

「Rapid deconjugation of SN-38 glucuronide and adsorption of released free SN-38 by intestinal microorganisms in rat」

(ラットの腸内細菌叢による SN-38 グルクロン酸抱合体の急速脱抱合と遊離した SN-38 の吸着についての検討)

氏名 高倉 晃

【背景】

カンプトテシン誘導体であるイリノテカン塩酸塩 (CPT-11) はヒトの様々な悪性腫瘍に対する重要な抗腫瘍薬であることが証明されており、様々な癌腫に対して使用されてきた。CPT-11 は時々、予測不能かつ重篤な好中球減少や下痢を引き起こす。遅発性下痢は未だに解明されていない問題で、生命を脅かすほどの脱水や電解質異常を引き起こし、化学療法の中止を余儀なくされることがある。CPT-11 によって引き起こされる遅発性下痢に対する現在の治療戦略としては高用量のロペラミドの投与、漢方や腸管内の β -グルクロニダーゼを阻害する抗菌薬、アルカリ化薬の経口投与による SN-38 と CPT-11 の再吸収の防止、吸着剤である活性炭などの様々な治療法が試みられてきたが、これらの取り組みには限界があった。

【目的】

疎水性活性代謝産物である SN-38 はカルボキシルエステラーゼによる水解によって CPT-11 から産生される。肝臓では uridine diphosphate glucuronosyl transferases (UGTs) によって抱合され、SN-38 グルクロン酸抱合体 (SN-38G) となり、胆汁中に排泄される。SN-38G は不活性代謝産物であり、十二指腸内に排泄される。脱抱合された SN-38 は腸管粘膜に接すると毒性を発揮し、腸内細菌叢の β -グルクロニダーゼによる SN-38G の SN-38 への脱抱合が遅発性下痢の主要因子であると考えられている。CPT-11 の遅発性下痢のメカニズムの解明は重要であるが、我々の知る限り、腸内細菌叢による SN-38G の生体内変化に関する研究は行われていない。今回の研究の目的はラット盲腸内容物の嫌気培養を用いて、SN-38G の生物学的変換を調べることである。

【材料と方法】

試薬：SN-38G と SN-38 は株式会社ヤクルト本社（東京、日本）医薬部品より入手した。カンプトテシンは Sigma（米国セントルイス）より購入した。

動物：ウィスター系雄性ラット 2 匹を使用した。

盲腸内容物：ラットを麻酔下で放血死させた。開腹して盲腸内容物を採取し、5 分以内に嫌気ポーターに移した。2 匹から採取した盲腸内容物 (4 g) は、N₂を噴射した

嫌気 Peptone-Yeast (PY) 培地 40 ml に加えて、約 10 倍希釈した懸濁液を調整した。
培養:嫌気培養のため、N₂を満たされた SN-38G 入りの試験管はきつく栓をし、37 °C
下で 0、1 時間、3 時間、6 時間、24 時間、48 時間、72 時間と培養した。
SN-38G と SN-38 の抽出と高速液体クロマトグラフィー分析について: N₂ 下で 72
時間まで嫌気培養し、SN-38G とその代謝産物である SN-38 を測定した。
SN-38G と SN-38 の濃度は以前記載した全自動オンライン固相抽出による高速液体
クロマトグラフィー (HPLC) 法によって測定した。

【結果】

培地における SN-38G の SN-38 への完全な脱抱合は、培養後 1 時間以内に観察され、添加された SN-38G の 62.7%は上清中に認められた。上清中の SN-38 の約 80.4%は蛋白と結合しており、残りの 19.6%は遊離したままであった。試験管に加えられた SN-38G の内 12.3%だけが ($19.6 \times 62.7\%$ 添加された SN-38G は全て SN-38 に脱抱合されている)、上清中で限外濾過した後も遊離した状態であった。これは培地に添加された SN-38G の約 90%が、沈殿物に吸着したのか、もしくは上清中で蛋白結合した状態であることを示している。SN-38G の残りの 10%は、腸管上皮を損傷する可能性がある非結合状態で存在した。

【考察】

今回の実験において SN-38G の SN-38 への高率な変換が盲腸内容物嫌気培養において起きたことが証明された。SN-38 の高疎水性により、SN-38 のほとんどが沈殿物内で腸内細菌叢と食物繊維に吸着され、もしくは上清内では蛋白と結合していた。さらに SN-38 の 10%だけが、*in vitro* で上清内において蛋白と結合していない状態で見つかった。CPT-11 による遅発性の下痢について、この上清内で遊離している SN-38 を阻害することが治療につながるかもしれない。