

咀嚼異常ラットにおける抗菌薬および非ステロイド性
抗炎症薬の薬物動態に関する研究

(Influence on pharmacokinetics of antibacterial drugs and nonsteroidal
anti-inflammatory drugs in masticatory deficiency rats)

柴崎 兼次¹⁾、久保山 昇²⁾

¹⁾ 日本大学大学院松戸歯学研究科歯学専攻

²⁾ 日本大学松戸歯学部口腔科学研究所

(指導 : 前田 隆秀 教授)

表題：咀嚼異常ラットにおける抗菌薬および非ステロイド性抗炎症薬の薬物動態に関する研究

著者名：柴崎 兼次¹⁾、久保山 昇²⁾

所属機関：

¹ 日本大学松戸歯学部小児歯科学講座

² 日本大学松戸歯学部口腔科学研究所

Corresponding author: 久保山 昇

日本大学松戸歯学部口腔科学研究所

住所: 〒271-8587

千葉県松戸市栄町西 2-870-1

日本大学松戸歯学部口腔科学研究所

(Research Institute of Oral Science, Nihon University School of Dentistry at Matsudo,
2-870-1, Sakaecho-Nishi, Matsudo, Chiba 271-8587, Japan)

電話番号: 047-360-9476

Fax 番号: 047-360-9476

E-mail: kuboyama.noboru@nihon-u.ac.jp

日本大学松戸歯学部小児歯科学講座

(主任：前田 隆秀教授)

Department of Pediatric Dentistry, Nihon University School of Dentistry at Matsudo, 2-870-1
Sakaecho-Nishi Matsudo, Chiba, 271-8587 Japan

Telephone: 047-360-9427

Telefax :047-360-9429

E-mail: maeda.takahide@nihon-u.ac.jp

要旨：咀嚼機能低下時の薬物動態に関する報告は極めて少ないことから、咀嚼機能を低下させる目的で実験的無歯顎ラットを泥状飼料で飼育し、抗菌薬として Bacampicillin (BAPC)、Cefaclor (CCL)、非ステロイド性抗炎症薬として Acetylsalicylic acid (ASA)、Indomethacin (IDM)の薬物動態を検討した。

【方法】 Wistar 系雄性ラット 5 週齢を、1 群 5 匹とし 8 群に分け、実験開始 1 週間後に上、下顎大白歯を抜歯し、抜歯後実験期間を 10 週間とした。飼料は、第 1～4 群は固形飼料(Solid 群)、第 5～8 群は泥状飼料(Mud 群、固形飼料：水＝1：1) を用いた。飼育終了後、Solid 群、Mud 群にそれぞれ、BAPC、CCL、ASA20mg/kg、IDM 10mg/kg を経口投与した。血漿中 BAPC、CCL の定量は、*Micrococcus luteus* ATCC 9341 株を検定菌とし薄層 paper disc 法で、血漿中 ASA、IDM は High-performance Liquid Chromatography (HPLC)により定量した。

【結果】 ①BAPC：最高血漿中濃度 (Cmax) は Solid 群で 5.34 $\mu\text{g/ml}$ 、Mud 群は 6.85 $\mu\text{g/ml}$ 、最高血漿中濃度到達時間 (Tmax) は 23.3 min、37.5 min とそれぞれ有意の差を示した。Solid 群および Mud 群の血漿中濃度曲線下面積 (AUC) はそれぞれ 10.4 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ 、14.5 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ を示した。②CCL：Cmax は Solid 群 5.44 $\mu\text{g/ml}$ 、Mud 群 7.17 $\mu\text{g/ml}$ 、Tmax は 44.4 min、51.0 min とそれぞれ有意の差を示した。一次吸収速度定数 (k_a) 値は、1.59 hr^{-1} 、1.51 hr^{-1} 、一次消失速度定数 (k_e) 値は、1.14 hr^{-1} 、0.69 hr^{-1} を示した。③ASA：Cmax、Tmax、AUC、生物学的半減期 ($t_{1/2}$) は Mud 群の方が高値を示したが、有意の差は認められなかった。④IDM：ASA 同様に Mud 群で高値を示した。以上の成績より、実験的咀嚼異常ラット (Mud 群) は対照 (Solid 群) と比較すると、本研究で用いた薬物の内、抗菌薬に関しては、Cmax、Tmax、AUC および $t_{1/2}$ では有意に高値を示した。一方、非ステロイド性抗炎症薬に関しては、血中濃度が高く維持される傾向が認められた。従って、咀嚼機能低下を引き起こすと、抗菌薬および非ステロイド性抗炎症薬は血中の消失速度が低下し、長く生体内に停滞することを明らかにした。

キーワード：咀嚼異常ラット、抗菌薬、非ステロイド性抗炎症薬、薬物動態、若年ラット

緒言

ヒトを含め動物の咀嚼器官である咀嚼筋や顎骨、歯・歯周組織の形態は、遺伝的ならびに環境的な影響を受けている。特に環境的な影響として、飼料の形状（固形・粉末）に関して、動物実験で粉末あるいは泥状飼料は固形飼料にくらべ咀嚼筋の発達や顎骨の成長を低下させることが報告されている¹⁻⁸⁾。また、近年、食物の軟食化が進み、軟らかい食品の摂取過多、食事時間の短縮、および安易な健康補助食品や栄養剤などの多用は、咀嚼回数の減少と咀嚼能力・口腔機能の低下を引き起こし、歯列不正や顎変形症、顎関節症発生にも関与している可能性がある⁹⁾。

特に、発育過程にある小児では、咀嚼回数の減少は、肥満、脳内循環血流量の低下、記憶・学習能力の低下、顎骨形態の異常など、様々な影響を及ぼすことが報告されている⁹⁻¹³⁾。咀嚼運動は、全身の機能を活性化する重要な役割を担っており、その亢進は、唾液分泌の促進による健康の保持、消化液・ホルモン分泌の促進による消化促進や食欲調節、摂食時の刺激が肥満中枢を刺激し、肥満の軽減や予防、脳内血流量の増加や大脳皮質の活性化、食後体温の上昇など、単に口腔内における直接的な消化作用のみならず、生命の維持にきわめて重要な役割を担っている¹⁴⁻¹⁹⁾。

一方、我々は発育期ラットを用い、咀嚼機能を低下させる目的で軟質飼料を与え、抜歯により実験的咀嚼異常ラットを作製し、消化器系機能の生理的変化を検討した結果、実験的咀嚼異常ラットで胃酸 pH の上昇、胃酸分泌量およびペプシン活性の低下、胃内容物排出速度および小腸輸送能を有意に低下することを明らかにした²⁰⁾。人口構成の高齢化に伴って、加齢に伴う生理機能の低下による薬物動態の変化に関する研究は、数多く報告²¹⁻²⁴⁾されているが、若年者の咀嚼機能低下による薬物動態の報告は極めて少ない。小児歯科領域では、抗菌薬ならびに非ステロイド性抗炎症薬は日常臨床で繁用されている。そこで、小児期（若年期）の咀嚼機能の低下に対する薬物動態を検討することは、臨床上、極めて重要である。近年、医薬品に対する安全性の確保と適正使用が強く求められるようになり、安全で効果的な医薬品の使用には確かなエビデンスが必要である。

本研究では、咀嚼機能低下させる目的で、発育期ラットの臼歯を抜歯して長期間泥状飼料で飼育した実験的咀嚼異常ラットを作製した。この病態モデルに歯科領域で繁用されている抗菌薬、および非ステロイド性抗炎症薬を経口投与して、正常群（固形飼料）と薬物動態パラメータに関して比較検討した。

実験材料および方法

① 実験動物

実験動物は、Wistar 系雄性ラット 4 週齢 (SPF、静岡実験動物) を使用した。飼育は室温 $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $60\pm 10\%$ 、12 時間ごとの明暗サイクルの環境下で行った。飼料は固形飼料 (MF[®]、オリエンタル酵母工業株式会社) を、飲料水は濾過水道水をそれぞれ自由摂取させた。1 週間予備飼育した後、一般状態の観察および体重測定を行い順調に発育した体重 $51.6\pm 7.1\text{ g}$ の動物を使用した。なお、本実験は日本大学松戸歯学部実験動物倫理委員会の承認 (承認番号 08-0004) を得、日本大学松戸歯学部実験動物指針に基づいて行った。

② 使用薬物および使用機器

抗菌薬のバカンピシリン塩酸塩 (Bacampicillin Hydrochloride、以下BAPCと略)、Cefaclor (以下CCLと略)、非ステロイド性抗炎症薬のAcetylsalicylic acid (以下ASAと略)、Indomethacin (以下IDMと略)、その他のすべての試薬はSigma-Aldrich社製を用いた。ASA およびIDMの血漿中濃度は、高速液体クロマトグラフィー (High-performance Liquid Chromatography、以下HPLCと略) 法で行い、使用機器は、日立655p HPLC用ポンプ、日立638-41型波長可変UVモニター、および分析用カラムは両薬物ともに μ Bondapak C18 (Waters社製、米国) を使用した。



図1

③ 実験方法

Wistar系雄性ラット5 週齢を、1群5匹とし8群に分けた。飼料として、第 1~4 群は固形飼料 (Solid群)、第 5~8 群は固形飼料とまったく同一の成分からなる粉末飼料 1に対して蒸留水 1 を加えた泥状飼料で飼育し、さらに実験開始 1 週間後に上顎と下顎大臼歯をネンブター麻酔下で抜歯した群を実験的咀嚼異常ラット (Mud群) とした。実験期間を10週間とし、12時間絶食後にSolid群およびMud群に、それぞれ抗菌薬のBAPC、CCLは 20mg/kg 、非ステロイド性抗炎症薬のASAは 20mg/kg 、IDMは 10mg/kg の用量でラット 100g 当たり 1ml の溶液に調製して経口投与した。薬物投与後、経時的に15、30、45分、1、1.5、2、3、6、12、24時間に頸静脈より採血し、血液はヘパリン処理後ただちに遠心分離 ($3,000\text{ rpm}$ 、10分間) し、血漿試料を得た (図 1)。

血漿中 BAPC、CCL の定量法は、BAPC は経口投与後、小腸粘膜で加水分解され全て Ampicillin (ABPC) となるので血漿中濃度は ABPC として定量した。両薬物ともに、検定菌は *Micrococcus luteus* ATCC 9341 株、検定用培地は Bacto-Penassay Seed Agar を用いた薄層 paper disc 法で行った²⁵⁻²⁶⁾。また、各試料および Standard ABPC、CCL は $50\mu\text{l}$ を薄層プレート上のペーパーディスクに滴下し、好氣的に 30°C 、18hr 培養し、発育阻止円の直径を計測した。血漿検体の薬物濃度測定における標準曲線はラットの正常血漿を用いて作成した。

血漿中 ASA および IDM の抽出方法は、血漿 0.1ml に 0.3M 過塩素酸 1ml を加えて除蛋白した後、ASA は pH を調整して内部標準物質 (p-toluic acid) を加えて蒸発乾固し、移動相を加えて HPLC の試料とした。IDM は 0.3 M 過塩素酸 1 ml で除蛋白した後、エーテル 6ml とともに振盪し、 $1,725\times\text{g}$ で 5 分間遠心分離後エーテル層を分取した。エーテル層は 0.2 M リン酸緩衝生理食塩液と混和させ、 $1,725\times\text{g}$ で 5 分間遠心分離した。得られ

たエーテル層に内部標準物質 (mefenamic acid) を加えて 40°C窒素ガス気流下で乾固し、移動相を加えて HPLC の試料とした²⁷⁻²⁹⁾。経口投与された ASA は、主に肝臓のエステラーゼにより、加水分解 (脱アセチル化) され、サリチル酸になることから、ラット血漿においてはサリチル酸のみを測定し、ASA の薬物動態として検討した³⁰⁻³²⁾ (図 2)。

ラット血漿中ASA およびIDMの定量はHPLCで行い、使用したカラムは両薬物ともに μ BondapakC18カラム、移動相はASAで0.1% phosphoric acid:acetonitril=70:30、IDM は0.1M acetic acid:acetonitrile=30:70の混合液を使用した。移動相の流速は、毎分 1 mlとし、検出波長はASA 237.0 nm、IDM 254.0 nmとした。なお、血漿0.1ml にinternal standard として、ASA はp-toluic acid、IDM はmefenamic acidを加えたものをエーテルで抽出し、HPLCで定量した (図 3)。

各薬物の薬物速度論定数は、personal computer (Microsoft Excel, version 97) を用い、血漿中BAPC、CCLおよびASA濃度推移はone-compartment open model、IDMはtwo-compartment open modelでそれぞれ解析し、薬物動態パラメータを求めた。薬物動態パラメータは最高血漿中濃度 (Cmax)、最高血漿中濃度到達時間 (Tmax)、一次吸収速度定数 (Ka)、一次消失速度定数 (Ke)、生物学的半減期 ($t_{1/2}$)、血漿中濃度曲線下面積 (AUC) を算出した。また、薬物動態パラメータのうち、CmaxとTmaxは実測値も採用した。なお、Ke値は $t_{1/2}$ で0.693 を割った値である。

④ 統計学的処理

実験結果は、平均値 \pm 標準偏差 (Mean \pm SD) で表した。Solid 群および Mud 群の薬物動態パラメータの差を評価するため、Cmax、Tmax、Ka、Ke、 $t_{1/2}$ および AUC について、等分散を仮定した 2 標本による t-検定を行った。危険率 5 % ($p<0.05$) 未満を統計学的に有意な変化として判定した。

図 2, 3

結 果

体重の推移は Solid 群と比較して、Mud 群は抜歯後約 1 週間体重の増加は認められなかった。その後、成長発育とともに体重増加が認められ、実験終了時の Solid 群の体重は 222.1 ± 27.3 g に対して、Mud 群は 201.4 ± 31.8 g で軽度な体重減少が認められた。

(1) BAPC の薬物動態

BAPC 20mg/kg を経口投与した時、平均血漿中 ABPC 濃度推移の実測値を図 4 に示した。BAPC の C_{max} は、Solid 群で $5.7 \mu\text{g/ml}$ 、Mud 群で $7.4 \mu\text{g/ml}$ で Mud 群の方が有意 ($p < 0.01$) に高値を示した。その時の T_{max} は、Solid 群で 30 min、Mud 群で 45 min を示した。BAPC の実測値を基に one-compartment model より BAPC の薬物動態パラメータを表 1 に示した。算出されたパラメータから C_{max} は Solid 群および Mud 群それぞれ $5.34 \pm 0.85 \mu\text{g/ml}$ 、 $6.85 \pm 1.21 \mu\text{g/ml}$ ($p < 0.01$) であった。 T_{max} は、それぞれ 23.3 ± 3.5 min、 37.5 ± 5.4 min ($p < 0.001$) を示した。 AUC_{0-6} に関しては、Solid 群に比較して Mud 群は約 40% の有意 ($p < 0.01$) な増加が認められた。薬物の排泄に参与する K_e 値は、Solid 群で $0.86 \pm 0.11 \text{ hr}^{-1}$ 、Mud 群で $0.67 \pm 0.09 \text{ hr}^{-1}$ を示し、Mud 群は有意 ($p < 0.01$) に低値を示した。 $t_{1/2}$ は Solid 群および Mud 群それぞれ 54.3 ± 8.4 min、 68.5 ± 6.0 min ($p < 0.01$) で、Solid 群と比較して Mud 群は $t_{1/2}$ が延長し、その結果 BAPC は長く体内に貯留した

図4

(2) CCL の薬物動態

CCL 20mg/kg を経口投与した時、平均血漿中 CCL 濃度推移の実測値を図 5 に示した。 C_{max} は、Solid 群で $5.66 \mu\text{g/ml}$ 、Mud 群で $7.52 \mu\text{g/ml}$ であった。その時の T_{max} は Solid 群 30 min、Mud 群で 45 min を示した。CCL の薬物動態パラメータ (one-compartment model) を表 1 に示した。 C_{max} は Solid 群および Mud 群それぞれ $5.44 \pm 0.58 \mu\text{g/ml}$ 、 $7.17 \pm 0.86 \mu\text{g/ml}$ ($p < 0.01$) であった。 T_{max} は、それぞれ 44.4 ± 5.7 min、 51.0 ± 3.8 min ($p < 0.05$) を示した。 AUC_{0-6} は、それぞれ $11.15 \pm 2.24 \mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ 、 $15.19 \pm 3.17 \mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ を示し、Mud 群で有意 ($p < 0.01$) な増加が認められた。 k_a 値および K_e 値は、Solid 群と比較して Mud 群はいずれも低値を示した。 $t_{1/2}$ は Solid 群および Mud 群それぞれ 36.6 ± 4.8 min、 57.6 ± 8.4 min ($p < 0.001$) で、Mud 群は BAPC 同様に CCL も体内に長時間貯留した。

図5, 表1

(3) ASA の薬物動態

ASA 20 mg/kg を経口投与した時、サリチル酸の血中濃度の実測値を図 6 に示した。 C_{max} は Mud 群の方が高値を示したが、有意の差は認められなかった。その時の T_{max} は、両群とも 30 min に認められた。また、両群とも 12 時間経過しても $50 \mu\text{g/ml}$ 以上の高い血中濃度が維持された。ASA の薬物動態パラメータ (one-compartment model) を表 2 に示した。ASA の C_{max} は、Solid 群および Mud 群それぞれ $86.6 \pm 9.5 \mu\text{g/ml}$ 、 $100.4 \pm 22.3 \mu\text{g/ml}$ で、有意の差は認められなかった。その時の T_{max} は、それぞれ 21.9 ± 4.9 min、 26.3 ± 5.4 min を示した。 AUC_{0-24} はそれぞれ $1062 \pm 145 \mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ 、 $1270 \pm 279 \mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ で Mud 群が増加傾向を示したが、有意の差は認められなかった。また、 $t_{1/2}$ も同様に Solid 群と比較して Mud 群がわずかに延長傾向を示した。なお、両群の全ての薬物動態パラメータには、有意の差は認められなかった。

図 6

(4) IDM の薬物動態

IDM 10mg/kg を経口投与した時、IDM の血中濃度の実測値を図 7 に示した。 C_{max} は

それぞれ $85.6 \pm 10.1 \mu\text{g/ml}$ 、 $91.3 \pm 13.2 \mu\text{g/ml}$ を示し、Mud 群の方が高値を示したが、有意の差は認められなかった。その時の T_{max} は、両群とも 15 min に認められた。IDM の体内動態の解析は、two-compartment model を用いて行い、各パラメータを算出した結果を表 2 に示した。IDM の C_{max} は、Solid 群および Mud 群それぞれ $77.6 \pm 10.7 \mu\text{g/ml}$ 、 $80.8 \pm 8.5 \mu\text{g/ml}$ を示した。 T_{max} は、それぞれ $10.3 \pm 1.2 \text{ min}$ 、 $10.6 \pm 2.4 \text{ min}$ で有意の差は認められなかった。 AUC_{0-12} はそれぞれ $333.1 \pm 63.4 \mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ 、 $414.5 \pm 71.5 \mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ で Mud 群が増加傾向を示したが、有意な変化は見られなかった。また、 $t_{1/2}$ は Solid 群および Mud 群それぞれ $1.84 \pm 0.38 \text{ hr}$ 、 $2.23 \pm 0.20 \text{ hr}$ を示し、Mud 群で有意 ($p < 0.05$) な増加傾向が認められた。従って、 $t_{1/2}$ 以外は両群の薬物動態パラメータには、有意の差は認められなかった。




図 7, 表 2

考 察

実験的咀嚼異常ラット (Mud 群) は、咀嚼障害に伴い消化器系機能など生理機能の低下により、正常固形飼料 (Solid 群) とは異なる薬物動態を示す可能性が示唆される。そこで、本研究では、Solid 群および Mud 群に抗菌薬として BAPC、CCL、非ステロイド性抗炎症薬として ASA、IDM を 12 時間絶食後に経口投与して、薬物動態を比較検討した。

(1) BAPC の薬物動態

BAPC 20mg/kg を経口投与した時、算出されたパラメータから C_{max} は Solid 群および Mud 群それぞれ $5.34 \pm 0.85 \mu\text{g/ml}$ 、 $6.85 \pm 1.21 \mu\text{g/ml}$ で、その時の T_{max} はそれぞれ $23.3 \pm 3.5 \text{ min}$ 、 $37.5 \pm 5.4 \text{ min}$ と有意の差を示した。 AUC_{0-6} は、それぞれ $10.4 \pm 1.5 \mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ 、 $14.5 \pm 2.4 \mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ で、Solid 群に比較して Mud 群は約 40% の有意 ($p < 0.01$) な増加が認められ、 $t_{1/2}$ も Mud 群が有意な延長が認められた。一次消失速度定数 (K_e) は、それぞれ $0.86 \pm 0.11 \text{ hr}^{-1}$ 、 $0.67 \pm 0.09 \text{ hr}^{-1}$ で、血中からの消失速度が低下し、その結果 Solid 群に比較して Mud 群の BAPC は長く体内に貯留した (表 1)。

BAPC は酸に安定で脂溶性が高く、腸管からの吸収は良好である。BAPC 250 mg を健康成人に空腹時に経口投与すると、 C_{max} $6.3 \mu\text{g/ml}$ 、 T_{max} 60 min で、6 時間後では $0.2 \mu\text{g/ml}$ の値を示した。小児 (4~12 歳) に BAPC 10 mg/kg および 20 mg/kg を空腹時に経口投与した場合、 C_{max} はそれぞれ $7.02 \mu\text{g/ml}$ 、 $12.18 \mu\text{g/ml}$ 、 T_{max} は 60 min、45.6 min、 AUC は $14.67 \mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ 、 $23.26 \mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ で、両群の間に用量依存性が認められた。また、 $t_{1/2}$ はそれぞれ 45.23 min、61.16 min を示し³³⁾、今回のラットの実験結果とほぼ同じ値を示した。

(2) CCL の薬物動態

CCL 20mg/kg を経口投与した時、 C_{max} は Solid 群および Mud 群それぞれ $5.44 \pm 0.58 \mu\text{g/ml}$ 、 $7.17 \pm 0.86 \mu\text{g/ml}$ であった。 T_{max} は、それぞれ $44.4 \pm 5.7 \text{ min}$ 、 $51.0 \pm 3.8 \text{ min}$ を示した。 AUC_{0-6} は、Solid 群に比較して Mud 群は約 40% の有意 ($p < 0.01$) な増加が認められた。 $t_{1/2}$ は Solid 群および Mud 群それぞれ $36.6 \pm 4.8 \text{ min}$ 、 $57.6 \pm 8.4 \text{ min}$ ($p < 0.001$) であった。また、 K_e 値は、Solid 群と比較して Mud 群はいずれも低値を示し、Mud 群は BAPC 同様に CCL も体内に長時間貯留した (表 1)。

CCL 250mg を健康成人に経口投与して、得られた薬物動態パラメータは、 C_{max} $7.97 \mu\text{g/ml}$ 、 T_{max} 42.0 min、 $t_{1/2}$ 35.4 min、 AUC_{0-6} $9.68 \mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ である。CCL 細粒小児用 100mg を小児に経口投与して血中濃度を測定した結果、 C_{max} $8.04 \mu\text{g/ml}$ 、 T_{max} 41.4 min、 $t_{1/2}$ 58.2 min、 AUC_{0-6} $11.1 \mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ を示し³⁴⁻³⁶⁾、今回のラットの実験結果と比較しても、ほぼ同様な結果を示した。

咀嚼機能障害に伴い消化器系機能に対して何らかの生理的变化が推測され、これらの変化が薬物動態に対して影響を与えている可能性に対して、すでに我々は、実験的咀嚼異常ラットの消化器系機能の生理的变化を検討する目的で、幽門結紮により胃酸分泌機能を、胃内容物排出速度および小腸輸送能を測定した結果、胃液量、酸分泌量およびペプシン分泌量は、若年の Mud 群で有意な低下を示した²⁰⁾。また、胃内容物排出速度および小腸輸送能は、若年の Mud 群で有意の差で低下を示し、Mud 群では消化管系の機能・運動能の低下することを明らかにした²⁰⁾。今回、5 週齢のラットに軟食飼料および抜歯を施し 10 週間、咀嚼機能障害を人為的に引き起こした。5 週齢のラットはヒトの学童期に相当し、実験期間 10 週間でラットは 15 週齢になりヒトの約 20 歳前後に相当する。学童期の歯の喪失は、咀嚼機能障害および消化器系機能への影響を増大することが示唆される。

薬物吸収の多くは小腸からであり、薬物吸収速度は胃から小腸に移行する速度に大きく依存する。胃内容物排出速度が小さいとき、一般的に薬物吸収は遅れ、ゆっくり吸収部位に移動することで吸収が促進することが確認されている。今回の実験結果から、BAPC およびCCLを経口投与した時、正常固形飼料（Solid群）に比較して実験的咀嚼異常ラット（Mud 群）では、薬物の吸収の遅延と、血中濃度が高く維持され、血中からの薬物の消失速度が低下し、 $t_{1/2}$ の延長と、AUCの増加が認められた。薬物が長く生体内に停滞した理由は、Mud 群で胃内容物排出速度および小腸輸送能が、有意の差で低下し、このために両薬物ともに長時間腸管内に貯留したことが原因であることが示唆される。

一方、高齢者は胃内容物排出速度および腸管運動の減少、胃腸管における吸収面積の減少、小腸血流量の減少によって薬物の吸収が遅延することが報告されている³⁷⁻³⁸⁾。高齢者は、胃酸分泌能の低下により胃液のpH は上昇して弱酸性に傾いており、ペニシリン系抗菌薬は、その生物学的活性および吸収が促進することが確認されている。また、高齢者における経口抗菌薬の体内動態については、 C_{max} は、成人での各薬物の C_{max} とあまり大きな変化は認められないが、 $t_{1/2}$ の延長とAUCの増大および尿中排泄率の低下が認められている^{37) 39-40)}。Mud 群の消化器系機能・運動は、高齢者に類似しており、薬物動態も高齢者と同様な傾向を示したことが推察される。従って、抗菌薬の投与量は、若年者で咀嚼機能障害者においても健常者と基本的には同等と考えられるが、副作用に対してはより慎重でなければならない。事実、胃内容物排泄時間を遅らせる目的で、あらかじめ抗コリン薬のプロパンテリンを投与すると、ジアゼパム吸収速度が大幅に遅延し、AUCの増大が報告されている⁴¹⁾。

咀嚼機能障害に伴う消化器系機能との関係では、発育期ラットを用い、咀嚼機能を低下させる目的で軟食飼料で飼育したラットでは、耳下腺が障害され、唾液中のアミラーゼ含有量の減少が認められた⁴²⁻⁴⁴⁾。また、軟食飼料群は、唾液中の上皮成長因子の作用が抑制され、胃酸分泌と食欲調節の異常が確認されている⁴²⁻⁴⁵⁾。歯は、咀嚼システムの末梢効果器の鋭敏な感覚器で、その感覚入力は脳機能に影響を及ぼす。臼歯を抜去した動物実験では、記憶保持・再生能の有意な低下、受動回避再生試行の反応潜時の有意な短縮、海馬と線条体のドーパミン含有量や海馬のグルタミン酸量の有意な減少などが報告されている⁴⁶⁻⁴⁷⁾。また、若年期の歯の喪失による咀嚼感覚の減少は、脳内ドーパミン神経系を変化させ、早期の空間認知能力の低下を招き、条件回避・迷路学習成績など海馬の老化を促進させることが示唆される⁴⁸⁻⁴⁹⁾。従って、幼若期の歯の喪失は、学習・記憶障害などの高次脳機能への影響を増大することが示唆される。実際に、幼稚園児の咀嚼能力と知能指数や短期記憶能力との間に有意な正の相関が確認されている⁵⁰⁻⁵¹⁾。

(3) ASA の薬物動態

ASA 20mg/kg を経口投与した時、サリチル酸の血中濃度より、ASA の薬物動態を解析した。ASA の C_{max} は、Mud 群が高値を示したが、有意の差は認められなかった。その時の T_{max} 、 AUC_{0-24} および $t_{1/2}$ も Mud 群が増加傾向を示したが、有意の差は認められなかった（表2）。Mud 群では胃内 pH の上昇傾向が認められ、また、胃排出時間も延長する傾向が報告されており²⁰⁾、 T_{max} が Solid 群より遅れることが示唆される。

(4) IDM の薬物動態

ASA 同様に IDM 10mg/kg を経口投与した時、Solid群およびMud 群の C_{max} 、 T_{max} および AUC_{0-12} は、それぞれ両群の間には統計的有意差は認められなかったが、Mud 群で増加傾向を示した。ASA および IDM とともに、 C_{max} 、その時の T_{max} 、 AUC_{0-24} および $t_{1/2}$

も Mud 群が増加傾向を示したが、有意の差は認められなかった（表 2）。これは、ASA および IDM とともに Tmax が非常に早いために⁵²⁾、胃内容物排出速度および小腸輸送能の影響を受ける前に吸収されてしまった結果、有意の差が認められなかったことが推察される。

以上の成績より、実験的咀嚼異常ラット（Mud 群）は正常固形飼料（Solid 群）と比較すると、抗菌薬に関しては、Cmax、Tmax、AUC および t_{1/2} では有意に高値を示した。一方、非ステロイド性抗炎症薬に関しては、血中濃度が高く維持される傾向が認められた。従って、咀嚼機能低下を引き起こすと、抗菌薬および非ステロイド性抗炎症薬は血中の消失速度が低下し、長く生体内に停滞することを明らかにした。

1) 結 論

幼若期の咀嚼機能低下に伴う消化器系機能低下が、どのように薬物動態に影響するか検討した。薬物の吸収に関しては、対照群（Solid 群）に比較して実験的咀嚼異常ラット（Mud 群）では、抗菌薬および非ステロイド性抗炎症薬ともに薬物吸収の遅延と、血中濃度が高く維持され、血中からの薬物の消失速度が低下し、 $t_{1/2}$ の延長と、AUCの増加が認められ、抗菌薬および非ステロイド性抗炎症薬ともに長く生体内に停滞することを明らかにした。したがって、咀嚼機能低下は、薬物動態の吸収相より薬物の排泄相に問題を多く発生させ、薬物の蓄積効果を引き起こす可能性が示唆された。

文 献

- 1) Nakata S: Relationship between the development and growth of cranial bones and masticatory muscles in postnatal mice, *J Dent Res*, 60: 1440-1450, 1981.
- 2) Beecher R M, Corruccini R S: Effects of Dietary Consistency on Craniofacial and Occlusal Development in the rat, *Angle Orthod*, 51: 61-69, 1981.
- 3) Engstrom C, Kiliaridis S and Thilander B: The relationship between masticatory function and craniofacial morphology; A histological study in the growing rat fed a soft diet, *Eur J Orthod*, 4: 271-279, 1986.
- 4) Andres V, Cusso R and Carreras J: Effect of denervation on the distribution and developmental transition of phosphoglycerate mutase and creatine phosphokinase isozymes in rat muscles of different fiber-type composition, *Differentiation*, 43: 98-103, 1990.
- 5) 酒井秀彰：成長期ラットにおける各種硬度の飼料摂取による咀嚼筋の組織学的変化および下顎骨の形態計測学的変化, *日矯歯誌*, 51: 126-141, 1992.
- 6) 添野一樹：固形飼料ならびに粉末飼料ラットの咀嚼筋機能および下顎枝の成長発育に関する研究, *岩医大歯誌*, 17:1-15, 1992.
- 7) Kuboyama N and Moriya Y :Influence of diet composition and malocclusion on masticatory organs in rats, *J Nihon Univ Sch Dent*, 37: 91-96, 1995.
- 8) 吉田礼子：液状飼料飼育マウスの咀嚼筋筋繊維の分化と発達に関する研究, *日矯歯誌*, 54:52-63, 1995.
- 9) 赤坂守人：小児期の歯と口腔の健康づくり, とくに咀嚼の働きを育む, *小児科誌*, 45:1486-1493, 2004.
- 10) 岡崎光子：幼児における咀嚼訓練の意義, *小児科誌*, 41:2167-2175, 2000.
- 11) 森田匠, 前原琢也：咀嚼運動機能の生後発達に対する長期の粉末飼料飼育の影響, *日顎口腔機能誌*, 18:26-42, 2011.
- 12) Maeda N, Hanai H and Kumegawa M: Postnatal development of masticatory organs in rats.1. Consecutive changes in histochemical properties and diameter of muscle fibers of the M. masseter superficialis, *Anat Anz Jena*, 149: 319-328, 1981.
- 13) Mavropoulos A, Kiliaridis S, Bresin A and Ammann P :Effect of different masticatory functional and mechanical demands on the structural adaptation of the mandibular alveolar bone in young growing rats, *Bone*, 35: 191-197, 2004.
- 14) Milei J, Ambrosio G: Chronic cola drinking induces metabolic and cardiac alterations in rats, *World J Cardiol*, 26: 111-116, 2011.
- 15) 小野塚実, 渡邊和子, 藤田雅文, 齋藤滋：噛んでボケは予防できるか, 咀嚼機能不全と脳の高次精神機能, *日咀嚼誌*, 11:109-115, 2002.
- 16) 武井典子, 伊藤謙三, 石井拓男：就業者の食習慣と生活習慣病のリスク要因について, *口腔衛生誌*, 51:702-703, 2001.
- 17) 井上修二：咀嚼と肥満・糖尿病, *日咀嚼誌*, 1:19-27, 1991.
- 18) Kato T, Usami T, Noda Y, Nabeshima T: The effect of the loss of molar teeth on spatial memory and acetylcholine release from the parietal cortex in aged rats, *Behav Brain Res*, 83: 239-242, 1997.
- 19) Yamamoto T, Hirayama A, Hirano S: Soft-diet feeding inhibits adult neurogenesis in hippocampus of mice, *Bull Tokyo Dent Coll*, 50: 117-124, 2009.

- 20) Kuboyama N, Ogawa K, Tuna E B, Maeda T: Influence of aging on experimental gastrointestinal motility in extraction of rat molar teeth, *Pediatric Dent J*, 22: 8-15, 2012.
- 21) 萩原俊男, 東森浩一, 長野正広 : Ca拮抗薬 MPC-1304 の高齢者高血圧症患者における薬物動態および降圧効果, *臨床医薬誌*, 9:109-116, 1993.
- 22) 谷川原祐介 : 高齢者の薬物動態, 最近の進歩, *臨床医薬誌*, 40:109-119, 2003.
- 23) Veilleux LD, Castel A: Pharmacokinetics of ketamine and xylazine in young and old sprague-dawley rats, *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 52:567-570, 2013.
- 24) Dockens R, Wang JS, Tong G: A placebo-controlled, multiple ascending dose study to evaluate the safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics of avagacestat (BMS-708163) in healthy young and elderly subjects, *Clin Pharmacokinet*, 51:681-693, 2012.
- 25) Akimoto Y, Mochizuki Y, et al: Ampicillin concentrations in radicular cysts following a single oral administration of bacampicillin, *Gen Pharmacol*, 24:895-898, 1993.
- 26) Akimoto Y, Mochizuki Y: Cefaclor concentrations in human serum, gingiva, mandibular bone, and dental follicle following a single oral administration, *Gen Pharmacol*, 23:639-642, 1992.
- 27) A Astier and B Renat: Sensitive high-performance liquid chromatographic determination of indomethacin in human plasma, *J Chromatography*, 233: 279-288, 1982.
- 28) Philip C and Leslie Z B: High-performance liquid chromatographic method for the determination of indomethacin and its two primary metabolites in urine, *J Chromatography*, 306: 315-321, 1984.
- 29) Suresh PS, Dixit A, Giri S, Rajagopal S, Mullangi R: Development and validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for quantitation of indomethacin in rat plasma and its application to a pharmacokinetic study in rats, *Biomed Chromatography*, 27:496-501, 2013.
- 30) Ling Y L and Alan B: Specific and sensitive method for the determination of aspirin and salicylic acid in plasma using reversed-phase high-performance liquid chromatography, *J Chromatography*, 181: 473-477, 1980.
- 31) R H Rumble and M S Roberts: Determination of aspirin and its major metabolites in plasma by high-performance liquid chromatography without solvent extraction, *J Chromatography*, 225: 252-260, 1981.
- 32) Xu X, Grover G: Rapid and sensitive determination of acetylsalicylic acid and salicylic acid in plasma using liquid chromatography-tandem mass spectrometry: application to pharmacokinetic study, *Biomed Chromatogr*, 23:973-979, 2009.
- 33) 杉田守正, 豊永義清, 中村弘典 : 小児科領域における塩酸バカンピシリン(BAPC) の薬動学的検討, *小児科診療*, 49:321-326, 1986.
- 34) Sakamoto H, Kuwahara S: Pharmacokinetics of FK482, a new orally active cephalosporin, in animals, *J Antibiot*, 41:1896-905, 1988.
- 35) Foglesong MA, Lamb JW, Dietz JV: Stability and blood level determinations of cefaclor, a new oral cephalosporin antibiotic, *Antimicrob Agents Chemother*, 13:49-52, 1978.
- 36) Sourgens H, Derendorf H, Schifferer H: Pharmacokinetic profile of cefaclor, *Int J Clin Pharmacol Ther*, 35:374-80, 1997.
- 37) 稲松孝思, 他 : 高齢者における薬物の使い方と留意点—抗生物質—, *最新医学*,

44:1059-1064, 1989.

- 38) 足立暁, 他: TE-031 の高齢者における基礎的, 臨床的検討, *Chemotherapy*, 36:660-666 1988.
- 39) 島田馨, 他: Cefixime (CFIX) の老年者における薬動学的・臨床的研究, *Chemotherapy*, 33:298-303, 1985.
- 40) 鈴木幹三: 高齢者への投与について. 抗菌薬投与の科学, 医薬ジャーナル社, 大阪, 1998, pp. 73-84
- 41) Nakano, S. and Ogawa, N: Influence of anticholinergic agent on absorption and sedative effects of oral diazepam, *IRCS Medical Science*, 8: 54-55 1980.
- 42) Hall HD, Schneyer CA: Salivary gland atrophy in rat induced by liquid diet, *Proc Soc Exp Biol Med*, 117: 789-793, 1964.
- 43) Naim M, Kare MR, Merritt AM: Effects of oral stimulation on the cephalic phase of pancreatic exocrine secretion in dogs, *Physiol Behav*, 20: 563-570, 1978.
- 44) Olsen PS, Poulsen SS, Kirkegaard P, Nexø E. Role of submandibular saliva and epidermal growth factor in gastric cytoprotection, *Gastroenterology*, 87: 103-108, 1984.
- 45) Liu A, Flores C, Kinkead T, Carboni AA, Menon M, Seethalakshmi L: Effects of sialoadenectomy and epidermal growth factor on testicular function of sexually mature male mice, *J Urol*, 15: 554-561, 1994.
- 46) Okada A, Honma M, Nomura Y, Yamada Y: Oral behavior from food intake until terminal swallow, *Physiol Behav*, 90: 172-179, 2007.
- 47) 松野彰仁, 奥田恵司, 山本さつき, 佐久間泰司, 前田照太, 井上宏: 臼歯喪失がラットの学習・記憶に及ぼす影響, 回避実験と脳内グルタミン酸の同時分析, *補綴誌*, 51: 87, 2007.
- 48) 山崎薫子, 虫本栄子, 小林琢也, 田中久敏: ラット臼歯喪失歯数の違いが高次脳機能に及ぼす影響, *TrkB mRNA評価*, *補綴誌*, 48:60, 2004.
- 49) 船越正也: 咀嚼と脳, 文部省特定研究「咀嚼システムの基礎的研究」総括班編. 咀嚼システム入門, 風人社, 東京, 1990, pp. 211-224.
- 50) 船越正也, 川村早苗, 藤原秀樹, 裕哲崇, 佐橋喜志夫: 咬合力と知能テストの関連性について, *岐歯学誌*, 15: 392-398, 1988.
- 51) 船越正也, 佐橋喜志夫. 咀嚼と学習効果: *日歯評論誌*, 620: 73-84, 1994.
- 52) Findlay J.W.A, DenAngelis R.L, Kearney M.F, Welch R.M and Findlay J.M: Analgesic drugs in breast milk and plasma, *Clin Pharmacol Ther*, 29: 625-633, 1981.

**Title : Influence on pharmacokinetics of antibacterial drugs and
nonsteroidal anti-inflammatory drugs in masticatory deficiency rats**

Authors: Kaneji Shibazaki*¹, Noboru Kuboyama*²

*¹ Department of Pediatric Dentistry, Nihon University School of
Dentistry at Matsudo, 2-870-1, Sakaecho-Nishi, Matsudo, Chiba 271-8587, Japan

*² Research Institute of Oral Science, Nihon University School of Dentistry
at Matsudo, 2-870-1, Sakaecho-Nishi, Matsudo, Chiba 271-8587, Japan

Running title: Pharmacokinetic influence with masticatory deficiency rats

Corresponding author: Noboru Kuboyama, Ph.D.

Address : Research Institute of Oral Science, Nihon University School of
Dentistry at Matsudo, 2-870-1, Sakaecho-Nishi, Matsudo, Chiba 271-8587,
Japan

Telephone: 047-360-9476

Telefax : 047-360-9476

E-mail: kuboyama.noboru@nihon-u.ac.jp

Professor & Chairman Prof:

Takahide Maeda

Department of Pediatric Dentistry, Nihon University School of Dentistry at Matsudo,
2-870-1 Sakaecho-Nishi Matsudo, Chiba, 271-8587 Japan

Telephone: 047-360-9427

Telefax : 047-360-9429

E-mail: maeda.takahide@nihon-u.ac.jp

Abstract

In this study, we aimed to investigate the effect of diet and pharmacokinetics of antibacterial and nonsteroidal anti-inflammatory drugs, Bacampicillin (BAPC), Cefaclor (CCL), Acetylsalicylic acid (ASA) and Indomethacin (IDM) in young rats with malocclusion. Group of 8, 5-week old male Wistar rats were fed on solid (Solid-G) and mud diet (Mud-G) for 10 weeks. The all molars of Mud-G were extracted to induce malocclusion. BAPC, CCL concentrations in rat plasma after oral administration of BAPC, CCL (20 mg/kg) were measured by paper disk method. The plasma concentration of the unchanged form was determined by HPLC serially for 12 h after single oral dose of 20 mg/kg ASA and 10 mg/kg IDM. For pharmacokinetic analysis, BAPC, CCL, and ASA from one-compartment model, IDM from two-compartment model were applied to the time course of the plasma levels. Values for the following pharmacokinetic parameters were obtained. BAPC: C_{max} (6.85 $\mu\text{g/ml}$) of Mud-G was significantly higher than that of Solid-G (5.34 $\mu\text{g/ml}$, $p < 0.01$). T_{max} of Solid-G and Mud-G was 23.3 and 37.5 min, respectively. AUC of Solid-G and Mud-G was 10.4 and 14.5 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$, respectively. CCL: C_{max} (7.17 $\mu\text{g/ml}$) of Mud-G was significantly higher than that of Solid-G (5.44 $\mu\text{g/ml}$, $p < 0.01$), T_{max} of Solid-G and Mud-G was 44.4 and 51.0 min, respectively, and k_e level of Solid-G and Mud-G was 1.14 hr^{-1} and 0.69 hr^{-1} , respectively. C_{max} , T_{max} , $t_{1/2}$ and AUC on pharmacokinetics of ASA and IDM in Mud-G were higher than that of Solid-G, while ASA and IDM in Mud-G was not significantly different than those of Solid-G. C_{max} , T_{max} , $t_{1/2}$ and AUC on pharmacokinetics of BAPC and CCL in Mud-G remarkably showed significant increase in comparison with Solid-G, while no significant difference in ASA and IDM was observed between Solid-G and Mud-G. These results suggest that high drug concentration in the plasma and slow disappearance of drugs from the plasma result in longer drug stay period in the body in Mud-G.

Key words: masticatory deficiency, antibacterial drugs, nonsteroidal

anti-inflammatory drugs, pharmacokinetics, young rats

图·表

実験群	飼料	抜歯	動物数	薬物	投与量
1	Solid群	無処置	5	BAPC	20 mg/kg
2	Solid群	無処置	5	CCL	20 mg/kg
3	Solid群	無処置	5	ASA	20 mg/kg
4	Solid群	無処置	5	IDM	10 mg/kg
5	Mud群	抜歯	5	BAPC	20 mg/kg
6	Mud群	抜歯	5	CCL	20 mg/kg
7	Mud群	抜歯	5	ASA	20 mg/kg
8	Mud群	抜歯	5	IDM	10 mg/kg

Solid群 ; 固形飼料

Mud群 ; 泥状飼料 (固形飼料 : 水 = 1 : 1)

BAPC; Bacampicillin Hydrochloride

CCL; Cefaclor

ASA; Acetylsalicylic acid

IDM; Indomethacin

図1

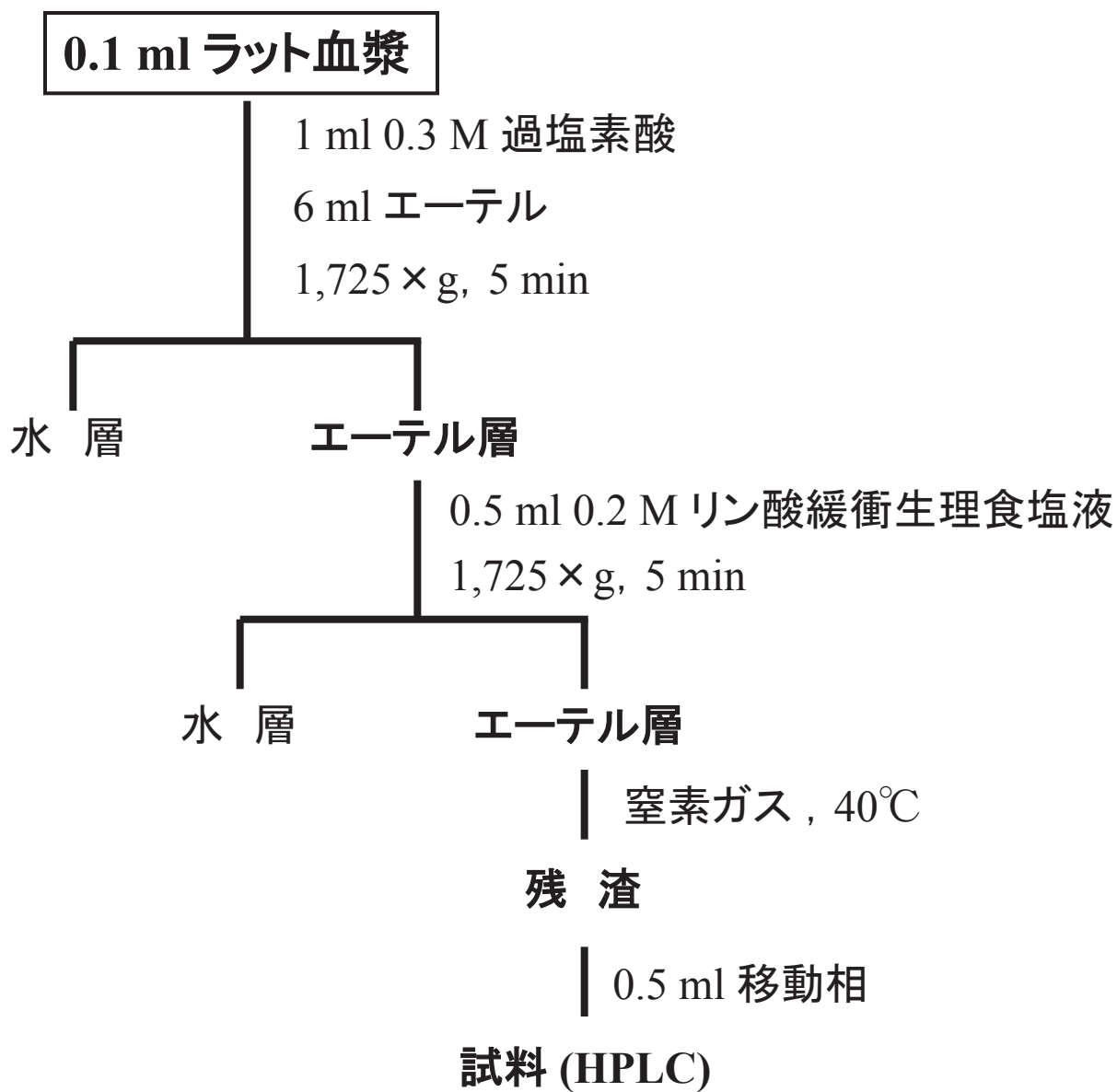


図2

Salicylic acid

カラム	μ Bondapak C18 Column (Waters)
移動相	0.1% リン酸 : アセトニトリル (70:30)
UV検出波長	237.0 nm
流速	1 ml/min
内部標準物質	p-トルイル酸

Indomethacin

カラム	μ Bondapak C18 Column (Waters)
移動相	0.1M 酢酸 : アセトニトリル (30:70)
UV検出波長	254.0 nm
流速	1 ml/min
内部標準物質	メフェナム酸

図3

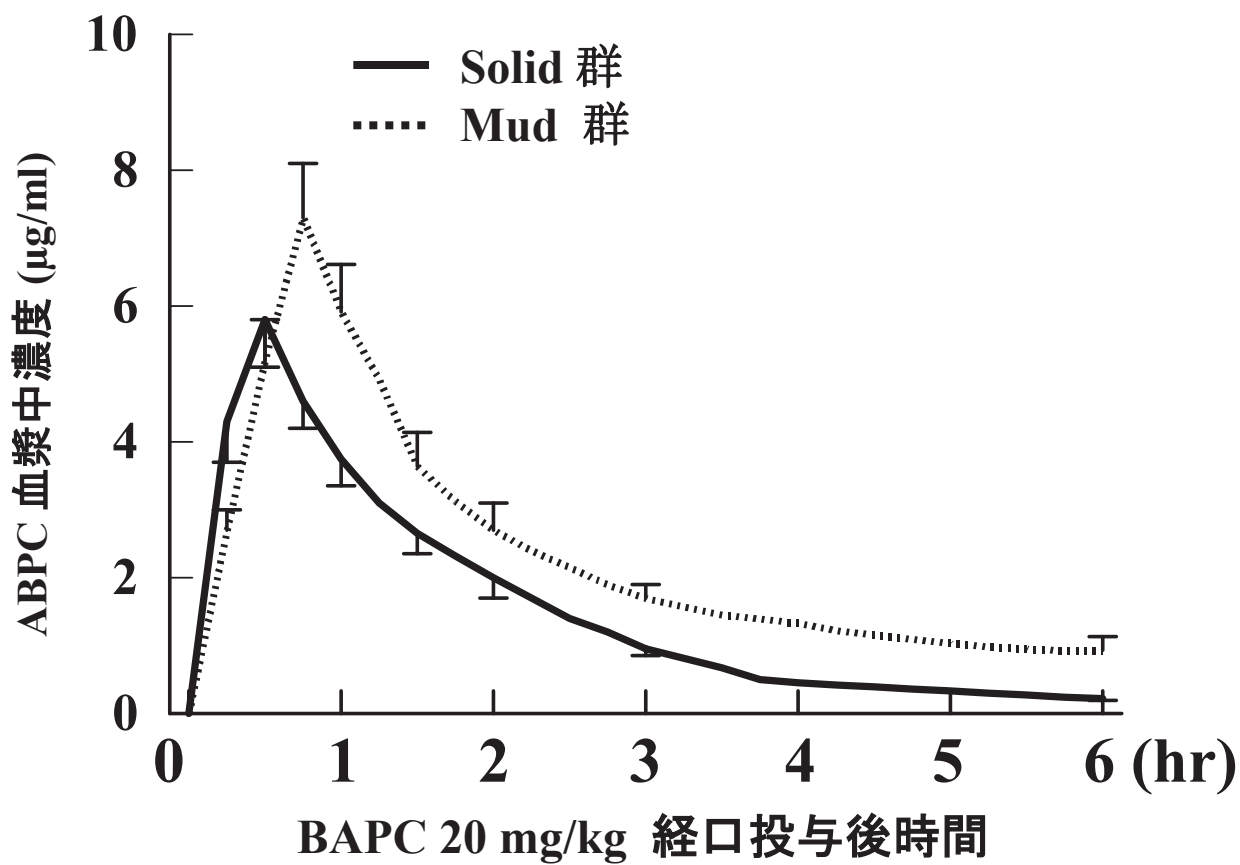


図4

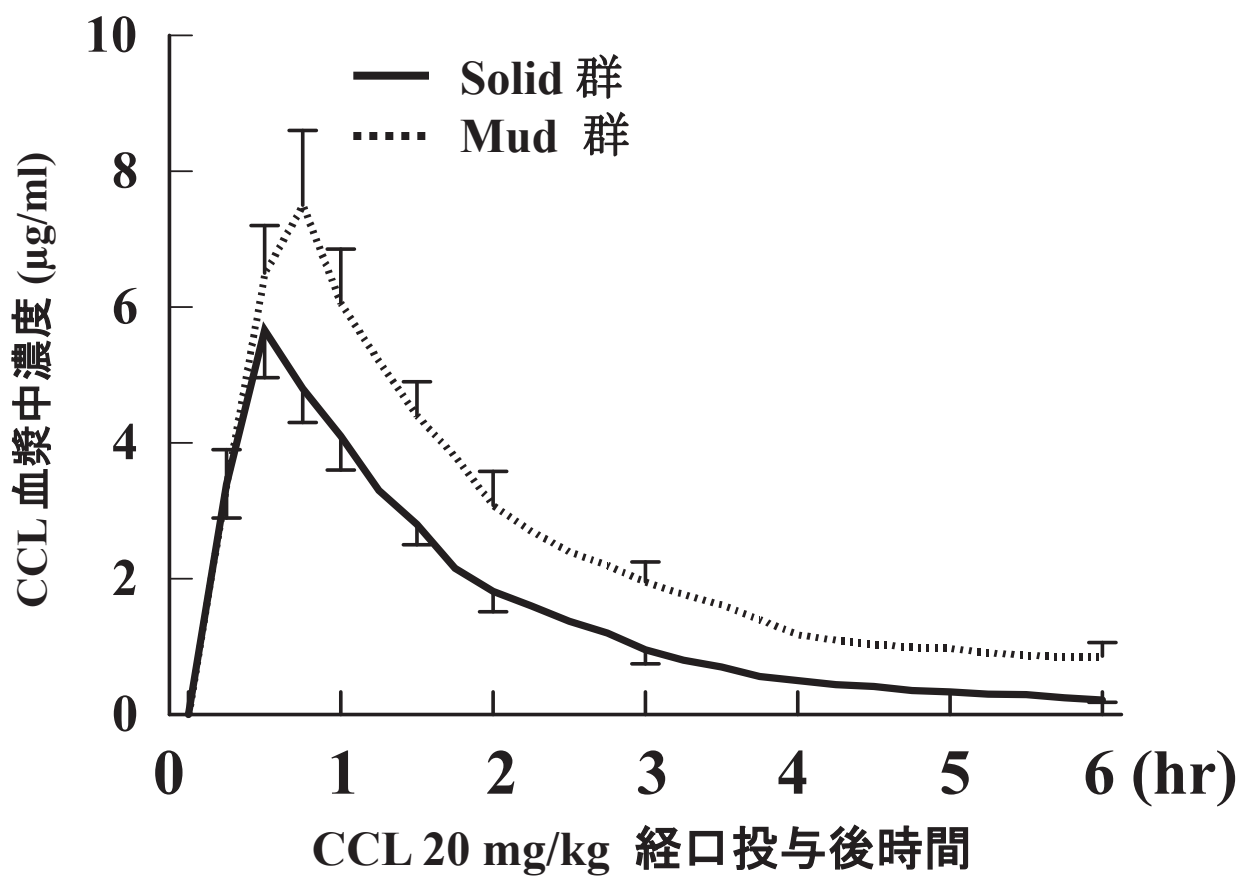


図5

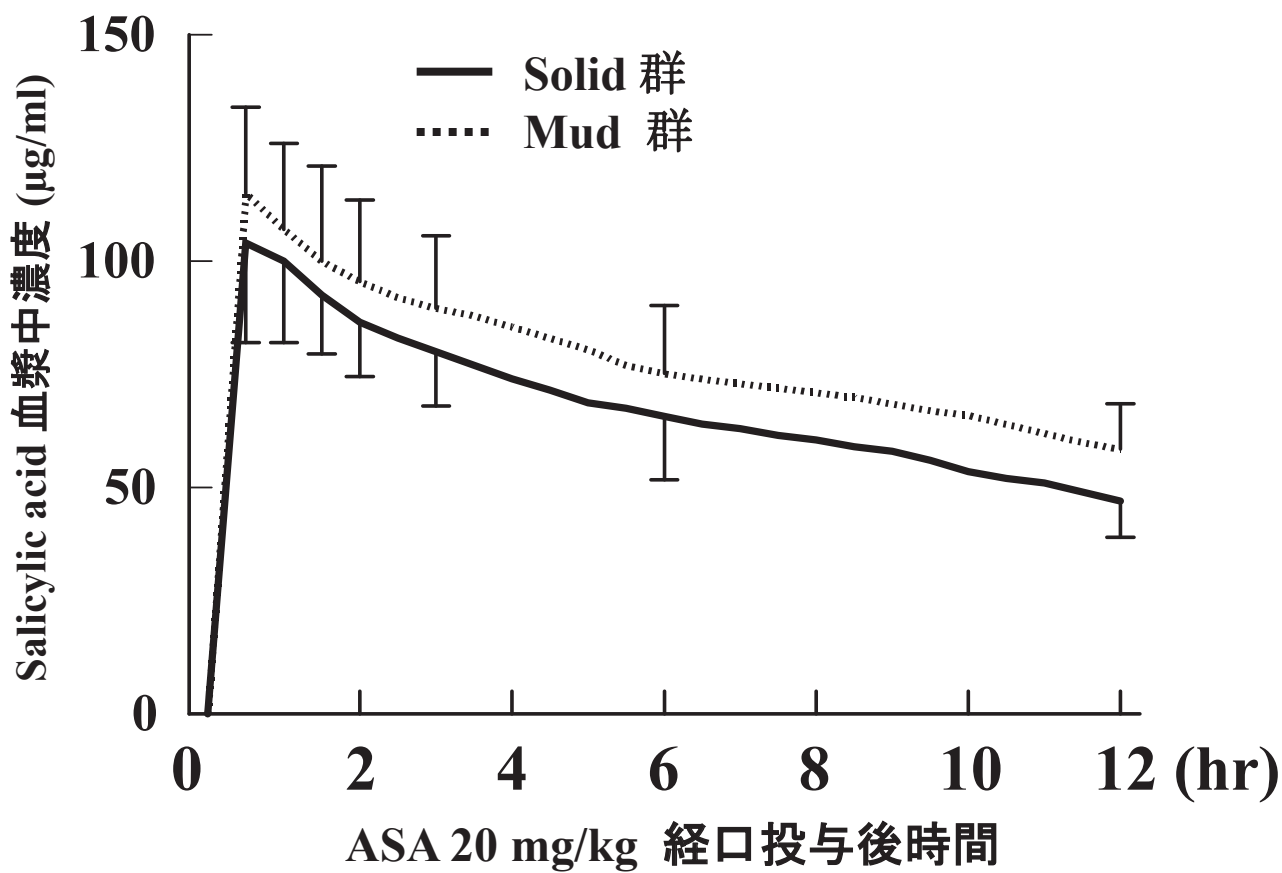


図6

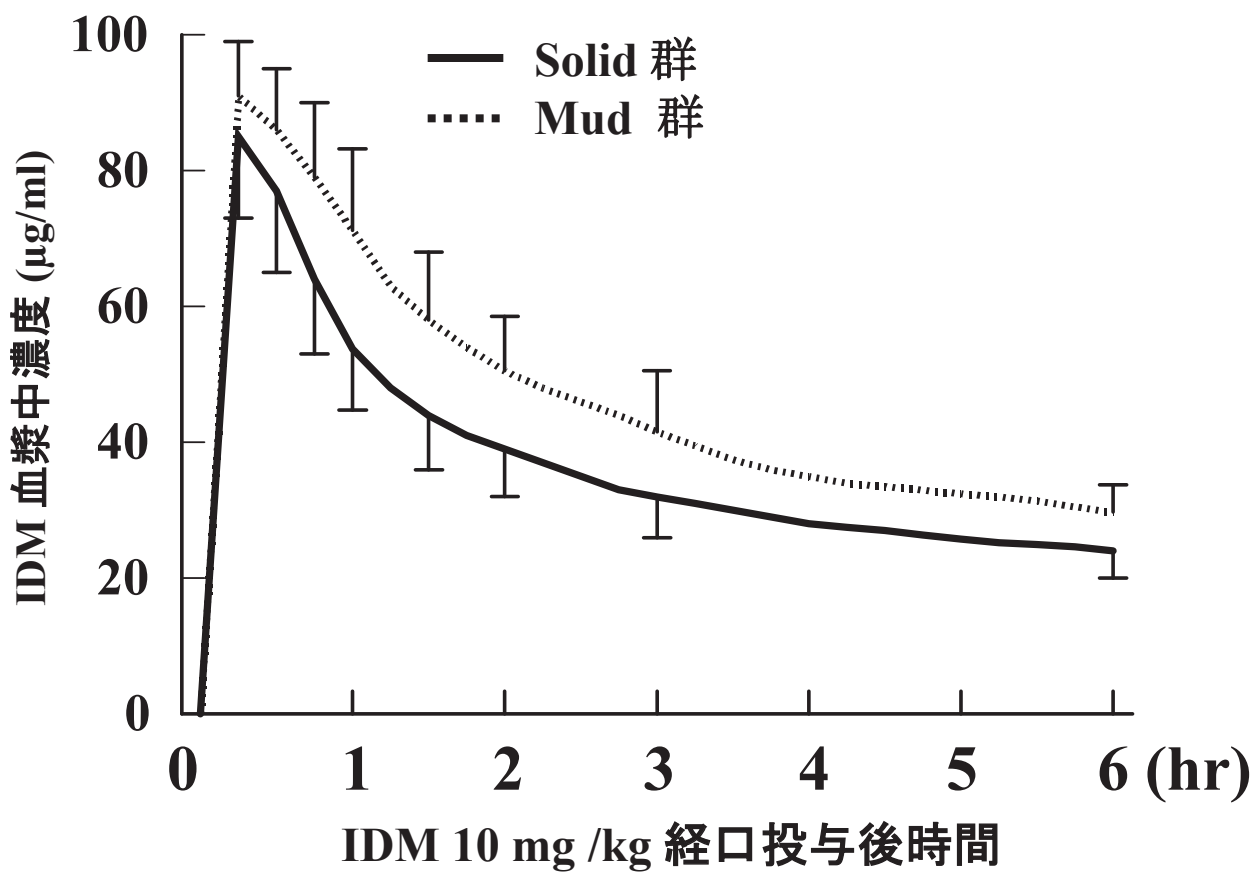


図7

表1

薬物動態パラメーター		Solid群	Mud群
BAPC	Tmax (min)	23.3 ± 3.5	37.5 ± 5.4 ***
	Cmax (µg/ml)	5.34 ± 0.85	6.85 ± 1.21 **
	k _a (hr ⁻¹)	6.01 ± 0.79	4.63 ± 0.36 **
	k _e (hr ⁻¹)	0.86 ± 0.11	0.67 ± 0.09 **
	AUC ₀₋₆ (µg·hr/ml)	10.4 ± 1.5	14.5 ± 2.4 **
	t _{1/2} (min)	54.3 ± 8.4	68.5 ± 6.0 **
CCL	Tmax (min)	44.4 ± 5.7	51.0 ± 3.8 *
	Cmax (µg/ml)	5.44 ± 0.58	7.17 ± 0.86 **
	k _a (hr ⁻¹)	1.59 ± 0.22	1.51 ± 0.72
	k _e (hr ⁻¹)	1.14 ± 0.14	0.69 ± 0.10 ***
	AUC ₀₋₆ (µg·hr/ml)	11.15 ± 2.24	15.19 ± 3.17 **
	t _{1/2} (min)	36.6 ± 4.8	57.6 ± 8.4 ***

* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.001$

表2

薬物動態パラメーター	Solid群	Mud群	
ASA	Tmax (min)	21.9 ± 4.9	26.3 ± 5.4
	Cmax (μg/ml)	86.6 ± 9.5	100.4 ± 22.3
	k _a (hr ⁻¹)	6.21 ± 1.42	5.57 ± 1.98
	k _e (hr ⁻¹)	0.09 ± 0.01	0.08 ± 0.02
	AUC ₀₋₂₄ (μg·hr/ml)	1062 ± 145	1270 ± 279
	t _{1/2} (hr)	8.53 ± 1.18	9.02 ± 1.51
IDM	Tmax (min)	10.3 ± 1.2	10.6 ± 2.4
	Cmax (μg/ml)	77.6 ± 10.7	80.8 ± 8.5
	k _a (hr ⁻¹)	25.3 ± 2.7	23.5 ± 5.0
	k _e (hr ⁻¹)	0.38 ± 0.05	0.32 ± 0.04
	AUC ₀₋₁₂ (μg·hr/ml)	333.1 ± 63.4	414.5 ± 71.5
	t _{1/2} (hr)	1.84 ± 0.38	2.23 ± 0.20 *

* $p < 0.05$

図は原図の1/2倍に縮小
表は原図の1倍

図・表のタイトル

図1. 実験条件

図2. 血漿中Acetylsalicylic acidおよびIndomethacinの抽出方法

図3. HPLCによるラット血漿中Salicylic acid およびIndomethacinの定量条件

図4. Bacampicillin (20 mg/kg) 経口投与した時のampicillin血漿中濃度

図5. Cefaclor (20 mg/kg) 経口投与した時の血漿中濃度

図6. Acetylsalicylic acid (20 mg/kg) 経口投与した時のsalicylic acid血漿中濃度

図7. Indomethacin (10 mg/kg) 経口投与した時の血漿中濃度

表1. BacampicillinおよびCefaclorの薬物動態パラメータ

表2. Acetylsalicylic acidおよびIndomethacinの薬物動態パラメータ