigma 社製を使用した。

2. 実験動物

体重約 15g 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) を自由に摂取させ、1 週間予備飼育した後、実験に供した。

3. 実験方法

(1) 胆石発生率

正常食として固型飼料 (NMF、オリエンタル酵母) を、胆石生成食としては正常食に 0.5%CH 及び 0.2%CA を添加した飼料を用いた。UDCA は 1 日あたりの投与量が 50 及び 250mg/kg、CDCA は 250mg/kg になるように胆石生成食中にそれぞれ 0.03、0.15%、0.15% の割合で添加し、実験食とした。

動物は食餌組成により以下の群に分け、それぞれの実験食で 9 週間飼育した後、開

腹して胆のう内の胆石の有無を肉眼的に観察し、胆石発生率を求めた。また、実験期間中経時的に体重の測定を実施した。

正常群	10 匹
胆石生成食群	30 匹
胆石生成食+0.03%UDCA 添加群	30 匹
胆石生成食+0.15%UDCA 添加群	30 匹
胆石生成食+0.15%CDCA 添加群	30 匹

(2) 胆汁中各脂質成分及びムチンに対する作用

実験食で9週間飼育した後、動物を pentobarbital (大日本製薬) 40mg/kg、i.p. 麻酔下で背位に固定し、正中切開したのち polyethylene tube (SP-8、夏目) を総胆管に挿入固定して胆汁を体外に導いて採取した。胆汁中 BA は市販キット総胆汁酸-テストワコー (和光純薬) を用いて測定した。CH 及び PL はそれぞれ市販キット、イアトロリポ TC (ヤترون) 及びイアトロセット PL-E (ヤترون) を用いて測定した。胆汁中ムチン量は胆汁中のシアル酸を指標として用い、チオバルビツール酸法⁷⁾ を用いて測定した。

(3) 肝臓中各脂質成分に対する作用

実験食で9週間飼育した後、動物を麻酔下に頸動脈より脱血致死させ直ちに肝臓を摘出した。肝中脂質は Bligh ら⁸⁾ の方法によって抽出した後、BA、CH 及び PL を測定した。

(4) 統計処理

胆石発生率については X^2 検定、その他については Student t-test で行った。

【実験結果】

1. 胆石発生率

実験期間の体重推移は正常食群、胆石生成食群、UDCA 添加群及び CDCA 添加群ともに順調に増加し、正常食群との間において各群とも差を認めなかった (表1)。

開腹時に確認された胆のう内の胆石は直径 0.5~2.0mm の白色粒状のものが多数含まれている例がほとんどであった (図1)。胆石生成食群の胆石発生率は 76.7%であり、UDCA 0.03%及び 0.15%添加群ではそれぞれ 33.3%及び 30.0%で、胆石生成食群に比べて有意に胆石発生率を抑制した。CDCA 添加群の胆石発生率は 66.7%であり、低下傾向を示したものの胆石生成食群と比較して有意な差は認められなかった (図2)。

2. 胆汁中脂質成分及びムチン

胆石生成食群の胆汁中 BA、CH 及び PL は正常食群に比べて増加し、CH 及び PL では有意な差が認められた。UDCA 及び CDCA 添加群における BA、CH 及び PL は胆石生成食群のそれらに比べてそれぞれ有意に低下した (図3)。胆石生成食群の胆汁中ムチンとしてのシアル酸は正常食群に比べて有意に減少した。UDCA 及び CDCA

添加群におけるシアル酸は胆石生成食群のそれに比べて減少し、UDCA 添加群においては有意差が認められた (図 4)。

3. 肝臓中脂質成分

胆石生成食群の肝臓中 BA、CH 及び PL は正常食群のそれらに比べてそれぞれ有意に増加し、CH においては著明であった。UDCA 添加群における BA および CH は胆石生成食群のそれらに比べて低下し、UDCA 0.15% 添加群においては有意差が認められた。PL については胆石生成食群に比べて増加し、UDCA 0.15% 添加において有意差が認められた。CDCA 添加群においては CH が胆石生成食群のそれに比べて有意に低下し、BA 及び PL については胆石生成食群との間に差を認めなかった (表 2)。

【考 察】

UDCA とその光学異性体である CDCA の胆石溶解作用及びその作用機序についてマウスを用いて検討を行った。はじめに、胆石生成モデルを作製するにあたって、井上ら⁹⁾が実施した方法を追試した。すなわち、基礎食 (NMF、オリエンタル酵母) に CH 0.5、1.0 及び 1.5% にコール酸 0.2% を添加した胆石生成食を与えて胆石発生率について検討した。その結果、CH 1.0 及び 1.5% 含有食を与えた場合には 3 週間目から CH 0.5% 含有食では 5 週間目から約 50% の胆石発生率が認められた。また、胆のう内に析出した胆石をアルコールで溶解して分析した結果、コレステロールを主成分とするコレステロール系胆石であることが判明した。本試験では胆石生成要因である CH を 0.5% に減少した、よりマイルドな胆石生成モデルを使用することにより薬剤の作用について検討した。

胆石生成抑制作用については、胆石生成食に UDCA の 1 日あたりの投与量が 50 及び 250mg/kg、CDCA が 250mg/kg になるように、それぞれ 0.03%、0.15% 及び 0.15% の割合で添加し、9 週間、動物に摂取せしめた。その結果、胆石発生率は胆石生成食群で 76.7%、UDCA 0.03 及び 0.15% 添加群でそれぞれ 33.3 及び 30.0% であり、その発生率は有意に抑制された。一方、CDCA 群における発生率は胆石生成食群に比べて若干低下したが、有意差は認められなかった。胆石の成因機序については多数の説が報告¹⁰⁻¹²⁾されており、現在、コンセンサスの得られている説は胆汁 (CH、BA、PL、糖タンパク、胆汁色素及び電解質等を含む) 中において、水に不溶性の CH が親水性の BA 及び PL とミセルを形成して可溶化し、何らかの原因 (過剰摂取、CH 合成能亢進、CH 異化抑制) で過飽和状態に陥り、ミセル形成が出来なかった場合に結晶が析出するものと考えられている。また、上述の物理化学的要因の他に、最近、菅田¹³⁾は胆のうの運動機能低下、胆汁中ムチン分泌の動態及びアラキドン酸カスケードにおけるレシチンの構造上の変化、特にプロスタグランディンの関与等の可能性を報告し、その成因に関してはいまだ不明点が多いとしている。本試験においても肝及び胆汁中脂質成分と胆汁中ムチン量の変化について検討した。その結果、UDCA 投与においては肝及び胆汁中 CH 及び BA は胆石生成食群に比べて低下した。PL は肝において増加し、胆汁中においては逆に低下

した。一方、CDCA 投与においては肝及び胆汁中 CH は胆石生成食群に比べて低下したが、BA 及び PL は肝において胆石生成食群との間に差を認めなかったが、胆汁中においてはともに低下した。また、胆汁中ムチン量は UDCA 投与において胆石生成食群に比べて減少したが、CDCA 投与では減少傾向を示したものの有意差は認められなかった。さらに、胆汁中における CH 溶解能として CH 溶存能 $\left[\frac{BA + PL}{CH} \right]$ を求めたところ（データは提示せず）、胆石生成食群と薬剤添加各群間において差は認められなかった。これらの事実から、UDCA と CDCA は肝及び胆汁中における脂質代謝及びムチン分泌において作用が異なることが示唆された。また、CH 及び BA は受動的な肝から胆汁への排泄、PL については能動的な排泄経路の存在が示唆された。さらに、胆石生成の抑制は CH 溶存能からでは説明出来ず、むしろ肝及び胆汁中の CH 低下に伴う胆汁中 CH 飽和状態の改善と胆汁中ムチン量の減少に伴う CH ミセル形成の促進が一つの要因であると推察された。最近、北山らは CH 胆石患者と胆石を有しない健常者の胆汁脂質成分の分析を行い、CH 溶存能では両群を区別することは困難であり、胆汁中 CH の析出時間（nucleation time）によって区別することが出来、この nucleation time には胆汁中ムチンが影響していることを報告している¹⁶⁾。

本試験で得られた肝及び胆汁中 CH 低下の機序については、第 1 に著者ら¹⁴⁾ がマウスを、松井ら¹⁾ がラットを用いた実験において報告した、UDCA の腸管からの CH 吸収抑制作用及び血清 CH の低下作用が考えられる。第 2 に UDCA の肝内における CH 排泄の亢進が考えられるが、Hofmann ら¹⁵⁾ はこの機序に関しては胆汁酸の代謝動態の不明確さから明らかでないとして報告している。一方、UDCA による胆汁中ムチン量の減少機序については不明である。いずれにせよ、UDCA は高 CH 食摂取時における胆石発症を予防したことから、臨床の場においても同様の効果が期待される。

【文 献】

- 1) 松井静雄ほか：基礎と臨床，10(1)，73，1976
- 2) Wilson, J.D. et al. : Arch. Int. Med., 130, 493, 1972
- 3) Howe, E.E. et al. : J. Nutr., 77, 237, 1962
- 4) 牧野勲ほか：日本消化器病学会雑誌，72，690，1975
- 5) 八田善夫ほか：最新医学，30，970，1975
- 6) 芦沢真六ほか：医学のあゆみ，101，922，1977
- 7) Warren, L. et al. : J. biol. Chem. 234, 1971, 1959
- 8) Bligh, E.G. et al. : Can. J. Biochem. Physiol., 37, 911, 1959
- 9) 井上昭男ほか：基礎と臨床，11(10)，170，1977
- 10) 菅田文夫：診断と治療，74，1928，1986
- 11) 菅田文夫：日本臨牀，42，1683，1984

- 12) Carey M.C. : Biliary lipid and gallstone formation. Clinical Hepatology, Csomo's G and Thaler Hed, Springer-Verlag, Berlin, 52, 1983
- 13) 菅田文夫 : 肝胆膵, 17(2), 317, 1988
- 14) 清水一広ほか : 社内報告書 (UDCA・第2報) , 1991
- 15) Hofmann, A.F. : Heparology, 199S, 1984
- 8') Marshall, R.D. et al. : "Glycoprotein" , ed. by Gottschalk, A. Elsevier, Amsterdam, Part A, 224, 1972
- 16) 北山 修ほか : 医学と薬学, 27(1), 5, 1992