

活性メチレン基を有する薬剤の Jaffe 反応への干渉

——物理的除タンパク，化学的除タンパクおよび直接法における相違——

上 条 久 恵*
野 本 昭 三**

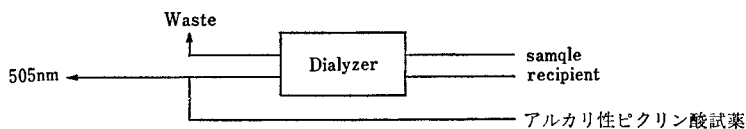
クレアチニンの比色定量法に应用されている Jaffe 反応は元来，活性メチレン化合物とピクリン酸の反応であり，そのため，特異性には問題があるとされ，特に治療薬剤中の活性メチレン基を対象にした報告が多い^{1)~3)}。

今回，われわれは，それらのなかから糖尿病治療薬の Acetohexamide，抗生物質の Cephalothin を取り上げ，in vitro および in vivo で Jaffe 反応への干渉を検討した。

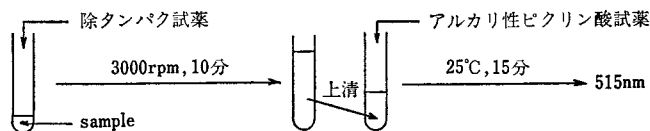
なお，干渉の度合は，除タンパク処理過程など，いわゆる前処理の違いから差が生ずることが予想されたので，物理的除タンパク法として Auto-Analyzer 法を，化学的除タンパク法として Folin-Wu 法を，除タンパクをしない法として Heinegard らの法⁴⁾の渡辺変法⁵⁾を用いて比較した。

I 実験方法

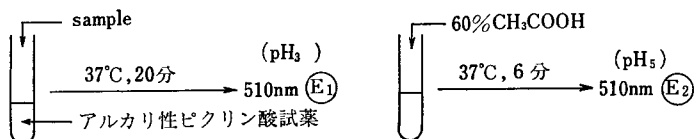
図1 a 物理的除タンパク法 (Auto-Analyze 法)



b 化学的除タンパク法 (Folin-Wu 法)



c 直接法 (Heinegard らの法の渡辺変法)

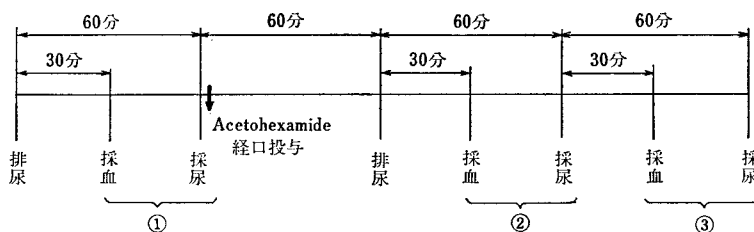


$E_1 - E_2 =$ クレアチニンによる吸収

* 松本医師会検査センター

** 信州大学医療技術短期大学部衛生技術学科

表-1 Acetohexamide 投与前後のクレアチニン・クリアランス (Ccr) のタイムスケジュール



$$Ccr = \frac{UV}{S}$$

U : 尿水クレアチニン濃度 (mg/dl)

V : 1 分間尿量 (ml)

S : 血清中クレアチニン濃度 (mg/dl)

なお, in vitro において血清, 尿, および生食に添加する薬剤の濃度は, 1 回の最大投与量 1000mg が体重 50kg の成人の血液中にすべて移行するものと仮定して計算した量を添加し, 図-1 の 3 つの法によりそれぞれクレアチニン測定の実行を行なって得られた値から原血清, 原尿のクレアチニン量を差し引き, 影響の度合をクレアチニン量 (mg/dl) として表わした。in vivo においては, 健常成人男子 2 名, 女子 1 名に朝食後 Acetohexamide 1000mg を経口投与し, 表-1 に示すように, 投与前, 投与後 1 時間から 2 時間, 2 時間から 3 時間の各 3 回にわたって, クレアチニン・クリアランス試験をおこない, 各試料を図-1 の 3 法で定量分析し, それぞれクリアランス値として比較した。

II 実験結果

in vitro による実験

表-2 に示すように, Acetohexamide, Cephalothin とともに Jaffe 反応に関与してプラス誤差を示すが, Acetohexamide の場合は血清に溶解したものは, 3 法いずれも, 尿に比べてその影響が小さくなっている。一方, Cephalothin は, 血清に溶解したものと尿に溶解したものの間に大きな差が見られず, Acetohexamide と比べると, 呈色度も低い。

表 2 Comparison of the three methods with interference of Active methylene compounds added in vitro

added Active methylene Compounds	methods	Auto-Analyzer (mg/dl)	Direct (mg/dl)	Folin-Wu (mg/dl)
	in to			
Acetohexamide 50mg/dl	Pooled Serum	+0.4	+1.2	+5.2
	Urine 1/20 dilu.	+2.2	+1.8	+9.4
	Seline	2.6	2.1	9.7
Cephalohin 50mg/dl	Pooled Serum	+0.3	+0.2	+0.9
	Urine 1/20 dilu.	+0.8	+0.4	+1.2
	Seline	0.7	0.5	1.0

図2 Reducible Effect of Albumin on the Interference of Acetohexamide with the Jaffe reaction

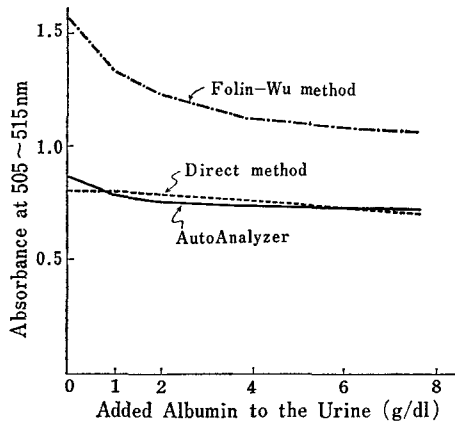
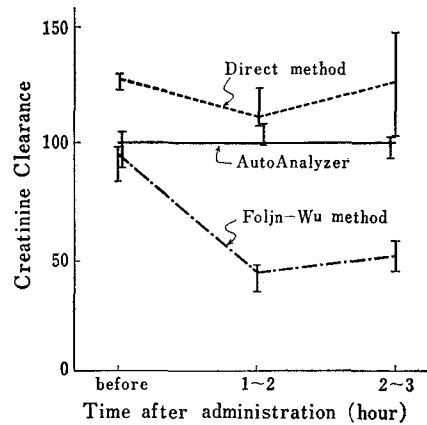


図3 Change of Creatinine Clearance after oral administration of Acetohexamide (creatinine was determined by the three method)



次に、Acetohexamideを尿に溶解したものに、アルブミンを添加してその効果をみたものは、図-2に示すように、3法いずれにもその効果がみられ、特に、Folin-Wu法およびAuto-Analyzer法において、アルブミン添加による干渉除去効果が著明であった。

in vivo による実験

Auto-Analyzer法においては、Acetohexamide投与前後でクレアチニン・クリアランスにほとんど差がなかったため、その平均値を100として他の2法でのクレアチニン・クリアランス値をこれと比較して数値化し、図-3に示した。

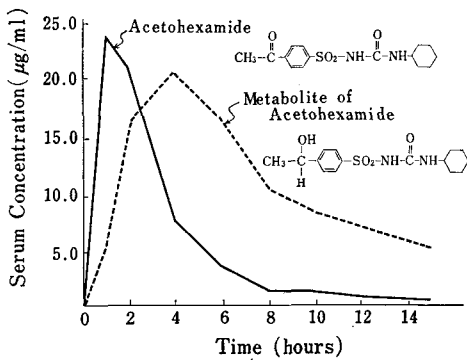
これより、Acetohexamide投与後1-2時間および2-3時間におけるクレアチニン・クリアランスは、投与前に比べ、それぞれ、Folin-Wu法では54%、46%、直接法では13%、1%と低くなっており、その傾向は、投与後1-2時間での干渉がもっとも大きく、2-3時間ではすでに回復の傾向がみられている。

III 考 察

Acetohexamideは、脂溶性の構造式を持ち、アルブミン親和性が高いことが知られており⁶⁾、そのため、表-2に示されたin vitroの実験では、血清中のアルブミンと強く結合して物理的除タンパク法および直接法でJaffe反応への関与が小さくなったと考えられる。これは、図-2に示したアルブミンの効果をみた結果からも推測される。これに対してCephalothinは水溶性であるため、アルブミン親和性が低く、血清に溶解したものと尿に溶解したものであまり差がみられなかったものと考えられる。

このin vitroの実験結果をもとに、クレアチニン・クリアランスに及ぼす影響について考察すると、Acetohexamideを経口投与してクレアチニン・クリアランスを求めた場合は

図4 Disappearance of Acetohexamide from Serums after oral administration of 500mg (by David L. Smith, et al)



みが水溶性となって尿中に排泄されるが、このものは活性メチレン基の部分がすでに不活化されているため、Jaffe 反応には関与し得ず、これに対して、血中に残っているものの大部分ははまだ活性メチレン基を有する形のものであるため、Folin-Wu 法のように血清中に Acetohexamide が存在すると著明なプラス誤差を生ずる分析法による場合には、血清中クレアチニン量が見かけ上大きくなり、クレアチニン・クリアランス値としては著明なマイナス誤差となったものと考えられる。ちなみに、Acetohexamide 投与後の採血は、1回目が投与から1.5時間、2回目が2.5時間で、これを Smith らの報告(図-4)の中にあてはめてみると、1回目の採血時には、未代謝の Acetohexamide の濃度をもっとも高いときに近く、2回目の採血はこれよりいく分低下した時期になっている。

IV まとめ

以上、活性メチレン基を有する薬剤のうち Acetohexamide, Cephalothin を取り上げてこれが投与されている患者の血清中および尿中クレアチニン測定において、物理的除タンパク、化学的除タンパク、除タンパクを省略した直接法の3法がどのような差違を示すかを検討し、以下の結論を得た。

もっとも問題が多いのではないかと予想した直接法では、薬剤のアルブミン親和性が救いとなって比較的問題の少ない結果を得、逆に、従来より標準法のように用いられてきている Folin-Wu 法において薬剤干渉が大きくみられ、化学的除タンパク過程での薬剤のアルブミンからの遊離について考慮すべきであることを学び得た。また物理的除タンパク法としての Auto-Analyzer 法においては、アルブミン親和性の高い薬剤であれば、かなり確実に除去可能であると推測される結果を得た。

薬剤干渉をみる実験として、in vitro によるものは予備実験としては重要であるが、今

いずれの方法で定量分析しても尿中クレアチニン濃度が見かけ上高くなるため、クレアチニン・クリアランス値としては著明なプラス誤差となることが予想されたのであるが、実際の in vivo の実験結果は逆に Folin-Wu 法において著明なマイナス誤差になったことは、当初の研究目的からみて極めて重要なことがらといえる。この予測をくつがえすことになった原因は、Acetohexamide の体内での代謝にもとめることができる。すなわち、Smith らの報告⁸⁾⁹⁾によると、図-4にみられるように Acetohexamide は体内で還元されて Hydroxyhexamide になり⁷⁾、この代謝産物の

回のように *in vitro* と *in vivo* で全く逆の結果を生ずることもあり、結論をだすには必ず *in vivo* によることが必要であることを痛感させられた。

クレアチニン・クリアランスは、尿素クリアランスの場合より食餌性の影響が少ないこと、尿素クリアランスのように尿量の変化をうけないこと、またクレアチニンの定量が容易であることなどの点で尿素クリアランスより臨床的に優れた価値を有しているといわれているだけに、投与薬剤と検査に対する配慮、検査法の選択または改良によるこれら薬剤干渉からの回避が重要である。

文 献

- 1) 林 康之, 他: 薬物代謝と検査成績, 中外医外社, 176~179, 1975.
- 2) 久城英人, 他: Jaffe 反応による血清クレアチニン測定法に関する検討, 臨床病理, 16, 701, 1968.
- 3) Drug Interference with Creatinine Assay. Clin. Chem., 22, 2, 283, 1976.
- 4) Heinegard, D. et al: Clin. Chem. Acta, 43, 305, 1973.
- 5) 渡辺富久子他: 血清クレアチニン直接定量法の検討, 臨床病理, 22, 200, 1974.
- 6) Caraway, W. T. & Kammeyer, C. W.: Chemical interference by drugs and other substances with clinical laboratory test procedure, Clin. Chim. Acta, 41, 395~434, 1972.
- 7) 大森義仁, 織田敏次編: 薬の吸収・排泄, 広川書店, 57, 1969.
- 8) Welles, J.S. et al.: Proc. Soc. ExpH. Med. 107, 583, 1961.
- 9) David L. Smith, et al: Biological Half-lives of the p-Acetylbenzene sulfonylureas, U-18536 and Acetohexamide and Their Metabolites. Metabolism, 14, 3, 229~240,

(1978年12月2日受付)