

## 実験的に惹起した腎及び肝障害ラットにおけるCefpirome sulfateの体内動態—排泄機序との関連—

田端 滋・小川 隆・稲津水穂・林 昌亮

ヘキストジャパン株式会社医薬総合研究所\*

小林寅詰

三菱油化ビーシーエル化学療法研究室

実験的に腎又は肝に障害を惹起せしめたラットにcefpirome sulfate(CPR)を静脈内投与(20 mg/kg)した時の血漿中濃度をbioassay法を用いて測定し、排泄機序との関連性を含めて検討した。

正常ラットにCPRを単独投与した場合と比較して、プロベネシドを併用時の血漿中濃度は対照薬物としたceftazidime(CAZ)と同様に影響をほとんど受けず、本薬が主として糸球体濾過によって体外に排泄される事が示唆された。そこで、選択的に糸球体障害の症状を呈する抗GBM抗体腎炎ラットを作製しCPRを投与したところ、正常時に比べ有意な $C_0$ の上昇(約2.1倍)、 $T_{1/2}$ の延長(約1.8倍)及び $AUC_{\infty}$ の増大(約3.8倍)がCAZの場合と同様に見られた。一方CCI<sub>4</sub>誘発肝障害動物に投与した場合には有意な消失遅延は認められなかった。

以上の結果は、CPRの排泄機序を反映して、その体内動態が糸球体の濾過機能低下を伴う腎炎により影響を受ける可能性がある事を示唆している。

**Key words** : Cefpirome sulfate(CPR), 体内動態, 腎障害, 排泄機序, ラット

Cefpirome sulfate(CPRと略す), (-)-1-[[[(6R, 7R)-7-[(Z)-2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetamido]-2-carboxy-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-yl)methyl]-6, 7-dihydro-5H-1-pyridinium hydroxide inner salt sulfateはドイツ連邦共和国のHoechst社とフランスのRoussel Uclaf社で合成、開発された $\beta$ -lactamaseに対する高い安定性ならびに幅広い抗菌スペクトルを有する新しい注射用の半合成セファロsporin剤であり、*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*を含めグラム陽性菌、グラム陰性菌に対して強い抗菌力を示す<sup>1-3)</sup>。

本薬は、排泄臓器である腎あるいは肝の機能が低下した患者に対しても使用される可能性があることから、今回我々はCPRを実験的に腎又は肝に障害を惹起せしめたラットに静脈内投与した時の体内動態を正常時のそれと比較検討した。ところで、CPRをヒト及び動物に投与した時の体外への薬物排泄は、主に腎を介してなされる事が報告されている<sup>4,5)</sup>が、一般にセファロsporin系抗生物質の腎排泄機序としては糸球体濾過及び有機アニオン輸送系を介した尿管管分泌の経路が関与する事が良く知られている<sup>6,7)</sup>。そこで、本研究ではプロベネシド併用の影響を検討する事により本薬の腎排泄機序を推定すると共に、腎障害動物として慢性糸球体腎炎モデルである

抗GBM抗体腎炎ラットを用いて排泄臓器障害時の体内動態と排泄機序との関連性についても考察した。

### I. 材料と方法

#### 1. 使用薬物

Cefpirome sulfate(CPR)はドイツ連邦共和国 Hoechst社より供与を受けた。また、対照薬物としてceftazidime(CAZ, 日本グラクソ)を使用した。プロベネシドはSigma社製のものを用いた。

#### 2. 実験動物

日本チャールスリバー株式会社より購入した雄性Sprague Dawley系ラット(薬物投与時で7週齢、体重はTable 1に示した)を使用した。動物は $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ の条件下で飼育し、餌料(固形飼料CE-2, 日本クレア株式会社)及び水を自由に摂取させた。

#### 3. 腎及び肝障害ラットの作製

##### 1) 腎障害ラット

著者らが既に報告した方法<sup>8)</sup>に従って、薬物投与2週間前に5週齢ラットに抗ラット糸球体基底膜(GBM)ウサギ血清1 mlを尾静脈内に投与し、さらに翌日にウサギ $\gamma$ -グロブリン(Sigma社)5 mgをFCAと共に皮下投与する事により、慢性糸球体腎炎モデルである抗GBM抗体腎炎ラットを作製した。

##### 2) 肝障害ラット<sup>9)</sup>

\* 〒350 埼玉県川越市南台1-3-2

薬物投与1日前に、25%四塩化炭素(CCl<sub>4</sub>)/オリーブ油溶液を7週齢ラットに経口投与(4 ml/kg)し、CCl<sub>4</sub>誘発急性肝障害ラットを作製した。

### 3) 生化学的検査及び病理学的検査<sup>8)</sup>

腎及び肝障害の程度を確認する為に、血漿中GOT, GPT, Urea N及びcholesterolをオートセラ<sup>®</sup> (第一化学薬品)を用いて、オートアナライザー(日立705型)により測定した。また、尿中タンパクをプロテイン アッセイキット<sup>®</sup> (Bio Rad社)を使用して定量した。creatinine clearance(Ccr)は、山添の方法<sup>10)</sup>に従い、ラットに蒸留水負荷(5 ml/100g)した後得られた尿及び血漿試料中のcreatinine量をオートアナライザー(日立)で測定して求めた。さらに、障害部位の選択性を検討する為に、常法に従い腎及び肝のH-E染色ならびにPAS反応標本を作製し光学顕微鏡で観察した。

### 4. 薬物投与及び血液試料の採取

CPRまたはCAZを蒸留水に溶解後、炭酸ナトリウムでpH6~7に調製し10 mg/mlの投与液とした。これをラットの尾静脈内に2 ml/kgの割合で投与した。プロベネシド併用群では抗生物質投与30 min前にプロベネシドを経口投与(100 mg/kg)した。投与後経時的に尾静脈よりヘパリン処理キャピラリーを用いて50 µlずつ採血した。これを冷生理食塩液250 µlに洗い込み、3000 rpm, 10 min遠心して上澄みを分離し、薬物濃度測定用の試料とした。

### 5. 薬物濃度測定

血液試料上澄み液中のCPRまたはCAZ濃度は、それぞれ*Escherichia coli* ATCC 39188または*Proteus mirabilis* ATCC 21100を検定菌とするbioassay法(ディスク法)を用いて測定した。ここで、上澄み液中濃度の測定値は、希釈倍率を乗じた後ヘマトクリット値で補正する事により、血漿中濃度として表現した。

### 6. Pharmacokinetic parameterの算出

血漿中濃度推移のデータをone compartment modelに従って解析し、C<sub>0</sub>及びT<sub>1/2</sub>を求めた。また、得られた回帰式C=C<sub>0</sub>e<sup>-αt</sup>を積分する事によりAUC<sub>∞</sub>を算出した。

## II. 実験成績

### 1. 正常時の動態及びプロベネシド投与による影響

正常ラットにCPRまたはCAZを単独投与あるいはプロベネシドを併用した時の血漿中濃度推移及びpharmacokinetic parameterをそれぞれFig. 1及びTable 1に示した。

CPRを単独投与した時の血漿中薬物濃度は、T<sub>1/2</sub>: 0.308hrではほぼ一相性に消失し、投与4時間後には検出限界(0.6 µg/ml)以下となった。また、CPRの血漿中濃度推移はプロベネシド併用の影響をほとんど受けず、C<sub>0</sub>, T<sub>1/2</sub>, AUC<sub>∞</sub>共に単独投与時と比べて有意な差は認められなかった。

一方、CPRと同じく腎を主要排泄経路とするCAZ<sup>10,11)</sup>を投与した場合についても同様であり、プロベネシド併用による血漿中濃度の上昇や消失遅延は認められなかった。

### 2. 腎及び肝障害ラットでの動態

糸球体腎炎のモデルとして抗GBM抗体腎炎(GBM腎炎)ラットを、また肝障害モデルとしてCCl<sub>4</sub>肝障害ラットを作製した。その障害の程度はTable 2に示した如くであり、GBM腎炎群では対照群に比べて顕著な血漿中cholesterol及び尿中タンパク含量の増加(それぞれ4.3及び29.4倍)ならびにcreatinine clearance(Ccr)減少(0.6倍)が認められた。さらに病理組織学的検索の結果においても腎糸球体に血管内細胞増殖、フィブリン析出及び上皮細胞内PAS陽性顆粒沈着が観察され、本モデルにおける腎糸球体に選択的な障害の惹起が確認された。またCCl<sub>4</sub>肝障害群においては、著しいGOT及びGPTの上昇(それぞれ11.4及び7.2倍)に特徴付けられる急性肝障害

Table 1. Pharmacokinetic parameters of cefpirome sulfate and ceftazidime after intravenous administration (20 mg/kg) to normal and experimentally induced renal or hepatic injury rats

Drug	Animal model	C <sub>0</sub>	T <sub>1/2</sub>	AUC <sub>∞</sub>
		(µg/ml)	(h)	(µg·h·ml <sup>-1</sup> )
Cefpirome	Normal (CPR alone)	49.7±4.6	0.308±0.027	21.9±2.3
	(with probenecid)	64.0±5.9	0.303±0.020	27.9±2.8
	GBM nephritis	106.2±12.9*	0.567±0.075*	83.2±7.1**
	CCl <sub>4</sub> induced hepatic injury	112.8±22.0	0.383±0.042	59.2±7.5**
Ceftazidime	Normal (CAZ alone)	83.7±10.5	0.386±0.046	45.6±5.4
	(with probenecid)	69.8±6.2	0.337±0.050	32.9±2.7
	GBM nephritis	134.2±31.1	0.576±0.057*	104.0±13.4**

Each value represents the mean ± S.E. (n=4~5).

\* Significantly higher than the value of normal group at p<0.05; \*\* p<0.01.

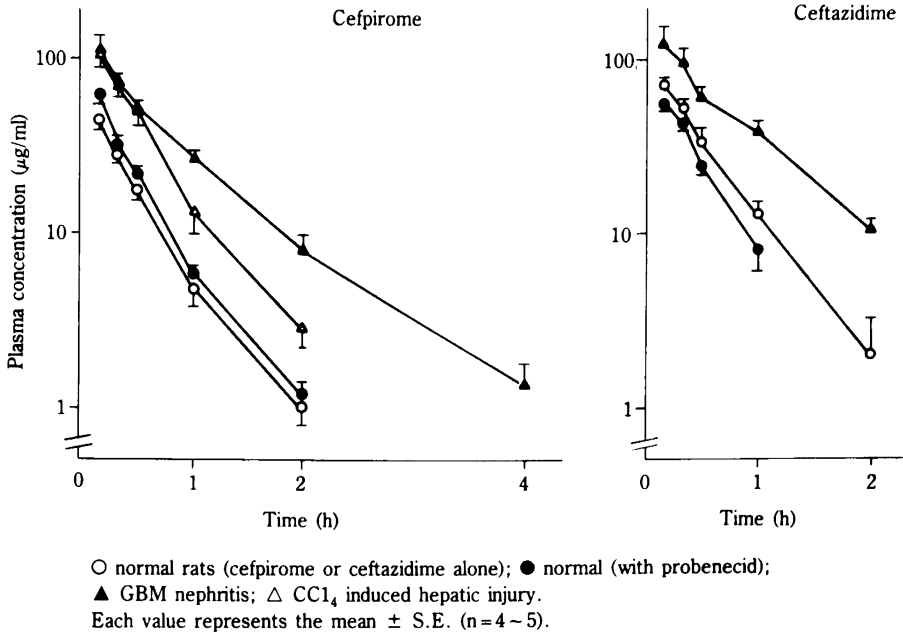


Fig. 1. Plasma levels of cefpirome sulfate and ceftazidime after intravenous administration (20 mg/kg) to normal and experimentally induced renal or hepatic injury rats.

Table 2. Biochemical and histopathological findings in rats with induced renal or hepatic injury

Items		Control	GBM nephritis	CCl <sub>4</sub>
Body weight* (g)		260 ± 3	184 ± 5	235 ± 6
Plasma				
Biochemical data*	GOT (IU/L)	72 ± 3	38 ± 5	822 ± 227
	GPT (IU/L)	26 ± 2	30 ± 3	187 ± 57
	Urea N (mg/dl)	23.9 ± 1.4	30.0 ± 3.0	19.9 ± 1.7
	Cholesterol (mg/dl)	72 ± 3	313 ± 20	63 ± 5
Urine				
	C <sub>cr</sub> (ml/min)	1.55 ± 0.22	0.92 ± 0.11	0.95 ± 0.16
	Protein (mg/80 min)	2.9 ± 0.5	85.2 ± 14.6	2.4 ± 0.5
Kidney				
Glomeruli				
	Cell proliferation	—	± ~ +	—
	Fibrin deposit in Bowman's space	—	± ~ +	—
	PAS-positive granules in glomerular epithelium	—	± ~ +	—
Tubules				
	Degeneration	—	—	—
	Dilatation	—	—	—
	Hyaline casts	—	— ~ ±	—
Interstitialium				
	Inflammation	— ~ ±	—	—
Liver				
Hepatocytes				
	Necrosis	—	—	± ~ +
	Vacuolization	—	—	+
	Fatty changes	—	—	± ~ +

Each value represents the mean ± S.E. (n=4~21).

\* Graded as follows: —, no change; ±, very slight; +, slight; ++, moderate.

が選択的に認められた。

GBM腎炎ラットにCPRを投与後の血漿中濃度は、Fig. 1に示した様に正常時に比べて高レベルを維持し、投与4時間後まで検出された。そのpharmacokinetic parameterを正常時と比較すると、有意な $C_0$ の上昇(約2.1倍)、 $T_{1/2}$ 延長(約1.8倍)及び $AUC_{\infty}$ の増大(約3.8倍)が認められた(Table 1)。

一方、 $CCl_4$ 肝障害群では、血漿中濃度の増大( $C_0$ 及び $AUC_{\infty}$ の増加)が見られたものの、消失の遅延は見られなかった。

また、同様にCAZをGBM腎炎群に投与した場合にも、正常動物に比べて $C_0$ の上昇傾向(約1.6倍)及び有意な $T_{1/2}$ の延長(約1.5倍)ならびに $AUC_{\infty}$ の増大(約2.3倍)が認められた(Fig. 1及びTable 1)。

### Ⅲ. 考 察

セファロsporin系抗生物質の体内動態がその主要な排泄臓器の機能障害によって影響を受ける事例が数多く報告されている<sup>11-15)</sup>。CPRは投与後ほとんど代謝を受けずに主に腎を介して排泄される事<sup>15)</sup>から、その排泄過程における肝の寄与は比較的少なく、一方腎機能障害時にはその動態が大きく変化する事が予測される。

ところで、セファロsporin剤の腎からの排泄機序としては、糸球体濾過の他に有機アニオン輸送系を利用した近位尿細管における能動分泌の関与が良く知られている<sup>6,7)</sup>。また、最近ではcephalexin, cephadrine等の様にアニオン輸送系のみならず有機カチオン輸送系とジペプチド輸送系をも介して輸送される例も見出されている<sup>16,17)</sup>。CPRの体内動態は対照としたCAZの場合とほぼ同様に、有機アニオン輸送系を競合的に阻害するプロベネシド<sup>18,19)</sup>の併用による影響をほとんど受けなかった事から、ラットにおいては尿細管分泌の関与が少ないものと推定される。

そこで、腎障害モデルとして免疫学的機序で慢性糸球体腎炎を発症する抗GBM抗体腎炎ラット<sup>8)</sup>を用いて、CPR及びCAZの体内動態を正常時のそれと比較検討したところ、両薬物共に顕著な血漿中濃度の上昇及び消失遅延が認められた。このモデルでは腎炎の発症を示す血漿中cholesterol及び尿中タンパク量の増加ならびに病理組織学的には選択的な腎糸球体の病変を示し、尿細管の変性を示唆する所見は認められなかった事から、GBM腎炎ラットにおける両薬物の消失遅延は主として糸球体濾過機能の低下に基づくものと考えられる。

これに対して、CPRを $CCl_4$ 肝障害動物に投与した場合には、血漿中濃度の上昇が見られたものの有意な消失遅延は認められなかった。この事は、上述の如くCPRの排泄における肝の寄与が比較的少ない事実と矛盾しない。

以上の結果は、CPRの排泄機序を反映してその体内動態が腎障害時、特に糸球体の濾過機能低下時に影響を受ける可能性がある事を示唆しており、臨床使用に際して慎重な配慮が必要である事を示しているものと思われる。

### 文 献

- 1) JONES R N, THORNSHERRY C, BARRY A L : In vitro evaluation of HR810, a new wide-spectrum aminothiazolyl  $\alpha$ -methoxyimino cephalosporin. *Antimicrob. Agents Chemoth.* 25 : 710~718, 1984
- 2) KOBAYASHI S, ARAI S, HAYASHI S, FUJIMOTO K :  $\beta$ -lactamase stability of cefpirome (HR810), a new cephalosporin with a broad antimicrobial spectrum. *Antimicrob. Agents Chemoth.* 30 : 713~718, 1986
- 3) ARAI S, KOBAYASHI S, HAYASHI S, FUJIMOTO K : In vitro antimicrobial activity of cefpirome, a new cephalosporin with a broad antimicrobial spectrum. *Jap. J. Antibiotics* 40 : 969~982, 1987
- 4) KLESEL N, SEEGER K : Pharmacokinetic properties of the new cephalosporin antibiotic HR810 in animals. *Infection* 11 : 318~321, 1983
- 5) MAAB L, MALERCZYK V, VERHO M : Pharmacokinetics of Cefpirome (HR810), a new Cephalosporin Derivative Administered Intramuscularly and Intravenously to Healthy Volunteers. *Infection* 15 : 207~210, 1987
- 6) KAMIYA A, OKUMURA K, HORI R : Quantitative Investigation on Renal Handling of Drugs in Rabbits, Dogs, and Humans. *J. Pharm. Sci.* 72 : 440~443, 1983
- 7) TAMAI I, TSUJI A, KIN Y : Carrier-Mediated Transport of Cephixime, a New Cephalosporin Antibiotic, Via an Organic Anion Transport System in the Rat Renal Brush-Border Membrane. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 246 : 338~344, 1988
- 8) OGAWA T, INAZU M, OMO SU M, HAYASHI S : Effect of antithrombin III on glomerulonephritis induced by antibasement membrane antibody in rats. *Jap. J. Nephrol.* in press
- 9) RECKNAGEL R O : Carbon Tetrachloride Hepatotoxicity. *Pharmacological Reviews* 19 : 145~199, 1967
- 10) 山添裕康 : ラット腎機能に関する生理学的並びに薬理学的研究(第一報)ーラット腎クリアランス法に関する基礎的研究ー。日薬理誌 61 :

- 436~441, 1965
- 11) 大川光央, 他: 腎不全時におけるCeftazidimeの血漿中濃度および尿中排泄動態の変化について。Chemotherapy 32: 811~818, 1984
  - 12) GENTRY L O: Antimicrobial Activity, Pharmacokinetics, Therapeutic Indications and Adverse Reactions of Ceftazidime. Pharmacotherapy 5: 254~267, 1985
  - 13) BALANT L, DAVY P, AUCKENTHALER R: Clinical Pharmacokinetics of the Third Generation Cephalosporins. Clinical Pharmacokinetics 10: 101~143, 1985
  - 14) 松下 仁, 吉田昌彦, 佐川久美子, 丸中照義, 松島英司, 入村兼司, 川口安朗: Cefodizime sodium (THR-221)の各種実験動物における体内動態。Chemotherapy 36: 187~202, 1988
  - 15) 田端 滋, 新井 進, 林 昌亮: セフェム系抗生物質セフトキシムの体内動態。化学療法の領域 5: 108~117, 1989
  - 16) INUI K, OKANO T, TAKANO M, KITAZAWA S, HORI R: Carrier-mediated transport of amino-cephalosporins by brush border membrane vesicles isolated from rat kidney cortex. Biochem. Pharmacol. 32: 621~626, 1983
  - 17) INUI K, OKANO T, TAKANO M, SAITO H, HORI R: Carrier-mediated transport of cephalexin via the dipeptide transport system in rat renal brush-border membrane vesicles. Biochim. Biophys. Acta 769: 449~451, 1984
  - 18) WALKER W F, HUNTER P B: Oral administration of procaine penicillin with and without benemid *p*-(DI-*n*-propyl-sulphamyl) benzoic acid. Lancet 261: 104~111, 1951
  - 19) HORI R, TAKANO M, OKANO T, KITAZAWA S, INUI K: Mechanisms of *p*-aminohippurate transport by brush-border and basolateral membrane vesicles isolated from rat kidney cortex. Biochim. Biophys. Acta 692: 97~100, 1982

## CEFPIROME SULFATE: PHARMACOKINETICS AND MECHANISM OF EXCRETION IN RATS WITH EXPERIMENTALLY INDUCED RENAL AND HEPATIC INJURIES

SHIGERU TABATA, TAKASHI OGAWA, MIZUHO INAZU and SHORYO HAYASHI

Pharma Research Laboratories, Hoechst Japan, Ltd.,

1-3-2 Minamidai Kawagoe, Saitama 350, Japan

INTETSU KOBAYASHI

Laboratory of Chemotherapy, Mitsubishi Yuka Bio-Chemical Laboratories, Inc., Tokyo

Cefpirome sulfate (CPR) was administered at 20 mg/kg intravenously to rats with experimentally induced renal or hepatic injury, and the pharmacokinetic behavior of the compound was examined in relation to the mechanism of its excretion. The plasma compound levels were determined by bioassay.

In normal rats, the plasma CPR levels after administration with probenecid were not different from those after administration of the compound alone, as were the results with the reference drug, ceftazidime (CAZ). This suggests that CPR is eliminated from the body mainly by glomerular filtration.

Accordingly, the pharmacokinetic parameters of CPR were examined in rats with antiglomerular basement membrane antibody-induced nephritis (showing selective glomerular lesions) and the following findings were obtained: increased  $C_0$  (about 2.1 times), prolonged  $T_{1/2}$  (about 1.8 times), and increased AUC (about 3.8 times) as compared with the values in normal rats. Similar changes in these parameters were observed after CAZ administration. In animals with  $CCl_4$ -induced hepatic injury, no significant delay in elimination was noted after CPR administration. As related to the mechanism of excretion of CPR, these results suggest that its pharmacokinetics may be affected by nephritis accompanied by decreased glomerular filtration.