

Ceftriaxone (Ro 13-9904) のイヌおよびウサギにおける腎排泄機序

市原成泰・露木由美子・中山幸子・清水宏俊

日本ロシュ研究所生化学部

要 旨

Ceftriaxone (CTRX, Ro 13-9904) のイヌおよびウサギにおける腎排泄機序を、定速注入による stop-flow 法によって検討した。イヌでは近位および遠位尿管部位からの CTRX の排泄は認められず、プロベネシドの影響もなかった。一方、ウサギでは CTRX の遠位尿管部位からの排泄は認められなかったが、近位尿管部位からの排泄が認められた。これらの結果から、CTRX は、イヌでは主として糸球体濾過により排泄され、ウサギでは糸球体濾過のみならず近位尿管分泌によっても排泄されることが示唆された。

緒 言

Ceftriaxone (CTRX, Ro 13-9904) は、スイス、F.Hoffmann-La Roche 社で開発されたセファロsporin 系の注射用抗生物質である。

本薬物は抗菌スペクトルが広域であり、*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *S. marcescens*, *H. influenzae* 等に強い抗菌力を示す¹⁾。また、ヒトにおける血中半減期は 6~8 hr^{2,3)}と、従来のセファロsporin 系の薬物の中で最も長く、体内ではほとんど代謝を受けず、未変化体のまま尿中に 48hr までに約 50% が排泄される³⁾。今回我々は、本薬物の腎からの排泄機序を解明するため、イヌおよびウサギを用いて定速注入による stop-flow 法を行い、若干の知見を得たので報告する。実験期間は 1982 年 6 月~10 月である。

I. 実験材料および実験方法

1. 実験動物

雄性ビーグル犬は、富士アニマルファームより購入した 9~10 kg (生後 10~11 カ月) の健康なイヌ 3 頭を用いた。いずれも寄生虫陰性、生化学検査値正常であった。雄性日本白色ウサギは、斉藤育成所より購入した 2.7~3.0 kg (生後 6~7 カ月) のもの 3 羽を用いた。両動物は温度 22±2 °C、湿度 55±5% の室内で個別ケージにて飼育した。イヌは日本クレア社製固型飼料 (CD-1) を 1 日あたり約 550 g、ウサギはオリエンタル酵母工業製固型飼料 (RC-4) を自由に与えた。また、水は滅菌水道水を自由に摂取させた。両動物は、2~3 週間の子備飼育期間中、体重増加は順調であった。

2. 手術処置

両動物は、ペントバルビタール (30 mg/kg を前肢静脈に静注) にて麻酔し、気管切開後、正中切開し、左輸尿管にカニューレを挿入し導尿採取した。また、血圧は右大腿動脈にカニューレを挿入し、圧トランスジューサー (日本光電 MPU-0.5) を介して測定した。イヌでは、被験薬物は右大腿静脈および左腕頭静脈よりそれぞれ静注および定速注入し、左大腿動脈より採血した。ウサギでは、被験薬物は右および左大腿静脈よりそれぞれ静注および定速注入し、右頸動脈より採血した。

3. 使用薬物および調製法

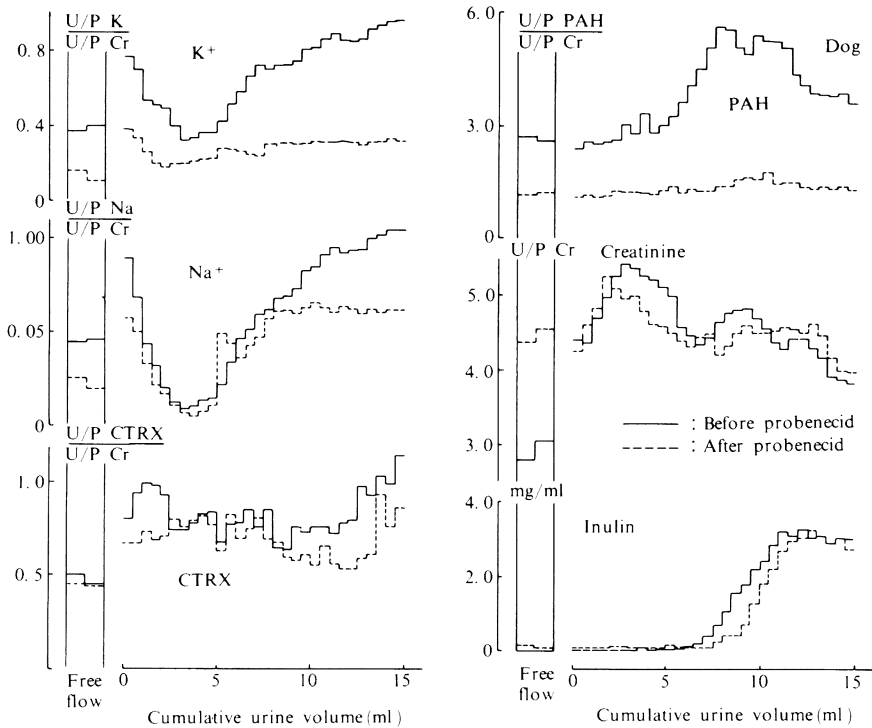
- 1) CTRX (Ro 13-9904, Lot No. CH104044) は、使用直前に生理食塩液に溶解し、20w/v% 濃度にした。
- 2) イヌリン (特級, 和光純薬) は、生理食塩液に溶解し、5 w/v% 濃度にした。
- 3) マンニトール (特級, 和光純薬) は、生理食塩液に溶解し、15 w/v% 濃度にした。
- 4) クレアチニン (GR, Merck) は、生理食塩液に溶解し、10 w/v% 濃度にした。
- 5) プロベネシド (GR, Sigma) は、その 900 mg に 1 N NaOH 水溶液 2.5 ml および脱イオン水を加え、加温により大部分を溶解した後、1 N NaOH 水溶液数滴を加えて完全に溶解した。次いで脱イオン水を加えて全量を 15 ml とした (6 w/v%, 60 mg/ml, pH 7~8)。
- 6) p-アミノ馬尿酸は、第一製薬の p-アミノ馬尿酸ナトリウム塩注射液 (20 w/v%) を用いた。

4. 分析方法

1) CTRX の定量

血漿中 CTRX は、採取した血漿 100 μl に内部標準物質

Fig. 1 Stop-flow pattern in dogs



として 10 μ g の cephalotin を含む水溶液 20 μ l, 0.45 N リン酸水溶液 10 μ l およびメタノール 100 μ l を加え十分攪拌した後、500 \times g で 5 分間遠心分離し、上清 5~10 μ l について HPLC 法により分離定量した。また、尿中 CTRX は、原尿 100 μ l に cephalotin 25 μ g を含む水溶液 100 μ l を加えた後、次に示す HPLC 移動相 1.8 ml にて希釈し、そのうちの 5~10 μ l を用い HPLC にて分離定量した。HPLC の条件を次に示す。(1)カラム：Lichrosorb RP-18 (5 μ m, 4 \times 150mm), (2)移動相：Titrisol[®] (pH 7.0, Merck) 50ml, セチルトリメチルアンモニウムブロミド 4g を 950 ml のアセトニトリル水溶液 (55%CH₃CN in H₂O) に溶解した, (3)流速：0.9 ml/min, (4)検出：274 nm における吸光度測定。上述の HPLC の条件では、CTR X は 6.7~6.8 min に、cephalotin (内部標準物質) は 4.1~4.2 min に溶出した。本定量法における CTR X の検出限界は、血漿および尿でそれぞれ 2 μ g/ml および 20 μ g/ml であった。

- 2) イヌリンおよび p-アミノ馬尿酸の定量
中村らの方法²⁾に準じ、比色定量した。
- 3) クレアチニンの定量

WAKO クレアチニンキット (和光純薬) により比色定量した。

4) Na⁺, K⁺の定量

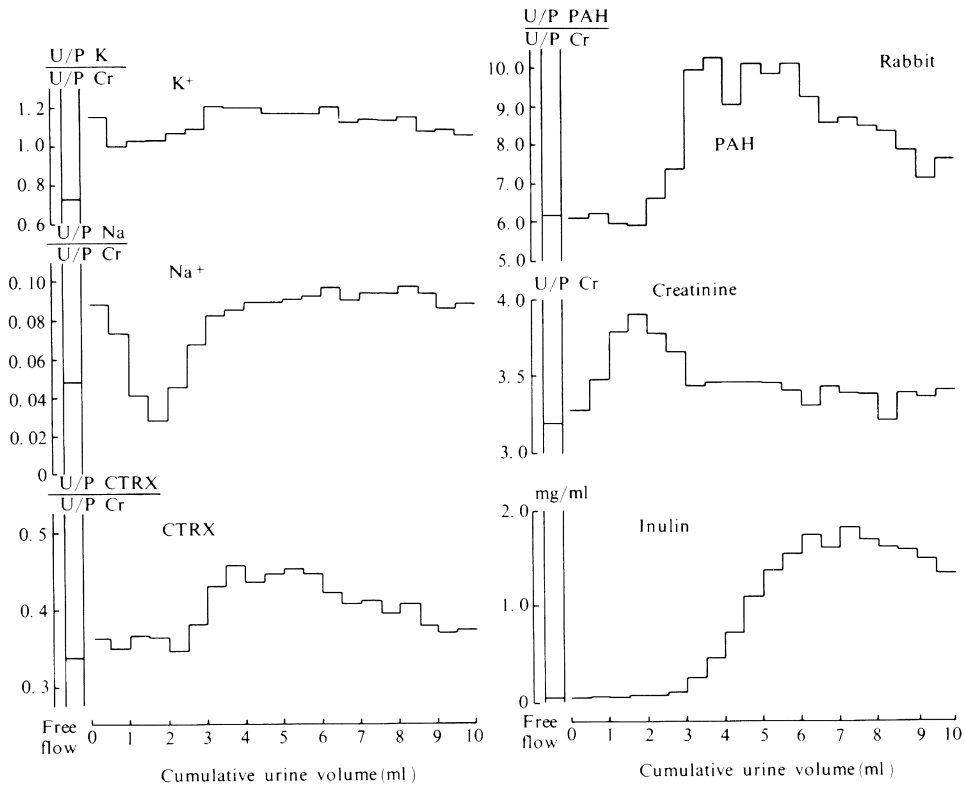
炎光分析法 (Flame Photometer 343, Instrumentation Laboratory) により測定した。

5. Stop-flow 法による実験

1) イヌ

右大腿静脈より priming dose として p-アミノ馬尿酸ナトリウム塩 (PAH) 20 mg/kg (20% 溶液, 0.1 ml/kg) および クレアチニン 100 mg/kg (10% 溶液, 1 ml/kg) を投与し、sustaining 溶液には、15 w/v% マンニトール, 0.9% NaCl, 0.25% クレアチニン, 0.1% PAH, および 0.013% ペントバルビタールを含有する水溶液を用い、0.5 ml/min/kg の速度で定速注入した。次いで、CTR X を priming dose として 10 mg/kg (20% 溶液, 0.05 ml/kg) あて投与した後、上述の sustaining 溶液 1L に CTR X 20% 水溶液 0.833 ml を添加して、定速注入 (0.5 ml/min/kg) した。注入開始約 1 hr 後、排泄尿量がほぼ一定 (3~5 ml/min) になったことを確かめた上で、3 分間ずつ 2 回採尿し、同時に血液 (8 ml) も 2 回採取し、free-flow

Fig. 2 Stop-flow pattern in rabbits



クリアランスを測定した。次いで、輸尿管を止血鉗子ではさみ、尿流を一定時間（5分間）停止させた後、イヌリン 50 mg/kg（5%溶液、1 ml/kg）を静注し、投与1 min後に止血鉗子を開放し、噴出する尿を0.5 mlずつ連続的に30本採取した。

次いでプロベネシドの影響をみるため、尿採取終了1 hr後にプロベネシド 30 mg/kg（6%溶液、0.5 ml/kg）を静注し、その30 min後に上述の方法に従って採尿および採血を行った。

2) ウサギ

ウサギでの実験は以下の3点を除いて、イヌでの実験に準じて行った。(1) free-flowクリアランスを求めるための採血（8 ml）は1回のみ行った。(2) 尿サンプルは、0.5 mlずつ連続的に20本採取した。(3) プロベネシド投与実験は行わなかった。

II. 実験結果

CTRXの腎排泄機序を、イヌおよびウサギを用いた stop-flow法により検討した。近位尿細管分泌の指標とし

てはp-アミノ馬尿酸（PAH）を用い、遠位尿細管再吸収は Na^+ 、 K^+ 濃度を指標とした。イヌリンは尿管解放直前に投与し、糸球体原尿の指標に用いた。さらに、尿および血中のクレアチニン量を測定し、U/P Cr（クレアチニンの尿中濃度対血漿中濃度比）を求め尿濃縮の指標とした。

典型的な stop-flowパターンをFig. 1, 2に示した。図中の縦軸は、各測定物質の濃度のU/P（尿中濃度対血漿中濃度比）をU/P Crで割った値（ $\text{U/P} \div \text{U/P Cr}$ ）を示している。図から明らかのように、イヌでは近位尿細管部位を示すPAHのピーク出現部位にも、遠位尿細管部位を示す Na^+ 、 K^+ 濃度の極小域にも、CTRXのピークは認められなかった。また、プロベネシドを前投与し、近位尿細管分泌を抑制した場合、PAHのピークは消失したが、CTRX濃度には特定の変化はなかった。一方、ウサギでは、近位尿細管部位を示すPAHのピーク部位にCTRXのピークが認められた。

III. 考 察

イヌでは、CTRXはstop-flow法で近位および遠位尿細管部位にピークがなく、フロベネンドの影響もしていない。このことから、少なくともイヌに関しては、CTRXは主として糸球体濾過により排泄されているものと考えられる。抗生物質の1つであるcephaloridine⁹⁾あるいはmoxalactam⁹⁾もイヌでは主として糸球体濾過により排泄されるが、他のセファロスポリン系薬物では尿細管分泌によっても排泄されることが知られている⁷⁾。ウサギを用いたCTRXのstop-flow法による検討結果では、近位尿細管部位にCTRXのピークが認められ、ウサギでは糸球体濾過のみならず近位尿細管分泌によっても本薬物が排泄されており、明らかな種差が認められた。

近位尿細管からの薬物の排泄は、尿のpHにより大きく影響されることは一般に知られている事実である。例えば、抗生物質の1つであるampicillinをNaHCO₃と共にイヌに投与した場合には、この薬物は近位尿細管からも排泄されるが、NH₄Clを用いて尿のpHを酸性側に傾けた場合には、近位尿細管からの排泄は認められなくなる⁸⁾。CTRXの尿細管分泌がウサギにおいて認められたことは、ウサギの尿が通常アルカリ性(pH 8~9)を示すことに起因する可能性も考えられる。

謝 辞

本実験の遂行にあたり、多大なるご助言、ご指導を賜りました東京慈恵会医科大学、名誉教授上田泰先生ならびに嶋田甚五郎博士に深甚なる感謝の意を表します。

文 献

- 1) BESKID, G.; J. G. CHRISTENSON, R. CLEELAND, W. DELORENZO & P. W. TROWN: In vivo activity of ceftriaxone (Ro 13-9904), a new broad-spectrum semisynthetic cephalosporin. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 20 : 159~167, 1981
- 2) SEDDON, M.; A. P. GILLET & R. LIVINGSTON: Pharmacokinetics of Ro 13-9904, a broad-spectrum cephalosporin. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 18 : 240~242, 1980
- 3) 中島光好, 西嶋憲治: Ceftriaxone (Ro 13-9904)の臨床第一相試験. *Chemotherapy* 32(S-7) : 178~196, 1984
- 4) 中村益久, 川畑友二, 安部陽一: 6059-Sのイヌにおける腎排泄機序. *Chemotherapy* 28(S-7), 236~243, 1980
- 5) CHILD, K. J. & M. G. DODDS: Nephron transport and renal tubular effects of cephaloridine in animals. *Br. J. Pharmacol. Chemoth.* 30 : 354~370, 1967
- 6) SHIMADA, J.; T. YAMAH, T. MIYAHARA, Y. UEDA, T. KAWABATA, K. SUGENO, T. YOSHIDA & M. NAKAMURA: Renal disposition of moxalactam in experimental animals as revealed by stop-flow analysis. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 23 : 8~14, 1983
- 7) 上田 泰, 松本文夫, 中村 昇, 斉藤 篤, 野田一雄, 小林千鶴子, 大森雅久: Cephazolinに関する研究. *Chemotherapy* 18 : 564~570, 1970
- 8) WHELTON, A.: Intrarenal antimicrobial distribution modulating factors, therapeutic and toxicologic implications. In "Nephrotoxicity" J. P. Fillastre Ed. Masson Pub. U. S. A. Inc. 1978, pp. 96~126

RENAL EXCRETION OF CEFTRIAZONE (Ro 13-9904),
A NEW CEPHALOSPORIN ANTIBIOTIC IN DOGS AND RABBITS

SHIGEYASU ICHIHARA, YUMIKO TSUYUKI, SACHIKO NAKAYAMA and HIROTOSHI SHIMIZU
Nippon Roche Research Center

Mechanism of renal excretion of ceftriazone (CTRX, Ro 13-9904), a new beta-lactam antibiotic, was investigated in dogs and rabbits using stop-flow analysis.

Both dogs and rabbits were cannulated into the ureter for collection of urine, into the vein for constant infusion of CTRX, inulin and p-aminohippuric acid, and into the artery for blood sampling. The pelvic urine was collected in fractions and the phases of distal tubular excretion (and reabsorption), proximal tubular excretion and glomerular filtration were ascertained by monitoring concentration of Na^+/K^+ ions, p-aminohippuric acid and inulin in each fraction. The concentration of creatinine was monitored as a parameter of urine concentration.

In dogs, no specific peak of CTRX was recognized in the phase of PAH excretion nor in the entire phase of Na^+/K^+ reabsorption. After administration of probenecid (30 mg/kg), the peak of PAH was disappeared while the stop-flow pattern of CTRX remained virtually unchanged. These findings suggested that the renal excretion of CTRX took place mainly through glomerular filtration in this species. In rabbits, however, a specific peak of CTRX was not recognized in the phase of Na^+/K^+ reabsorption but in the phase of PAH excretion, indicating involvement of proximal tubular excretion of CTRX in addition to glomerular filtration.