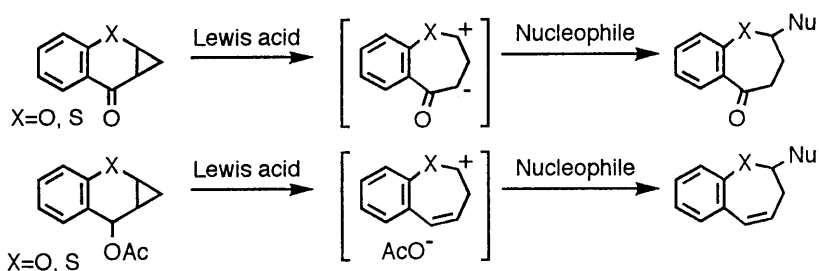


大学院薬学研究科修士論文要旨

シクロプロパン環の環拡大反応を利用した 1-ベンズオキセピンおよびオキセパン誘導体の合成

細谷 弘樹 (横江 一郎 教授)

シクロプロパン化合物は大きな歪をもつため、一般に開環反応を起こし易い化合物である。特に電子求引性基および電子供与性基を隣接位に合わせ持つシクロプロパン(以下、ドナー・アクセプター置換シクロプロパン)は、1,3- 双性イオンを生成し易いと考えられる。双性イオンは求電子反応剤および求核反応剤の双方の性質を有しており、各種基質との反応が期待される。著者は、このドナー・アクセプター置換シクロプロパンの反応をメタノクロマンノン体に展開した。すなわち、メタノクロマンノン体は環内に電子求引性基および電子供与性基が組み込まれているため Lewis 酸存在下、環状双性イオンとして機能すると予想される。また著者は、メタノクロマンノン体のカルボニル部を適当な脱離基に変換すれば、Lewis 酸の作用によりそれは環状オキソニウムイオンとして機能すると考えた。両者の反応条件を種々検討したところ、いずれの反応もアセトニトリル中、Lewis 酸として TMSOTf を用いたとき円滑に進行し、対応するベンズオキセピンおよびベンゾチエピン体が高収率で得られた。これにより、これまで報告例の少なかった 2-アルキル置換-1-ベンズオキセピン誘導体の系統的な合成法を確立できた。

4,9-Dioxonaphtho[2,3-*b*]furan-2-carboxylic acid 誘導体の合成に関する研究

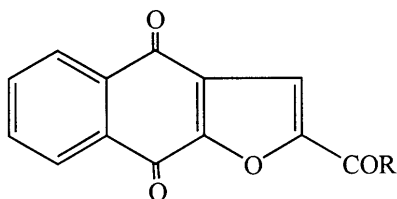
藤原 直子 (横江 一郎 教授)

三環系化合物は、幅広い薬理作用を示すことが知られており、近年、クマツヅラ科植物のジクロロメタン抽出物より抗 *Helicobacter pylori* 活性を有するフロナフトキノ誘導体が単離されている。そこで抗菌活性を有する生薬由来のフロナフトキノ誘導体に興味を持ち、フロナフトキノ骨格の2位にカルボキシル基を導入し、カルボン酸誘導体の合成化学的検討を行った。

まず、フランと無水マレイン酸の Diels-Alder 反応を行い、ブロム化後、キノリン中で加熱し 3-bromofuran を合成し、リチオ化により 3-lithiofuran を合成した。次いで目的とする 2-(3-

furanoyl)benzoic acid を得、lithium diisopropylamide で処理し閉環体を得、さらに還元により 4,9-dimethoxynaphtho[2,3-*b*]furan を得た。次に 4,9-dimethoxynaphtho[2,3-*b*]furan へのカルボキシル基の導入を行った。即ち 4,9-dimethoxynaphtho[2, 3-*b*]furan を THF 中 -15℃ で *n*-BuLi と反応させ、続いて CAN 酸化により 4,9-dioxonaphtho [2,3-*b*]furan-2-carboxylic acid を得た。更にエステル類、アミド類の合成を行い、それぞれ対応する 2 種のエステル、2 種のアミドを得た。また、酸ヒドラジド、アシルアジドの合成を行った。

以上の結果、22 種類の化合物を合成し、目的とする新規 4,9-dioxonaphtho[2,3-*b*]furan-2-carboxylic acid 誘導体 14 種類を合成した。

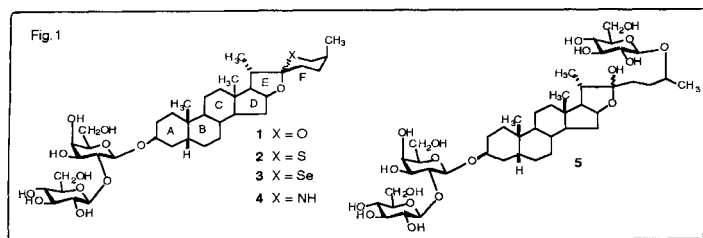


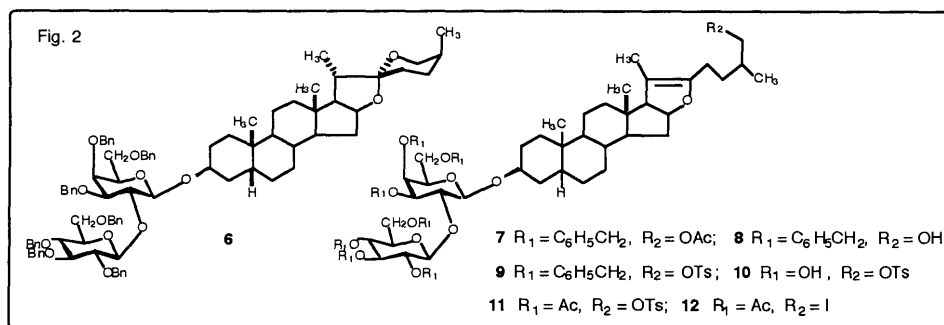
ヘテロスピロスタノールグリコシドの合成研究

葉山 江里 (薬学専攻 横江 一郎)

既に、齋藤らは Timosaponin A - (1)の F-環の配座の違いによりアデニンジフォスフェート (ADP) と抗生物質であるリストセチンによって惹起される血小板凝集に対して異なった抑制作用を示す事を明らかにした。今回、化合物 1 (Fig.1)の F-環上の酸素原子を他のヘテロ原子(イオウ, S ; セレン, Se ; 窒素, N)に変換したヘテロスピロスタノールグリコシドと化合物 1 との抗血小板凝固作用に対する効果を比較すること、更に、他の新規な薬理活性を模索する目的でそれらの合成に着手した。

[実験・結果]チモに大量に含まれている bisdesmodide (5)の α -glucosidase 処理によって得た化合物 1 の F-環上の酸素原子を他のヘテロ原子(S, Se, N)に変換するために重要な中間化合物である化合物 12 の合成を 1 から 6 7 8 9 10 及び 11 を経て行った。12 から目的の 2 及び 3 の合成に成功した。4 の合成は検討中である。



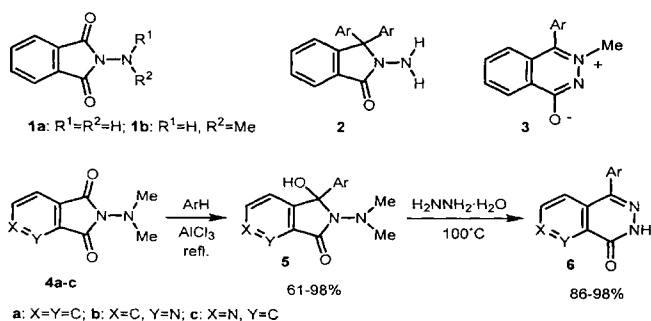


化合物 2 と 3 に強い抗腫瘍生活性と抗ウレアーゼ活性があった。抗血小板凝集抑制効果を現在調査中である。

N-Aminophthalimide 類と $AlCl_3$ との反応における Amino 窒素による Imide Carbonyl への隣接基関与について

薬品製造化学教室 齊藤 優子 (菊川 靖雄 教授)

当研究室では、N-aminophthalimide (**1a**) と benzene 中 $AlCl_3$ との反応で 2-amino-3, 3-diphenyl-2,3-dihydro-isoindol-1-one (**2**) が収率良く得られた。同様条件下、phthalimide 及び N-phenylphthalimide では原料回収であることから amino 窒素による imide carbonyl への隣接基関与によって carbonyl 基が活性化され Friedel-Crafts type の反応が起きたものと思われる。次に N-methylaminophthalimide (**1b**) 並びに N,N-dimethylaminophthalimide (**4a**) で同様の反応を行ったところ **1b** からは pseudophthalazinone (**3**) が、**4a** からは aryl 基が 1 つだけ入った hydroxyisoindolinone (**5**) が得られた。Hydroxyisoindolinone 類及びその aza 体の有効利用として hydrazine hydrate と加熱し、phthalazinone 類及び pyridopyridazinone 類が合成された。



キラリティー認識プローブのミセルおよびベシクル系への適用

小堀 裕紀 (山田 紘一 教授)

環境により二次不斉変換を起こす[5]チアヘテロヘリセン(5HM)をプローブとし、キラルカルボン酸化合物(TAPA)を含む SDS ミセルやジアルキルホスファチジルコリン(PC)の作るベシクルなど流動性の高い反応場の持つキラリティー認識能力を調べた。ラセミの 5HM と(R)TAPA とはミセル中電荷移動(CT)相互作用を起こし 350nm 付近に負のコットン効果の吸収帯(ICD)を誘起した(不斉変換)。この ICD は自発的に正の吸収帯へ変化し、加温や超音波照射により加速された。連続変化法や HPLC 法で検討すると、まず 5HM/(R)TAPA の 1/2 錯体が作られ、それが 1/1 錯体へ変わった。この組成変化に伴い 5HM が M 対掌体から P 対掌体へとキラリティー逆転現象(キラル変換)を起こすことが判明した。これはミセル濃度の増加やエタノール添加による ICD の消失や、TAPA の水素結合が系の安定化やキラリティー発現に必須であることにより支持された。キラル識別エネルギーはキラルミセル単独より 10 倍大きく、5HM を閉じ込めるミセル効果と CT 相互作用効果とがキラル識別に相乗的に働いていると結論された。次に、PC ベシクルにラセミ 5HM を取込ませると同様な ICD が観測され、コットン効果は PC のキラリティーにより制御され、(D)PC は 5HM を P 体過剰、(L)PC は M 体過剰にし、PC 二分子膜は 5HM の対掌体を識別することが判明した。PC のアシル鎖が短いことや二重結合の存在は識別能力を高め、5HM と PC のキラルセンターとの距離や膜の硬さにより説明された。卵黄や牛の心臓レシチンのベシクルは合成 PC ベシクルよりキラル識別能力が幾分か高かった。さらに 5HM を含むベシクルに TAPA の添加はキラル識別能力を上昇させ、膜の構造変化につれ識別能力は変化した。またコレステロールの存在では識別能力は 1.1 倍の増加であったが温度を上げてもその低下は小さく、コレステロールの膜の流動性を調整する作用を確認した。

安定同位体によるポリアミントレーサー実験法の開発

薬学専攻 原 健 (鮫島 啓二郎 教授)

最近、細胞外からのポリアミンの取り込みが、細胞内ポリアミンの正常レベルを維持するために役立っているのではないかと考えられるようになり、全動物でのポリアミントレーサー実験が必要になってきた。本研究ではラジオアイソトープ標識ポリアミンを用いずに、安定同位体標識ポリアミンを用いる実験法の開発を目指して、必要な標識ポリアミンの合成を行い、既に報告したイオンスプレー・マススペクトロメトリー(IS-MS)によるポリアミンの定量法に適用した。¹⁵N-標識ポリアミンをトレーサーとするため、それらを定量するために必要な内部標準物質として、さらに質量の大きい ¹³C, ¹⁵N-標識ポリアミンの合成を先ず検討した。はじめに、ポリアミンの基本骨格である ¹³C, ¹⁵N-Put の合成は、ジプロモブタンと ¹³C-KCN とを反応させて ¹³C-スクシノニトリルとし、これを加水分解、エステル化、還元、ブロム化を経て ¹³C-ジプロモブタンとし、¹⁵N-フタルイミドカリウムによりアミノ化して行った。各段階の収率は 90%前後であった。次に、¹³C, ¹⁵N-Spd の合成は、水溶性の Z-化試薬である [p-(benzyloxycarbonyloxy)phenyl] dimethylsulfonium methylsulfate (Z-

DSP)を用いて高収率で調製した mono-Z- ^{13}C , ^{15}N -Put をベンジル化し、KF-Celite 存在下 ^{15}N -プロモプロピルフルタルイミドと反応させ、さらにヒドラジン分解、接触還元で保護基を除去して行った。また、 ^{13}C , ^{15}N -Spm の合成は、定法に従い ^{13}C , ^{15}N -Put をベンジル化し、KF-Celite 存在下 ^{15}N -プロモプロピルフルタルイミドと反応させ、さらにヒドラジン分解、接触還元で保護基を除去して行った。このようにして合成した ^{13}C , ^{15}N -Put, Spd, Spm および天然の非標識 Put, Spd, Spm さらに ^{15}N -Put、Spd, Spm の計 9 種の混合物を IS-MS により測定したところ、予想どおりにそれぞれが分離し、同時測定が可能であることがわかった。また、 ^{13}C , ^{15}N -標識ポリアミンを内標として、非標識ポリアミンおよび ^{15}N -標識ポリアミンの定量性を調べたところ、いづれも十分満足できる直線性を示した。

マロンジアルデヒドの新規蛍光検出試薬の開発

薬学専攻 若林 弘樹 (鮫島 啓二郎 教授)

脂質の過酸化反応から生成すると推察されるマロンジアルデヒド (MDA) は反応性が高く、当研究室ではアミノ酸及びアミンと MDA との反応性を調べてきた。本研究は、これらの反応性についてさらに検討し、反応性が著しく高いアミン化合物を基本骨格とした MDA の選択的な蛍光検出試薬の開発を目的とした。まず、MDA とアミノ酸及びアミンを反応させ残存 MDA 量を測定した結果、エチレンジアミン及びエチレンジアミン骨格を持つポリアミンが高い反応性を示した。そこで、MDA とエチレンジアミンとの反応様式を検討したところ、MDA はまずエチレンジアミンの一方のアミノ基と結合し、続いて他方のアミノ基と結合して安定な環状化合物を形成することが判明した。この特異的な反応を利用した MDA の蛍光検出試薬を作製するために、1 級アミノ基に 2-ピリジル基やダンシル基を導入したエチレンジアミン骨格を持つ蛍光性ポリアミンを合成し、MDA との反応性を調べた。その結果、トリエチレンテトラミンに 2-ピリジル基を導入した N,N'-ビス(2-アミノピリジルエチル)エチレンジアミン (NPE) が最も高い反応性を示した。

つぎに、NPE と MDA の反応生成物について HPLC 分析を行ったところ、2 種類の反応生成物が認められたが、反応終了後に NaOH を添加すると反応生成物が 1 種類に収束した。そこで、MDA の定量法を確立するために反応条件を種々検討した結果、反応溶液の pH を 7.4、反応時間を 6 時間とし、反応後の過剰 NPE の除去には 4 で 30 分間の放置が有効であった。また、生体試料中の共存物質としてアルデヒド類や MDA の結合しているアミノ酸、アミン及びタンパク質等が考えられ、MDA の結合モデル化合物を合成し、それらの影響を調べたが、MDA の定量への影響は認められなかった。これらの結果から、NPE は MDA の選択的な蛍光検出試薬として有用であると思われる。

生物界に存在する各種ポリアミンの分析を目指した蛍光誘導体化試薬の開発

薬学専攻 渡邊 彰子 (鮫島 啓二郎 教授)

生物界に存在する多くの種類のポリアミンを良好に分離して高感度に検出するには、ポリアミンを蛍光誘導体化して逆相 HPLC 法を用いるのが望ましい。しかし、現在多用されているアミンの蛍光誘導体化試薬を用いると、分子サイズが著しく増大した疎水性の高い誘導体を形成するため、良好な分離が得られないのが現状である。そこで本研究には、分子サイズの小さな疎水性の低い蛍光物質を基にした蛍光ラベル化試薬が有用であると考え、2-アミノニコチン酸及びサリチル酸の活性エステルやイサト酸無水物及び N-メチルイサト酸無水物を適用した。各誘導体化試薬と 1 級及び 2 級アミンとの反応性の検討に、ヘキシルアミン及びジプロピルアミンを用いて、それぞれの誘導体標品を合成して蛍光スペクトルを測定した。ヘキシルアミンの各誘導体はサリチル酸を除き比較的高い蛍光強度を示したが、ジプロピルアミンの各誘導体はほとんど蛍光性を示さなかった。つぎに、ヘキシルアミン及びジプロピルアミンと各誘導体化試薬を一定温度で反応させ、時間経過における誘導体生成量を HPLC で測定して反応性を調べた。その結果、いずれのアミンにおいてもイサト酸無水物が最も良好な反応性を示し、100 ℃、4 時間の加熱で反応はほぼ定量的であった。また、ジプロピルアミンとの反応は温度に大きく依存した。そこで、イサト酸無水物とスペルミジンとを 100 ℃ で反応させたところ、誘導体の生成量は 5.5 時間で最大となった。さらに、プトレシン、スペルミジン及びスペルミンの混合溶液にイサト酸無水物を添加し、100 ℃、5.5 時間反応させ HPLC 分析を試みたところ、それぞれの良好な単一ピークが得られ、イサト酸無水物がポリアミンの蛍光誘導体化試薬として適用可能であることが示唆された。

モルモット組織トランスグルタミナーゼに対するピオチン標識ポリアミンの基質性

藤原 栄一 (白幡 晶 助教授)

本研究では、細胞内ポリアミンによる化学修飾に最も関与が予想される組織トランスグルタミナーゼ(TGase)についてピオチン標識ポリアミンに対する基質性やピオチン標識ポリアミンを基質としたときの生理的ポリアミンの阻害活性を検討し、細胞内におけるポリアミンおよびピオチン標識ポリアミンの挙動を知る上での有用な情報を得ることを目的として実験を行った。

まず、どのような細胞内タンパク質が TGase の基質になりうるかを調べるために、HTC 細胞からの細胞抽出液をタンパク質として、モルモット組織 TGase に対する基質性を調べたところ、非常に多くの細胞内タンパク質がピオチン標識ポリアミンによって標識されることがわかり、TGase が基質タンパク質に対して著しい特異性を示すわけではないことが示唆された。

次に、TGase の基質として、よく用いられているジメチルカゼインをタンパク質として、TGase の基質性をウェスタンブロット法により調べたところ、TGase の基質になることが知られている B-5 に比べ高い反応性を示し、TGase のよい基質になることがわかった。

さらに、ピオチン標識ポリアミンを用いて、マイクロプレートを用いる TGase 活性測定法に応用

し、それらの基質性を反応速度論的に調べた。その結果、みかけの最大反応速度 V_{max} はビオチン標識ポリアミンの方が B-5 に比べ大きく、みかけの K_m については B-5 に比べ、1/6~1/5 倍ほど小さく、従来の基質として知られている B-5 より低濃度で高感度で使用可能な基質として有用であることを明らかにした。次に、B-343 を用いて、生理的ポリアミンやジアミンによる TGase 活性の阻害効果を調べた。その結果、TGase は、プトレシン、スペルミジン、スペルミンなど生理的ポリアミンの末端のジアミン構造を認識していることがわかった。

ラット *S*-アデノシルメチオニン脱炭酸酵素に対する不可逆阻害剤の阻害様式の比較

村石 由利弥 (白幡 晶 助教授)

本研究では、強力な不可逆的阻害剤開発の基礎検討として、哺乳動物 *S*-アデノシルメチオニン脱炭酸酵素 AdoMetDC に対する不可逆阻害剤の阻害メカニズムを、当研究室で新規に合成された化合物と比較し、検討した。まず、強力な不可逆阻害剤として知られる norAbeAdo、アミノプロベニル構造をもつ化合物 AmpaAdo、および本酵素の活性部位に存在するピルピン酸に反応性を有するアミノオキシ基をもつ低分子スルホニウム化合物 ADSP について、ラット AdoMetDC に対する阻害効果を調べ、3 種の化合物がいずれも活性部位に作用する不可逆阻害剤であることを確認した。

次に反応速度論的解析を行い、 K_i および失活速度定数 k_{inact} を Kitz および Wilson の方法で求めた。アミノオキシ基をもつ ADSP は、 K_i 、 k_{inact} が大きく、活性部位に入りにくいが入ることができればカルボニル基とのオキシムを速やかに形成して不可逆的に阻害すること、また、norAbeAdo と AmpaAdo は、約 0.3 と同じように k_{inact} が小さく、ともに失活過程に幾つかの反応が関与することが示唆された。また norAbeAdo と AmpaAdo の阻害の強さの違いは両者の活性部位への入りやすさの違いであることが示唆された。

また、酵素を阻害剤で失活させた後、MALDI-TOF-MS で分析した結果、AmpaAdo、norAbeAdo 処理では酵素サブユニットの分子量に大きな変化がないのに対し、ADSP 処理を行った酵素のサブユニットにのみ、ほぼ ADSP の分子量に相当する増加が見られた。さらに、これら失活酵素についてアミノ酸配列分析を行ったところ、コントロールおよび ADSP 処理の酵素については PTH-アミノ酸が検出されなかったのに対し、norAbeAdo 及び AmpaAdo 処理の酵素については、N 末端のピルピン酸がアラニンに変化したと思われるアミノ酸配列が検出された。これらのことから、ラット AdoMetDC の norAbeAdo、AmpaAdo による阻害機構は阻害剤分子による標識を伴わないトランスアミネーションによる阻害機構であることがわかった。

ラットにおける種々のペルフルオロ脂肪酸の体外排泄の比較検討

大森 耕太郎 (川嶋 洋一)

ペルフルオロ脂肪酸(PFCA)は脂肪酸の炭素結合水素がすべてフッ素に置換した化合物で、ペルオキシソーム増殖剤として知られるが、その作用の強さはPFCAの炭素鎖長によって大きく異なり、炭素鎖長が長いほど強い作用を示すこと、また、同じPFCAの作用は雌ラットより雄ラットに強く現れること、このような差が肝臓のPFCA蓄積量によるものであることがすでに明らかとなっている。本研究では、肝臓への残留性が異なる理由を明らかにするために、炭素数7-10のPFCA(C7, C8, C9, C10)について雌雄ラットにおける全身クリアランスを検討した。次に、胆汁および尿中への排泄速度および腎クリアランスを比較検討した。また、性差の生じる原因を調べるために、去勢や性ホルモン投与による腎クリアランスへの影響を検討した。

全身クリアランスをPFCA間で比較したところ、雌雄ラットともにC7がもっとも大きく、それぞれ406, 654 mL/dayであった。炭素鎖長が長いほどクリアランス値は低下する傾向が認められ、C8で24および186, C9で2および42, C10で2および1 mL/dayであった。分布容積には最大でも2倍の差しか認められなかった。尿中および胆汁中へのPFCAの排泄速度を比較したところ、胆汁中への排泄速度にはPFCA間および雌雄間で大きな差はなく、また、尿中への排泄速度に比べて非常に遅かった。一方、尿中への排泄速度は、全身クリアランスと非常に似た傾向を示した。腎クリアランスを検討したところ、C7とC8は全身クリアランスと非常に近い値を示した。血液中の蛋白結合率はいずれのPFCAも99%以上であり、血中遊離型濃度で補正した腎クリアランス値から、これらは尿細管分泌により排泄されるものと考えられた。C8の腎クリアランスはプロベネシドにより強く阻害された。また、C8の腎クリアランスは雄ラットを去勢すると増加し、テストステロンを投与すると低下した。以上の結果から、PFCAは尿細管の何らかの有機酸トランスポーターによって尿中へ排泄され、これが性ホルモンによって調節を受けるものと推察された。

ペルフルオロデカン酸による肝脂肪蓄積とその機構解析

中川 和也 (川嶋 洋一)

ペルフルオロデカン酸(PFDA)はデカン酸の炭素結合水素がすべてフッ素に置換した化合物で、ペルオキシソーム増殖剤の一種である。しかし、フィブレートなどの他のペルオキシソーム増殖剤が肝臓で脂質低下作用を示すのに対し、PFDAは肝脂肪蓄積作用を示す。そこで、本研究ではPFDAがどのような機構で肝脂肪蓄積を引き起こすかについて検討を行った。

PFDAは摂食低下を引き起こすので、摂餌量をPFDA投与群にあわせたpair-fed群を対照とした。PFDAを20 mg/kg体重、1日1回4日間、ラットの腹腔内に投与し、72時間後に肝臓および血漿の脂質を分析した。肝臓ではPFDA投与群は(TG)とコレステロールエステル(ChE)が顕著に増加し、pair-fed群のそれぞれ5, 6倍となった。一方、血漿中では、TG, ChEが顕著に減少し、また、リン脂質(PL)や遊離コレステロール(CH)も減少した。肝臓は脂質の合成、分解および血中への

VLDL の分泌を行い、脂質代謝に中心的役割を担っている。ラットに $[^3\text{H}]_2\text{O}$ を投与し、肝臓における TG の合成速度を調べたところ、PFDA 投与群はやや合成が増加していた。次に、PFDA 投与ラットから肝細胞を単離し、 $[^{14}\text{C}]$ オレイン酸の酸化速度を調べたところ、PFDA 投与群においてミトコンドリアおよびペルオキシソームの両方で 酸化活性が亢進していた。次に、肝臓からの VLDL 分泌速度を調べたところ、PFDA 投与群では分泌速度が 1/3 に低下していた。また、この減少は PFDA 投与 24 時間後から認められた。以上の結果から、PFDA による肝脂肪蓄積は、肝臓からの VLDL の分泌抑制によるものと考えられ、また、肝臓における TG 合成の促進も一因である可能性が示唆された。

腸炎ビブリオの O-untypeable(O U T)分離菌株の O 抗原リポ多糖(L P S)の血清学的・化学的性状

橋井 則貴 (川嶋 洋一 教授)

腸炎ビブリオには現在 13 種の血清型が存在することが知られているが、近年、主に東南アジアにおいて既知の血清型の診断用抗血清に対して明瞭な凝集を示さず、菌体凝集反応では

O 血清型別が困難な O-untypeable(O U T)腸炎ビブリオ菌株が食中毒患者より分離された。本研究では 7 種の O U T 菌株から L P S を抽出精製し、その多糖部の化学的性状を既知血清型菌株のそれと比較検討した。さらに、抽出精製した L P S を用いる血清反応により、これらの O U T 菌株の血清型の型別を目的とした。また、K X - V 212 菌株についてはその L P S 多糖部(P S)の構造解析を試みた。

L P S を用いる血清反応により、7 種の O U T 菌株のうち 1 株の血清型は O 4 , 3 株のそれは O 2 であることが示された。しかし、他の 3 株(A K - 33473 , 90 A - 6611 , K X - V 212)の L P S は、糖組成では O 3 , O 5 , O 11 および O 13 の L P S と一致するもののそれらの血清型は従来知られている 13 種以外の未知血清型であり、さらに、K X - V 212 と 90 A - 6611 株は同じ血清型であることが明かとなった。

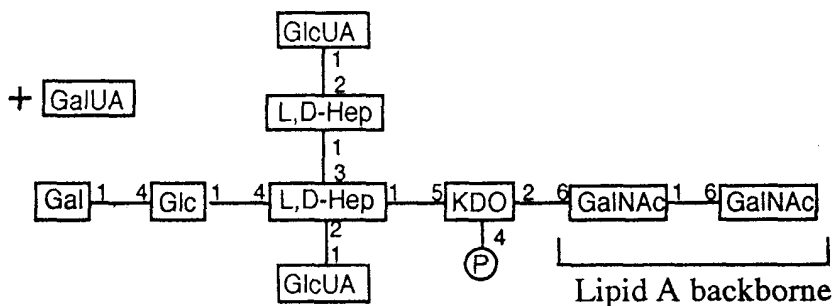


Fig. 1 KX-V212LPS 多糖鎖の推定構造

KX-V212 菌株 LPS より分離した PS について、メチル化分析、部分分解によって得られるオリゴ糖の解析、TOF-MS および FAB-MS による分子量測定などによる構造解析を行った結果、同菌株の LPS 多糖部は Fig.1 に示した構造をもつことが明かとなった。本菌株 LPS 多糖部は 9 個の単糖で構成される低分子糖鎖で、KDO-4 リン酸およびウロン酸を含むことなど、腸炎ビブリオの既知血清型 LPS 多糖部と共通する構造上の特徴が認められたが、ウロン酸が 2 分子存在することなど、本菌 LPS のもつ構造上の特徴も明かとなった。

ラット胃粘膜における粘液(MUC5AC) mRNA 発現に関する研究

薬学専攻 小林 丈人 (谷 覺 教授)

ヒトムチンには MUC1~8 までの存在が知られ、共通の構造的特徴として O-グリコシド結合型糖鎖部位の繰り返しドメインを有しており 9 種類の cDNA が部分的にクローニングされている。このうち胃に多く存在する粘液種の一つである MUC5AC の cDNA がラットにおいてもクローニングされているので、この rMUC5AC の繰り返し配列部の antisense oligoDNA を設計し、これをプローブとして rMUC5AC の mRNA を検出した。まず個体レベルの成長に伴う rMUC5AC mRNA の発現を調べると、生後 10 日目から急激に増加し、20 日前後で成獣のレベルまで達した。そこで rMUC5AC mRNA の発現の少ない生後 5 日目にヒドロコルチゾンを投与し影響を調べたところ、投与 2 日後に急激な発現の上昇が見られた。副腎を摘出した成熟ラットにヒドロコルチゾンを投与したところ、低用量では発現を増加させたが、高用量では逆に低下させた。この現象を確認する目的で培養細胞にヒドロコルチゾンを添加したところ rMUC5AC mRNA を減少させ、高用量ではその作用は顕著であった。以上のことからヒドロコルチゾンは粘液細胞には直接作用し粘液の生合成を低下させるが、生体では消化管粘膜の成熟に関与しているものと考えられた。次に、培養細胞において如何なる生理活性物質が生合成に関与しているのかを検討した。培養胃粘膜上皮細胞における rat MUC5AC mRNA の発現は培養 2 日目でピークを迎えその後減少がみられたので、培養 1 日後に様々な分泌刺激物質を添加し効果を調べた。Epidermal growth factor (EGF)、histamine、carbachol、forskolin に有意な MUC5AC mRNA の発現の増加がみられた。逆に phorbol ester (PMA) は rMUC5AC mRNA の発現を抑制した。同時に調べた培養細胞中の粘液量が EGF では増加し、PMA では減少していたことから、粘膜分泌促進機序にも多様性があることが考えられた。

てんかん関連遺伝子 (SEZ 遺伝子) のマッピング

横手 紀和 (谷 覺 教授)

てんかんは、神経細胞の異常な興奮により引き起こされる発作を繰り返し起こす慢性疾患であり、それには興奮系の過剰発火と抑制系の機能不全が関与していると考えられている。その治療・予防法の確立は、医学に留まらず社会的にも大きな課題である。一方、分子遺伝学的手法や発生工学的手法の導入により、家族性てんかんに関与する遺伝子も多数同定されている。

ペンチレンテトラゾール (PTZ) によるけいれんは、てんかんけいれんの発生過程に類似しており、菅谷らは、PTZ により発現量に変化が認められる遺伝子の探索を試み、PTZ 処理 C57BL/6J マウス大脳皮質初代培養細胞と正常細胞とから cDNA library を作製し、differential hybridization 法により 20 クローンのけいれん関連遺伝子群をクローニングした。特に PTZ により明らかにマウス大脳皮質で発現量が変化 (増加または減少) することが確認された遺伝子は、SEZ 2、4、6、7、9、10、12、15、17 の 9 つの遺伝子であった。

本研究では、てんかん発症に関連する遺伝子群の探索を最終目的として、SEZ 遺伝子のマウス染色体上の位置を Backcross panel あるいは T31 Radiation Hybrid panel を用いて検討し、9 つの遺伝子のうち、SEZ 4、9、15 の 3 つの遺伝子が、ヒトにおいて解明されているてんかん遺伝子の遺伝子座位から近い領域に位置することを明らかにした。また、9 つ全ての SEZ 遺伝子がマウス染色体上にマップできた。けいれん関連 SEZ 遺伝子のマッピングは、てんかん分類の再構成、発症機序の解明、新たな治療法の開発や発症予防の究明などにつながることを考えられ、本研究で明らかとなったてんかん関連 SEZ 遺伝子の遺伝子座と、ヒトでの発現を比較することにより、てんかん原因遺伝子の探索が可能となると思われる。

PTZ 感受性遺伝子の染色体座の決定

楢本 史生 (谷 覺 教授)

てんかんは高発症率の神経疾患であるにもかかわらず、その根本的な原因は不明で、その治療は対症療法にとどまっている。一方、抗てんかん薬のスクリーニングに用いられる pentylentetrazole (PTZ) は、痙攣発現において、てんかん痙攣発作と類似した点がみられ、マウスにおける PTZ 痙攣発現に関わる遺伝子を同定することは、てんかん原因遺伝子の探索、てんかん治療薬の開発にとって重要であると思われる。

PTZ 感受性遺伝子の染色体座の決定を試み、PTZ 尾静脈投与による痙攣発現を指標に感受性の異なる 2 系統の近交系マウスを選別した。即ち、DBA/2J を PTZ 感受性の高いマウスとして、C57Bl/6J を PTZ 感受性の低いマウスとして選抜した。さらに両系統の RI 近交系 BXD の 25 line を使用して PTZ 感受性を調べた結果、各 line 間で感受性に差が認められた。そこで C57Bl/6J と DBA/2J の F₂ (BDF₂) を作成し、PTZ 感受性を調べた。BXD の表現型を I~V に分類し、多因子連鎖解析を行った結果、Chr. 2 に強い連鎖が認められた。

この Chr. 2 についてマイクロサテライトマーカーを用い、235 個体の BDF2 の多型判定を行い、PTZ 痙攣感受性により、多因子連鎖解析を行った結果、電圧依存性カルシウムチャンネルの 2 サブユニットの *Cacn b2* および 4 サブユニットの *Cacn b4* の近辺の 2 ヶ所に高い linkage を認めた。自発性痙攣を起こす lethargic(lh)マウスは、カルシウムチャンネル 4 サブユニット遺伝子 (*Cch b4*) の変異により、痙攣を起こすことが知られている。しかし、C57Bl/6J と DBA/2J の *Cacn b2* と *Cacn b4* を中心とした領域の塩基配列は全く同じであり、PTZ 感受性部位と *Cacn b2*, *Cacn b4* との関係は現在のところ不明であり今後の研究の進展が期待される。

Prostaglandin E₂ のラット初代培養肝実質細胞に対する増殖促進作用についての研究

大澄 幸恵 (谷 覺 教授)

肝再生現象は肝細胞の壊死や肝臓の一部が外科的に切除されたときに、静止期にあった残余の肝実質細胞が刺激を受けて増殖を開始し、元の容積に戻ると自動的に増殖を終了するというものである。この現象は、古くから知られているが多くの増殖因子などの化学的因子や細胞密度などの物理的因子などが複雑に関与しているため、そのメカニズムについては解明されていない点が多く残されている。本研究では、初代培養肝細胞実験系を用いて肝実質細胞増殖の修飾因子といわれているプロスタグランジンのうち、とくにプロスタグランジン E₂ (PGE₂) に焦点をあてて、肝実質細胞の増殖に対する効果とそのメカニズムの検討を行った。

その結果、以下のような新しい知見が得られた。1) プロスタグランジン E, F, D シリーズのうちで、PGE₂ が単独で肝実質細胞の増殖を促進した。2) PGE₂ の誘導体である 17-フェニルトリナー PGE₂ (17-pt- PGE₂) の増殖促進効果が最も強力であった。3) PGE₂ および 17-pt- PGE₂ の効果は、EP₁ 受容体遮断薬により拮抗された。4) 17-pt- PGE₂ の効果は、アドレナリン作動性 β_2 受容体作動薬との併用により増強され、 β_2 作動薬により抑制された。5) 17-pt- PGE₂ の肝細胞増殖促進効果は、ゲニスタイン、ワートマニン、PD 9 8 0 5 9、およびラバマイシンというシグナル伝達因子遮断薬により完全に抑制された。よって、EP₁ 受容体を介するプロスタグランジン類は、単独で肝実質細胞の増殖を促進する重要な因子であること、また、その効果はアドレナリン作動性調節を受けることが示された。

化学物質の抽出ヒト皮膚透過性を予測できる代替人工膜の調製に関する研究

松田 亜来 (谷 覺 教授)

日本において、化学物質の抽出ヒト皮膚透過性を評価するには、ヒト皮膚の供給と確保が困難な状況にあることから、それを予測評価できるような代替手段が必要である。また、動物による代替もまたこれからは難しくなってくる。そこで、本研究では抽出ヒト皮膚透過性を予測できる代替人工膜の調製を試みた。

化学物質のヒト皮膚透過性が皮膚最外層の脂質で満たされた角質層により制限されていることから、脂溶性合成高分子を主体として、人工膜の中に水溶性ルートを形成しうる水溶性高分子からなる共重合体を種々仕込み量で合成しその過程で膜を調製した。調製した人工膜を用いて脂溶性度の異なる数種の化学物質を選び、人工膜透過性を評価した。その結果、試験した化学物質のうち、脂溶性化学物質の人工膜透過性はヒト皮膚にほぼ近い値を示し、この人工膜を用いることで脂溶性化学物質のヒト皮膚透過性を予測できると考えられた。しかしながら、水溶性の化学物質の人工膜透過性はヒト皮膚透過性から予測される値、よりも低く、さらなる合成高分子共重合体の改善が必要であると思われた。

遺伝的白内障モデルラット (UPL ラット) における SOD の発現

大坂 紀子 (谷 覺 教授)

白内障の発症には種々の原因が考えられ、何らかの原因によって眼球内の成分間の均衡が破れると、水晶体が不可逆的に混濁し白内障が惹起される。その原因の一つとして「酸化・還元の不均衡」があり、これは活性酸素が脂質過酸化反応を進行させることに起因する。そこで、遺伝的白内障発症モデルラット (UPL ラット) における白内障発症要因を解明するため、活性酸素の除去に關与するスーパーオキシド・ディスムターゼ (SOD) の変化と白内障発現との関連性を検討するため、各組織内 SOD 活性ならびに SODmRNA 発現量の測定、SOD cDNA による SOD 遺伝子の塩基配列、SOD 遺伝子発現調節遺伝子の塩基配列の同定確認を行った。

方法として 組織内 SOD 活性の測定は、正常ならびに UPL ラットの各組織(眼球・脳・肝臓・腎臓)を用いて大柳の方法に準じて行った。SODmRNA 発現量の測定は各組織より総 RNA を抽出し、これ RT-PCR 法を用いて測定した。組織内から得られた SODmRNA から RT-PCR 法により SOD cDNA を合成し、その塩基配列を決定した。SOD 調節遺伝子 cDNA の遺伝子配列の同定は、各ラットから染色体 DNA を抽出し、PCR 法により増幅した SOD 調節遺伝子 cDNA の遺伝子配列を決定した。

各組織での SOD 活性測定の結果、正常および UPL ラットの肝臓及び腎臓内総 SOD 活性は同程度であったが、UPL ラットにおける脳、眼球内総 SOD 活性に有意な減少が認められた。そこで、染色体 SOD 遺伝子の塩基配列の変異に伴う SOD タンパク質の変異によるものか、また mRNA への転写段階の減少に基づくものかについて検討する目的で、両ラット染色体中 SOD 遺伝子の塩基配列を決定した結果、両ラットのそれに差は認められなかった。さらに、組織内 SODmRNA 発現量を測定したところ、UPL ラットの脳および眼球で減少傾向が認められた。このため、染色体中 SOD 遺伝子から mRNA への転写課程に何らかの変異が起きているのではないかと考えられた。そこで、UPL rat と正常ラットの SOD 調節遺伝子 cDNA の遺伝子配列を比較したが、両ラット間での差は認められなかった。

寒天ゲル挿入ラットを用いた薬物の皮内及び皮下移行動態解析

薬学専攻 川染 麻子 (従二 和彦 教授)

皮膚適用製剤の開発において、薬物の低い皮膚透過性が問題となってきた。この問題を克服するために種々吸収促進法が考案され、様々な薬物の皮膚適用が可能になったが、適用した薬物の皮内動態は未だに明らかでない。本研究では、ラットの腹部皮下2ヵ所に薬物のレシーバーとして寒天ゲルディスクを挿入し、ゲルに移行した薬物量から皮下移行動態を解析する *in situ* 実験法を構築した。この *in situ* 実験法の有用性をフルルビプロフェン (FP) 及びニコチン酸エチル (EN) の *in vivo* あるいは *in vitro* 実験と比較評価した。

寒天ゲル挿入ラットの片方のゲルの真上の皮膚表面に FP を適用した後に皮内に入った薬物量のうち 99.8%が全身循環系へ、0.2%がゲルへ移行したことが明らかとなった。また、適用側ゲル中薬物量のうち、84.0%が製剤から直接移行したもので、16.0%が全身循環系から再分布したことが示された。さらに FP の *in vivo* での筋肉への累積移行量と *in situ* のゲル中累積移行量はほぼ同オーダーで、本 *in situ* 実験法が *in vivo* に近い系であることが明らかとなった。

皮膚中及び血中で容易にニコチン酸 (NA) に代謝される EN の *in situ* 皮膚適用実験では、全身循環系及びゲルへの移行率はそれぞれ 95.2, 4.8%であった。また、この 4.8%のうち製剤から直接移行した EN と NA、及び全身循環系から再分布した NA はそれぞれ 0.51, 4.25, 及び 0.04%であった。*in vivo* 実験の血中濃度及び筋肉中累積移行量は *in situ* の結果とほぼ同値であった。一方、*in vitro* の累積皮膚透過量及び代謝率は *in situ* のほうが高い値を示した。これは EN と NA の物性の違いによる皮内血管移行性、皮内の拡散性、及び皮内血流の薬物除去による皮内薬物濃度の低下などが原因であると思われる。

以上の結果より、本法は同一の個体から、皮内に入った薬物の挙動を把握できることが明らかとなった。さらに、本実験系は皮膚適用した薬物の皮内動態を経時的に観察でき、血流の寄与及び皮内代謝を含んだ複雑な皮内動態の解析が可能で、より *in vivo* 系に近い実験系であることが示された。

皮下注射後の投与部位における薬物動態に及ぼすリポソーム併用の影響

薬学専攻 渋谷 清香 (従二 和彦 教授)

皮下注射後の投与部位での薬物動態は各々の薬物や投与溶媒の物理化学的性質や用量に依存していると考えられる。しかし、皮下注射による薬物の標的化を目的として、投与部位及びその近傍組織での薬物動態を制御しようとする試みは少ない。

そこで、リポソームと薬物との混合製剤を用い、皮下注射後の投与部位における薬物動態 (滞留性、分布) に及ぼすリポソームの影響について検討した。モデル薬物には近年、抗リウマチ薬としても使用されているメトトレキサート (MTX) を選択した。リポソームには調製が簡便で、粒子径が制御された凍結乾燥中空リポソーム COATSOME-EL-SERIES (日本油脂株式会社) の正電荷、ニュート

ラル、負電荷の三種を用いた。COATSOME は脂質の持つ荷電を利用したイオン吸着型のリポソーム製剤である。したがってリポソーム製剤の調製に際しては、単純混合リポソーム製剤（COATSOME に種々濃度の薬物溶液を注入）と水和リポソーム製剤（COATSOME に蒸留水を注入し、30 分放置してから薬物溶液を注入）を選択した。ウイスター系ラットの腹部にこれらリポソーム製剤を皮下注射し、投与部位の皮膚、その直下の筋肉及び血中 MTX を測定したところ、単純混合リポソーム製剤では MTX 溶液を投与したときに比べて吸収速度の低下が観察され、また、皮膚中量は上昇し、AUC では逆の関係がみられた。筋肉中量には有意差は無く、リポソーム製剤中の遊離 MTX は速やかに筋肉へ移行し、リポソーム自体は容易に筋肉に移行しないことが示唆された。さらに MTX/脂質量比の小さいリポソーム製剤の方が皮膚および筋肉中量は高かった。水和リポソーム製剤では皮膚および筋肉中量は単純混合リポソーム製剤に比べ低く、予め水和したリポソームでは薬物とリポソームの相互作用が減少することが示唆された。

以上の結果、皮下注射とリポソームの併用は薬物の投与局所滞留性を向上するのに有用であることが示唆された。

多剤併用時にみられる重大な副作用重複の現状と問題点の検討

渡辺 直（森本 雍憲 教授）

多剤併用の問題として薬物相互作用がある。特に酵素系を介した薬物の代謝拮抗や阻害については広く研究されており、重篤な副作用を招く可能性のある組合せについては、併用禁忌として添付文書に記載されている。一方、少数ではあるが併用禁忌の組合せの中に類似の副作用重複のケースがある。しかしながら、多くの薬物には重大な副作用が知られており、多剤併用時にこれら副作用が重複することはかなりの数に上ると推定される。そこで、本研究では多剤併用時の重大な副作用重複の現状について調査した。コード化：医薬品の副作用重篤度分類基準グレード3に分類される副作用 177 種、およびその他の副作用として錐体外路障害と眠気を 5 桁にコード化した。データベースの作成：獨協医科大学越谷病院で使用される医薬品の医薬品コード、名称、副作用コード、副作用名称をマスターファイルに登録した。データベースソフトとしては Microsoft Access97 を使用した。処方箋の入力：獨協医科大学越谷病院一般内科、循環器内科、呼吸器内科から発行された平成 11 年 4 月 19 日～28 日までの外来処方箋 1849 枚のうち、2 種以上の内服薬が処方された 1240 枚を入力した。入力した処方箋 1240 枚のうち 936 枚（75%）に副作用重複がみられた。処方箋一枚では平均 3.2 件（眠気を除くと 2.5 件）であった。重複の多い副作用は、眠気 21.9%、ショック 9.9%、皮膚粘膜眼症候群 7.6%、骨髄抑制 6.8%、白血球減少症 6.4%、中毒性表皮壊死症 6.2%、紅皮症 5.8% であった。薬の組合せでみるとニフェジピンとアスピリンによる紅皮症の重複が 38 件、フロセミドとアロプリノールの骨髄抑制が 25 件などであった。今回の調査から、副作用の重複が多く存在し、中には発現確率を上昇させることが推定される組合せがあることが明らかとなった。したがって、重複情報を把握した上での薬歴作成、服薬指導、さらには副作用発現頻度のモニターが重要であり、それらを通して副作用を未然に防ぐことが必要であると考えられた。

医薬品市販後に追加される重大な副作用と服薬指導の在り方

佐次田 優子（森本 雍憲 教授）

【はじめに】薬剤師法25条の2施行以来、患者への情報提供が注目され、また先のPL法の施行は、適正使用の情報を伴わない医薬品は製造物として欠陥のあることを明確にした。そのため、市販後の新規副作用の追加を含めた添付文書の改訂は、医薬品の信頼性、安全性を確保する上で重要なものとなってきている。市販後モニターの結果を速やかに添付文書に反映させ、いかにして副作用の被害を最小限に抑えるかが、現在の重要な課題である。市販後に見出される副作用は多く、添付文書の改訂として医療機関に報じられる。しかし新規副作用が追加された時点では既に副作用の発現した患者が居ることになり、副作用を未然に防ぐことにはならないと考えられる。そこで、本研究では、市販後に報告された重大な副作用を調査し、臨床試験の段階で発見されなかった副作用の傾向を分析し、副作用を未然に防ぐための服薬指導法について検討した。

【薬効分類別集計と服薬指導文書の作成】全医薬品を薬効別に分類し、市販後に追加になった重大な副作用を集計したところ、薬効別に特徴が認められた。全ての医薬品の集計結果では、血液障害は市販後85%の医薬品に追加され、以下、循環器障害62%、ショック60%、呼吸器障害55%が上位を占めた。薬効別では、中枢神経系用薬では中枢神経系障害が75%、循環器官用薬では循環器官障害が93%、呼吸器官用薬では呼吸器障害が75%と、主作用と同様のカテゴリーでの重大な副作用の現れることが明らかになった。また、抗生物質製剤では90%の医薬品に皮膚障害の重大な副作用が追加されることが明らかとなった（図1）。

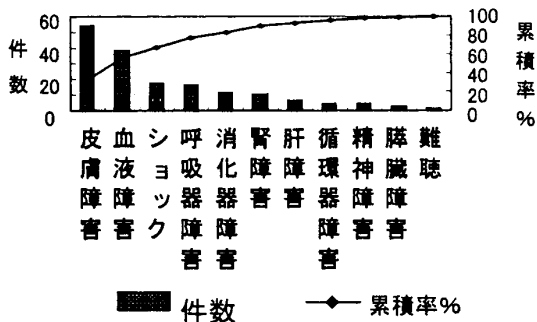


図1. 抗生物質製剤と ABC 解析

発熱、咳、喉の痛み、体がだるい、といったかぜの様な症状、腹痛、下痢、皮膚のかゆみ、発疹、といった症状が現れたら、薬が体に合わないこともあります。次に薬を飲む前に連絡してください。

図2 抗生物質製剤の服薬指導文書

【服薬指導文書の作成】薬効別に追加される副作用に特徴があるため、それらの副作用の初期症状を患者に伝えるための服薬指導文書を作成した。この文書は、患者を副作用被害から守ることに主眼をおくため、添付文書に記載がなくても、その後高い確率で追加される重大な副作用の初期症状を頻度別にまとめ文書化した。抗生物質製剤の例を図2に示す。

【考察】臨床試験の段階で発見される重大な副作用は少なく、新薬の添付文書に基づいて、服薬指導文書を作成すると、副作用の少ない薬である様な印象を受ける。しかし、市販後に重大な副作用が多発し、多くの被害者を出した例は枚挙にいとまがなく、新薬こそ、未知で危険なものとの認識が重要であり、その観点から、出現が予測される副作用については、予めその初期症状を患者に伝えることは重要である。

パップ剤の放出試験法の検討

杉本 通（森本 雍憲 教授）

今日、我が国において広く用いられるようになった経皮吸収型製剤の品質を評価し、一定の水準を確保することは必須であり、簡単でかつ正確に評価できる方法が望まれている。その方法の一つに放出試験法があると考えられるが、日本薬局方には記載されていない。そこで、この試験法確立を目的とし、まず、日本古来のパップ剤に着目し放出試験法について検討を加えた。汎用性を考慮し、試験装置は日本薬局方溶出試験法の第2報（パドル法）の準拠した。ただし、パップ剤の固定には USP24 のディスクアセンブリ(DA)を用いた。被検製剤としてインドメタシン含有市販4製剤(A, B, C, D)およびフルルピプロフェンを含有する3製剤(E, F, G)を用いた。膨潤性と放出性との関係は(1)パップ剤を固定した DA の上部に目盛りを刻んだ透明な円筒の枠を固定し、経時的に厚みの上昇と放出量を測定した。また、(2)枠を取り付けずに、自由に膨潤させる試験を行った。さらに、(3)パップ剤の表面に濾紙を貼り付け、DA に装着した後、上面を金網で固定して膨潤の起きない条件で試験を行った。パドル回転数の影響はパドルの回転数を 50, 100 および 200 rpm で試験した。被検製剤 A および E は、(1)および(2)の試験で、ロットによってはパドルの回転数とは無関係に基剤が崩壊した。一方その他の製剤では、吸水・膨潤して約 20 倍に重量が増加した。B, C, D および F, G の放出量は 50 rpm に比べ 100 および 200 rpm で高い傾向にあったが、100 と 200 rpm に差は認められなかった。(1)の試験では膨潤性と放出性に有意な相関性は認められなかった。(1)および(2)いずれの試験においても放出性はほぼ等しかった。しかし、(3)の試験では、B, C, D の放出量に差が見られ、その累積放出量のプロファイルは時間の平方根に対して直線性を示し、膨潤の無い条件ではマトリックス型の放出を示す傾向が見られた。以上の結果から、パップ剤の放出試験は膨潤体積によって放出性の違いを検出できる感度が異なるものと思われた。

手術目的で入院した眼科患者の薬に関する理解度の調査と課題

園田 有加 (森本 雍憲 教授)

日本通運東京病院(以下、当院)の眼科の入院患者は、他院からの紹介による老人性白内障の手術を目的とした患者が多い。また患者のほとんどが高齢者であるため、様々な疾患を併発し、複数の薬剤を服用しているのが現状である。今回、薬剤情報提供用紙による服薬指導が困難な白内障疾患患者に対して、他院で処方された患者が服用している薬に対してどのくらい理解しているかを薬剤管理指導記録にて調査した。

平成11年3月28日から6月3日までの期間に、手術の目的で眼科病棟に入院し、薬剤管理指導を行った患者を対象とした。初回面談記録などから、患者の持参薬について、診療を受けている病院・受診科・処方薬品名・薬効・用法用量・副作用などに関する理解度を調査した。手術前に点眼する目的で当院から処方された点眼薬のみを服用していた患者は除外し、持参薬には含めなかった。病院数は複数の科を受診していても1病院とした。対象患者は69名で、66名が白内障患者であり、平均年齢は74.3歳であった。高齢者が多いことより、眼科以外の疾患で服用している薬剤が多く、持参薬のある患者は61名で、受診している病院数は1~4カ所であった。1カ所でも薬剤情報提供用紙の配布が行われていない病院を受診している患者は51名であり、その多くは小規模病院を受診していた。持参薬(内服薬)は、1~14種類で平均約5種類であった。処方薬品名・薬効・用法用量をよく理解している患者は48名で、薬剤情報提供用紙の有無に左右されなかった。しかし、薬剤情報提供用紙を配布されていない薬剤に関しては、副作用の知識がなかった。このことから、副作用の早期発見のためには薬剤情報提供が不可欠であり、また、白内障患者では視力が低下していることから、服薬指導の際には口頭による情報提供を行うことが必要であることが明らかとなった。

薬物の乳汁移行量の予測に関する予備的検討

洪 永姫 (森本 雍憲 教授)

母乳で育児中の母親が薬を服用する場合、服用した薬のどれくらいの量が乳汁中へ分泌され、さらに母乳を飲んだ乳児がどれくらいの薬物を摂取するかということに注意する必要がある。しかし、大部分の医薬品の添付文書では、乳汁中への移行性については明確な情報が示されていない。そこで本研究では、20~30代の妊娠可能な女性に繁用されている医薬品の調査を行い、臨床の場で応用されているBegg, Atkinson and Darlowらの示した予測式を用いて(Drug Data Handbook)、薬物の乳汁移行量の予測と安全性について検討を加えた。20~30代の女性に最も繁用されている医薬品について処方せんを基に調査した。薬物の乳汁移行量を計算するために必要なパラメータであるpKa、オクタノール/水分配係数、血漿タンパク結合率を医薬品のインタビューフォームを用いて調査したが、不十分なものについては製薬会社に問い合わせるとともに、分配実験、タンパク結合実験より求めた。20~30代の妊娠可能な女性に繁用されている医薬品はNSAIDs、抗生物質、消化器官用薬、抗アレルギー薬などであり、慢性疾患に関連する医薬品の使用頻度は低かった。これらの医薬

品についてインタビューフォームを調査したところ、乳汁移行性予測に必要な上記 3 つのパラメータがすべて得られたものはほとんどなかった。また、製薬会社への問い合わせにおいても、十分なパラメータは得ることができなかった。そこでいくつかの医薬品について不足しているパラメータを実験的に求め、上記の式を基に乳汁移行量を見積もった。以上の調査・検討から、授乳婦に対する臨床試験が、困難な現状を考慮して、日本における常用医薬品のこれらパラメータの整備と予測式の信頼性を高めることおよび乳汁移行量の定量的表現と安全性に関する添付文書へのわかりやすい記載が今後の課題であると思われた。

小児のぜん息治療を目的として試作したテオフィリン軟膏の評価

武藤 香絵（森本 雍憲 教授）

小児科領域では、喘息発作に対し経口以外の方法で投与でき、かつ長時間作用型のテオフィリン製剤が望まれている。木津らは、種々基剤のテオフィリン軟膏を試作し、動物実験でその有効性を示唆した。しかしこの時、基剤中のテオフィリン含有量を増やしても血中濃度の上昇しないケースが認められた。そこで本研究では、その原因が軟膏基剤中でテオフィリンが溶解度を越え飽和したためと考え、軟膏基剤中での薬物溶解度の測定を試みた。さらにテオフィリンの経皮吸収動態に影響する因子について評価し、テオフィリン軟膏のヒトへの適用によって薬効発現が可能であるかを検討した。

三種の測定方法（顕微鏡法、ろ過法、超遠心法）より軟膏基剤中のテオフィリン溶解度はおよそ 4.0mg/g であることが確認され、先の研究で見られたようにテオフィリンの仕込量を増やして行っても血中濃度が上昇しなかったのは、既に飽和状態であったためと考えられた。ラットでの *in vivo* 経皮吸収速度は 128 $\mu\text{g}/\text{h}/\text{cm}^2$ で *in vitro* に比べおよそ 6 倍高い値を示した。この差が生じた原因として拡散距離の影響を考えたが、それのみでは説明できなかった。しかしながら、少なくとも本軟膏基剤では *in vitro* から *in vivo* へと実験系を移行しても、問題とされる血流律速や皮膚中での薬物の沈殿などの障害が認められないことが示唆された。また、ヒト皮膚適用時に薬効の発現が期待されるテオフィリン濃度を得るためには、最低でも 1000 cm^2 の塗布面積が必要となることが分かった。しかしながら、有効血中濃度に到達するのに 7 時間以上の時間を必要とすることや、今回目標とした 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ では濃度が低く効果のない患者が居ることなどから、臨床適用のためには溶解度の増加や基剤の工夫によって経皮吸収性をさらに上昇させることが必要であると考えられた。

薬の写真をのせた薬袋による情報提供の有用性評価：写真入り情報提供せんとの比較

吉田 博之（森本 雍憲 教授）

調剤した医薬品の情報提供は薬物療法の安全性、有効性を高める手段として期待されている。しかし、情報提供の結果がどのように薬物療法に反映されているかを知ることは難しい。患者に理解しやすい情報提供を行なう目的で開発された薬の写真と説明を直接薬袋に印字する方法（薬袋方式）と、これまで広く用いられてきた写真入り情報提供せん（情報せん方式）について、利用状況と利点についての比較検討を行なった。薬袋方式あるいは情報せん方式を利用している薬局で、薬の説明を読む頻度として「（１）飲むたびに読む、（２）読み返すことが多い、（３）たまに読む、（４）めったに読まない」利点として「（５）飲む量や時間を間違わない、（６）飲み忘れが経る、（７）薬の名前が覚えられる、（８）効き目が覚えられる、（９）他の病院などで説明ができる」とし、患者に対してアンケート調査を行なった。回収枚数は921枚であり、薬の説明を読む頻度については情報せん方式の（１）が10%であるのに対し、薬袋方式では18%と高率であった。また、薬袋方式では（１）と（２）の合計がほぼ50%に達した。利点としては方式に無関係に、（８）あるいは（９）が50%を越え、薬識の向上に寄与しているものと思われた。一方、（６）は16%と低く、情報提供によって飲み忘れを減らすことは難しいと思われた。これらの結果から薬袋方式は情報せん方式に変わりうるものと考えられた。

フルオシノニドの軟膏からの皮膚移行性に及ぼす基剤の影響

医療薬学専攻 伊藤 真由子（杉林 堅次 教授）

軟膏剤の調製では十分量の薬物を皮膚に移行させるため、適切な基剤を選択し薬物濃度を設定しなければならない。しかし、現在の基剤選択では被覆性、水分吸収性、使用感などが重視され、薬物皮膚移行性はほとんど考慮されていない。そこで、薬物の皮膚移行性に及ぼす基剤の種類並びに基剤中薬物濃度の影響を白色ワセリン（WP）、マクロゴール（M）の2種の基剤と合成副腎皮質ステロイドであるフルオシノニド（FN）を用いて検討した。

はじめに、軟膏基剤への薬物溶解性を測定するため高速遠心法を確立し、既存の方法である顕微鏡法と比較して溶解性を評価した。その結果、WPではFN溶解度は極めて低く、MではWPの約17,000倍の数値を示し、FNはMによく溶解することが明らかとなった。この結果は顕微鏡法の結果ともよく相関した。次に、軟膏基剤からの薬物放出性をHiguchi式を用いて評価し、同時に先に得られた溶解性との相関を検証した。得られた放出挙動がHiguchi式に従ったことから、放出性の差は両基剤のFN溶解度の違いを反映したものであると思われた。さらに、軟膏からの薬物皮膚移行性をヘアレスラット腹部皮膚を用いた*in vivo*及び*in vitro*実験系で評価し、薬物溶解性との関係を考察した。飽和量以上のFNを含む軟膏を皮膚適用した場合、一定の皮膚移行性を示すと思われたが、*in vivo*皮膚適用実験では全層皮膚ならびにストリプト皮膚中FN濃度は上昇し続けていることが明らかとなった。また、皮膚中FN濃度に飽和はみられなかった。*In vitro*皮膚適用実験の結果も同

様であった。

これらの結果から、適用する軟膏中の FN 量が増えれば、その薬物の軟膏基剤に対する溶解性に関わらず、皮膚中に移行する薬物量が増加することが示された。さらに、FN の皮膚移行性は熱力学的活量の概念に従わないことが明らかとなった。

サリチル酸の皮膚透過に及ぼす鍼灸処理の影響に関する研究

医療薬学専攻 北畠 智富 (杉林 堅次 教授)

近年、薬物の経皮吸収促進を付与した製剤として無針注射器や注射型貼付剤などが治療に供されている。東洋医学の鍼灸療法もまた経皮吸収促進法のひとつとしての有用性が期待される。そこで、鍼灸療法と経皮吸収型製剤を併用させることにより、相互にそれぞれの長所・短所が補われ、今まで以上の治療効果を得ることができるのではないかと考えた。本研究ではモデル薬物としてサリチル酸ナトリウムを選択し、針灸処理が及ぼす薬物皮膚透過性への影響を *in vitro* で評価した。

鍼の吸収促進効果を検討するため、ヘアレスラット腹部皮膚をディスク BCG 接種用管針（鍼の代用品）で中心部に 1 回および 3 回ずつ、または 3ヶ所に 1 回および 3 回ずつ穿刺し、直後に皮膚を摘出した。また、灸の場合には同様に中心部に灸 1 個を高さ 1 ~ 4 mm、または灸 3 個を高さ 2 ~ 3 mm の台座に据えて処理した直後に皮膚を摘出した。これらの摘出皮膚は横型 2 チャンバー拡散セル（有効面積 0.785 cm²）に固定した。角質層側セル（ドナー側）にはサリチル酸ナトリウムを pH 7.4 リン酸緩衝液に懸濁させたもの（溶解度の 1.08 倍濃度）を、真皮側セル（レシーバー側）には pH 7.4 リン酸緩衝液を各 2.5 mL 入れ、レシーバー側から経時的に全量採取し、HPLC 法にて定量を行った。

これらの検討の結果、鍼処理時では中心部または 3ヶ所処理のどちらとも 1 回処理時より 3 回処理時の方がサリチル酸の皮膚透過促進率が高かった。また、中心部と 3ヶ所処理を比較すると、3ヶ所処理の方が高い透過促進効果が得られた。次に、灸処理時では、灸 1 個および灸 3 個処理のどちらとも台座の高さが低い方が透過促進された。また、灸 1 個と灸 3 個処理を比較すると、灸 3 個処理時の方が高い透過性を示した。

鍼や灸で処理した皮膚においてサリチル酸の透過促進効果がみられたことから、西洋医学の薬物療法と東洋医学の鍼灸療法を併用させることにより治療効果がより高く得られ、臨床への応用が可能であると考えられた。

超アルカリイオン水およびそのゲルの医療応用に関する研究

医療薬学専攻 平野 享 (杉林 堅次 教授)

強アルカリ性を示す水溶液は殺菌作用や洗浄作用、可溶化作用などの有用な性質を持ちあわせている。しかし、強アルカリをヒトに適用した場合その安定性や細胞傷害性が問題となる。そこで、対イオンが少ない高機能性アルカリイオン水、ERIC S-100 (S-100) および瞬間ゲルイオン水、ERIC GE-100 (GE-100) に着目した。これらイオン水は特殊な処理で得られる物理的に電子 (OH^-) を過剰にしたイオン水である。S-100 および GE-100 の両製品は、強いアルカリ度を持ち、約 pH 12 を示す。この 2 製品について医療応用への基礎的検討を行った。はじめに、安定性および細胞傷害性の確認のために pH 安定性を確認し、さらに 3 次元ヒト培養皮膚 (LSE-high, 以下 LSE) を用いた細胞傷害性の有無について検討を行った。また、粘度の調整法に関して検討を行った。次いで制酸剤としての応用を検討するために pH 滴定試験を行った。さらに、これら製品の強アルカリ性から得られる殺菌作用を期待して消毒補助剤への応用を検討した。最後に外用剤基剤としての応用を検討するため、皮膚保湿性試験を行った。また、塩基性薬物であるトロピセトロンと酸性薬物であるサリチル酸を用い、皮膚透過実験を行った。

これら試験の結果、pH は、30 日間に亘り低下が見られず、十分な安定性が確認され、また、S-100 は細胞傷害性もほとんど見られなかった。粘度は合成ヘクトライトを用いることにより容易に調整が可能であった。制酸剤および消毒剤としても有用であり、皮膚保湿性も優れており、塩基性薬物の皮膚透過促進作用も見られた。以上より、これら 2 製品の医療応用の可能性が示唆された。

ジェットインジェクターと熱応答性ゲルを用いた薬物の経皮吸収の on-off 制御

医療薬学専攻 増岡 朋子 (杉林 堅次 教授)

硫酸ゲンタマイシン (GM) は間欠 (on-off) 投与を必要とするため、患者負担が大きく、簡易な投与方法の開発が求められている。すでに本研究室では、無針圧力注射器であるジェットインジェクター (JI) を用いて角質層に小孔を形成することで GM を皮膚からほぼ 0 次速度で注入できること、またこの吸収速度は JI によって形成させた小孔を通る溶媒流に依存するため予測しうる値を示すことを報告している。また、ハイドロゲルの一つであるプルロニックは低温でゾル、高温でゲルとなり、種々医薬品製剤の研究に応用されている。

そこで著者は、JI とプルロニック F-127 (PF-127) を併用し、GM の経皮吸収を on-off する DDS の構築を検討した。まず、25 w/w% PF-127 水溶液および 3 w/v% GM / 25 w/w% PF-127 溶液 (PF-127 製剤) の種々温度で粘弾性挙動を回転粘度計により測定したところ、約 12 以下ではゾル、14 以上でゲルとなった。次に角質層剥離皮膚と縦型セルを用いて透過実験を行った。その結果、ゾル、ゲルともに 1,2 時間の lag time の後に定常状態を示した。また、透過 (flux)、分配 (flux \times lag time)、及び拡散 ($1/\text{lag time}$) のパラメータをアレニウスプロットしたところ、直線とならず、分配パラメータが flux に影響を与えているが示唆された。また、10 (ゾル) で GM の flux

が最も上昇することが認められた。そこで、同濃度（3 w/v%）の GM 水溶液および PF-127 製剤からの GM の JI 処理皮膚透過性を 10 と 37 で比較した。その結果、10 では PF-127 製剤は水溶液に比べ約 50 %程度の透過量であったが、37 ではほとんど透過が認められなかったことから、on-off 投与ができることが示唆された。以上の結果、JI 処理と PF-127 製剤を用いて適用温度に応じた薬物の on-off 制御が可能であることが明らかとなった。

ポリソルベート 80 添加によるポリ塩化ビニル製輸液セットからのジエチルヘキシルフタレート溶出機構に関する研究

医療薬学専攻 浅川 浩樹（杉林 堅次 教授）

現在、病棟で汎用されている輸液チューブの多くはポリ塩化ビニル(PVC)製であり、可塑剤としてジエチルヘキシルフタレート(DEHP)を含有している。しかし、この DEHP は厚生省も内分泌攪乱作用を有する疑いのある物質として指定している。PVC チューブからの DEHP の溶出は難水溶性薬物の注射剤に添加されている可溶化剤により引き起こされると考えられているが、その詳細は明らかになっていない。

そこで本研究では難水溶性医薬品に添加される Tween 80 がミセルを形成することに着目し、DEHP 溶出との関連性を検討し、輸液チューブから輸液中への溶出機構の解明を試みた。輸液ポンプを用いて種々の濃度、流速で Tween 80 溶液を輸液チューブを通して滴下し、流出したサンプルにて DEHP の累積溶出量を求めた。注射用水、生理食塩液、30%および 50%ブドウ糖注射液中に種々濃度の Tween 80 を添加した試料について、流速の影響も含めて溶出挙動を測定した。その結果、Tween 80 の臨界ミセル濃度(CMC)以下の濃度においても DEHP の溶出が認められ、遊離の Tween 80 分子にも DEHP の溶出を促進する作用が認められた。CMC 以上の Tween 80 存在時の DEHP 溶出には、ミセル形成による可溶化が重要であるとともに、ミセル可溶化以外の流速に関係するような他の要因、例えばミセル粒子のチューブ管壁への衝突や Tween 80 分子の溶液中の拡散性などの因子も溶液中への DEHP の溶出に影響を与えうることが示唆された。

クエン酸フェンタニールの LC/MS/MS 装置を用いた定量とラットにおける体内動態

医療薬学専攻 坂井 祐紀子（杉林 堅次 教授）

合成麻薬であるフェンタニール(FTN)は、その鎮痛作用がモルヒネの 80 倍といわれており強力な鎮痛剤であるが、その作用持続時間は短く、持続的な疼痛を管理する目的では本邦で用いられていない。一方欧米では、持続性の鎮痛作用が得られる FTN の全身作用性経皮薬物送達システムの開発が行われている。FTN の体内動態の評価はこれまでラジオアイソトープ法、またはラジオイムノアッセイ法など放射性物質が取り扱える研究設備を要する方法により多く行われてきた。高感度のガスクロマトグラフ-質量分析法はいくつか報告されている。一方、種々の薬物を誘導体化すること

なく分析できる HPLC と MS を組み合わせ、常圧におけるイオン化技術を応用した LC/MS が実用化され、さらに MS を二段階で行う LC/MS/MS は極めて有用な方法である。本研究では、FTN の高感度測定に LC/MS/MS 装置が有用であると考え、LC/MS/MS を用いた血漿中 FTN の定量法の確立を試み、さらにラットにおける静脈内、経口、及び直腸内投与後の FTN の体内動態の評価を行った。

種々の条件を詳細に検討することにより、FTN のラットにおける血漿中濃度を 0.5 ng/mL - 10.0 ng/mL の範囲で測定可能な LC/MS/MS 法が確立できた。本法により、ラットにおける静脈内投与後の FTN の体内動態は、本実験での FTN 濃度範囲において、線形 2-コンパートメントモデルに従うこと、さらに FTN は、経口投与および直腸内投与において、初回通過効果を大きく受けることが示された。したがって、FTN の新投与経路としては、その影響が少ない肺への投与や、口腔粘膜への投与などが有望であることが示された。

呼吸器および心臓疾患における β_2 受容体遺伝子多型の頻度調査

小川 政彦 (駒田 富佐夫 助教授)

近年、 β_2 受容体遺伝子の塩基配列とその変異が明らかにされてきており、変異と薬効あるいは副作用との関連についても徐々に明らかにされてきている。そこで、 β_2 受容体作動薬を治療に用いる呼吸器疾患と、その副作用に不整脈・昇圧などがあることから心臓疾患に的を絞り、対象患者の遺伝子変異頻度を調査することで、変異と疾患の関係を明らかにすることを目的とした。

方法としては、対照者、呼吸器疾患患者、心臓疾患患者の末梢血または口腔粘膜からゲノム DNA を抽出し、 β_2 受容体遺伝子上の変異を含む部分 (アミノ酸 16 部位、27 部位ならびに 164 部位) を PCR 法で単離増幅した。この PCR 産物に制限酵素 (Nco、Bbv、MnI) を作用させ、アガロースゲル電気泳動法により遺伝子型を決定した。なお、検体を受ける際には、被験者から直接書面による同意を得た。

その結果、 β_2 受容体遺伝子の変異率 (変異型を含む対立遺伝子) は、16 部位において、対照者 73%、呼吸器疾患患者で 85% であり、対照者と呼吸器疾患患者の間には、その頻度に有意な差は認められなかった。しかしながら、心臓疾患患者でその変異頻度は 48% であり、対照者と心臓疾患患者との間には 16 部位多型において有意な差が認められた。その際、オッズ比は野生型/野生型で 2.9、野生型/変異型で 1.4、変異型/変異型で 0.2 であった。27 部位における変異頻度は、全対象で 15% ~ 18% であり、各群間において遺伝子多型に有意な差は認められなかった。しかしながら、海外の報告との間に 27 部位における多型頻度の違いが見いだされ、これは人種差によるものと考えられた。また、164 部位においては、全ての対象で変異型を含む多型は認められなかった。以上の結果より、 β_2 受容体遺伝子多型は、心臓疾患の発症に関与していることが示唆され、特に 16 部位多型が、野生型/野生型で心臓疾患の risk factor の一つになるものと考えられた。

用手法による散剤混合度の評価法の検討

川端 春乃（駒田 富佐夫 助教授）

散剤調剤では、他の固形製剤とは異なり混合操作が必要であり、調剤指針にはいくつかの混合操作方法が記されているが、その方法は基準化されていない。そこで今回、散剤混合操作方法の基準化のために、日常の調剤業務において繁用されている乳鉢・乳棒を用いる用手法による等量混合の混合度およびその評価方法について検討した。

少量の散剤を賦形するモデル薬剤として、2%エリスロシン（食用赤色 3 号アルミニウムレーキ）粉末乳糖を原末として用い、無着色の粉末乳糖または倍散用結晶乳糖（複合乳糖）を賦形剤として、原末と倍散を合わせた総量が 12g になるように秤量し、4, 8, 16, 32, 64, 128 倍散を調製した。原末に一度に賦形剤を加え混合する方法（一度に混合）と、原末と同量の賦形剤を加えて混合したあと、それらと同量の賦形剤を加えて混和する操作を各倍散になるまで繰り返す方法（等量混合）について比較した。各試料を蒸留水で溶解後、分光光度計を用いて吸光度を測定し、混合の程度を表わす尺度として変動係数を用いた。

その結果、粉末乳糖を賦形剤に用いた混合実験による混合良好の基準とされる 6.08% 以下の変動係数を示したものは 99% あり、倍散用結晶乳糖の場合のそれは 98% であった。したがって、若干ではあるが、賦形剤として倍散用結晶乳糖を用いる方法に比べて、粉末乳糖を用いた方が、一度に乳鉢に入れて混合および等量混合のいずれの場合にも、均質な混合度が得られることが明らかとなった。また、変動係数に及ぼす回転数の影響は認められなかった。しかしながら、本実験で用いた倍散用結晶乳糖は、粒度分布が工夫された賦形剤で、粒子径が 75 μm 以下の粉末から構成されている粉末乳糖に比べ、75 μm 以下のから 350 μm まで種々の粒子径から構成されており、種々の粒子径の散剤と混合可能でありなおかつ取り扱いやすい。そのため、より良好な混合を得るために、混合する原薬の粒子径や物性に依りて賦形剤を使い分ける必要があるものと考えられた。

調剤支援用シロップ剤データベースの作成とその試用

長谷川 健一（駒田 富佐夫 助教授）

調剤に際しシロップ剤の主として配合変化を簡単に検索することを目的にして、シロップ剤 113 銘柄に関するデータベース(680kB)を Microsoft Access を用いて作成した。このデータベースは、インタビューフォーム、添付文書、社内資料、文献から抽出した商品名、一般名、組成、添加剤、配合変化、薬用量など 16 項目のデータを搭載して検索でき、また成人薬用量から小児量を算出する機能を有している。これらのデータは、Microsoft Access を有していない施設のためのデータとして作成した Microsoft Excel の基本データ(226kB)を含めて 906kB であり、フロッピーディスク 1 枚に収まる。この基本データは、Microsoft Excel のフィルター機能を利用する簡易型データベースとして使用でき、ファイル変換により Windows CE、Macintosh 上でも利用できる。さらにこの基本データは、FileMaker Pro5 への変換により、LAN およびインターネットを介して、多数の人がこ

のデータを利用可能である。本データベースを使用した結果、113 銘柄中、1 銘柄あたり配合不適が平均 0.9 件、配合注意が平均 1.8 件、副作用として喘息発作を誘発する可能性が報告されているパラオキシ安息香酸エステル類を添加剤として含むものが 64 銘柄あった。また、小児薬用量の未記載が 26 銘柄（約 23%）に認められた。さらに処方せん調査を行った結果、シロップ剤の処方率は A 薬局で約 11%、B 薬局で約 2%であり、それらのうち A 薬局で約 34%、B 薬局で約 82%が配合可能であった。また、小児科におけるシロップ剤処方せんの 63%中に 3 剤以上の配合処方認められた。以上の結果より、本データベースは処方の作成支援および鑑査、調剤配合、患者指導時に有用なデータベースであることが示唆された。

In vitro 経皮吸収試験法 - OECD ガイドライン（案） - の評価に関する研究

黒須 淳一（荻原 政彦 助教授）

医薬品や化粧品等の有効性や安全性に関わる試験法は、動物実験を他の試験に置き換える、実験動物の使用数を減少させる、および現行の試験法を高度化、精緻化することにより試験をより簡略化するような方法へと移行しつつある。OECD もこの様な主旨に則ったガイドラインの作成を急いでいる。この中で、in vitro 経皮吸収試験法の OECD ガイドライン（案）が提出された。このガイドラインには生きた動物を使用する in vivo 経皮吸収試験をできる限り少なくするために、世界的に通用する経皮吸収試験の方法論が記載されている。しかし、その妥当性や日本の対応を評価する必要がある。そこで、本研究では、このガイドラインに則り in vitro 経皮吸収試験を行ない、ガイドラインの問題点を指摘した。

結果として、我が国においてはヒト皮膚の供給、確保をいかに行なうか、化学物質の薬動学的、薬力学的データの蓄積の不足、皮膚の integrity や viability を評価するための設備の不足、化学物質の選択基準となるような評価スキームの作成の必要性が考えられた。

注射薬調剤と情報提供に関する研究

白鳥 賢（荻原 政彦 助教授）

病院薬剤師の病棟業務に対する診療報酬として 1988 年に「入院調剤基本料（1993 年に薬剤管理指導料に名称変更）」が新設されたことを機に、注射薬と薬剤師との関係に変化が生じた。薬剤管理指導料は、病院薬剤師の業務の中で唯一、診療報酬制度上で経済的な評価を受けていることから、病院薬剤師は注射薬の適正使用の推進を通して医療の質の向上に寄与しなければならない。また、最近の厚生省医薬安全局課長通知（1999 年 6 月 4 日）では、「医薬品の適正使用を推進する観点から、注射薬の混合、患者への配薬、処置薬や消毒薬の調製などの薬剤業務についても、薬剤師が行う業務として位置づけられることが望ましいものであること」と明記されたことから、注射薬投与管理への薬剤師の積極的な関与が一層重要となってきた。

本論文では、1) 注射薬調剤の順序(例、注射薬処方せんの薬剤師による監査について)、2) 注射薬に関する医療スタッフへの情報提供(例、ペブシド注の希釈倍率による配合変化について)、3) 注射薬の混合の際における配合変化への対処法(例、ケイツーN注の混合の際の混濁物が析出しない混合順序について)、4) 輸液セットへの薬液の注入部位(例、輸液ライン中のファイナルフィルターを通過しにくい薬物について)などについて実際に調査と検討を行った。今後も、病院薬剤師はチーム医療の一員として、このような注射薬に関する正しい情報を他の医療スタッフに提供する責任がある。

パーキンソン病の服薬指導

- 服薬指導マニュアルの作成 -

医療薬学専攻 山崎 豊 (岩崎 慎一教授)

本マニュアルは、A4版で39頁にわたり、大きく「パーキンソン病について」と「パーキンソン病の治療薬について」の二つに分かれる。パーキンソン病については、概念、疫学、病因、病態生理、症候、治療薬と特徴、薬物療法の原則および合併症とその対策を記した。また、パーキンソン病の治療薬については、各々の薬の商品名、用法・用量、作用機序、投与時の注意、飲み忘れや過量投与後の処置、副作用、禁忌症と併用禁忌薬、体内薬物動態および服薬指導例を記載した。

本マニュアルの特徴の一つは、このマニュアルを読むことによりパーキンソン病とその治療薬の情報が同時に得られることである。

特に、既製のマニュアルでは記載が乏しかった病態生理、症候、薬物療法の原則、合併症などの項を詳述できたと考えられる。

治療薬の項では、医薬品の情報を記載するだけでなく、現場で利用しやすいように服薬指導例の項目を設けたのも特徴の一つである。

また、実際に使用する際には、情報の整合性を図るため、マニュアルの内容を他の情報提供物(服薬指導の際に配るお薬説明書など)に反映させる必要がある。

マニュアル作成の効用は、作成過程(疾患について調べる、治療薬について調べる、医師と話し合うなど)で、病態生理、症候、薬物療法の原則、合併症などの知識を獲得できることであり、既製の服薬指導マニュアルを参照するだけでは得られない多大なメリットがあると思われる。

エノキサシン・フェンブフェン併用による痙攣誘発に対する漢方方剤の効果

伊藤 克己 (津田 整 助教授)

ニューキノロン剤と非ステロイド性抗炎症剤併用による痙攣誘発の発生機序は、GABA 結合阻害説が有力である。しかし GABA 作動薬で完全に痙攣誘発を抑制できないこと、カルバマゼピン、モルヒネ、ベンタゾシンが抑制することなどから GABA 関連機序のみで説明することは困難である。また、

本痙攣発現を抑制する強力な薬物はない。そこで、臨床的にフェンブフェンと併用される可能性が考えられる漢方方剤を用いてエノキサシンとフェンブフェン併用による痙攣を抑制できるかどうかを検討した。漢方方剤としては慢性疼痛などに用いる芍薬甘草湯、四逆湯、桂枝加附子湯、また痙攣抑制作用が報告されている柴胡桂枝湯加芍薬を選択し、処方 1 日分から常法に従い抽出し、濃縮乾固したエキスを用いた。

フェンブフェン 100mg/kg を経口投与し、その 5 分後にエノキサシン 80mg/kg を経口投与し、痙攣発現の有無を 3 時間観察した。また漢方方剤はフェンブフェン投与の 40 分前に経口投与した。その結果、芍薬甘草湯が他の方剤エキスに比べ痙攣発現率が低く、芍薬甘草湯が芍薬と甘草の 2 種の生薬から構成されることから、芍薬と甘草のエキスを作成し同様に検討したところ、甘草エキスでは抑制されなかったのに対し、芍薬エキスは有意に痙攣を抑制した。よって芍薬甘草湯の痙攣抑制作用は、方剤構成生薬中の芍薬の寄与が高いと考えられ、さらに芍薬の主成分として知られている paeoniflorin などを含むメタノールフラクションとガロタンニンなどを含む粗タンニンフラクションを調製し検討した結果、メタノールフラクションでは、無効であったのに対し、粗タンニンフラクションでは、痙攣が完全に抑制された。

以上の結果より芍薬甘草湯の痙攣抑制作用は、主に芍薬によるもので、タンニン成分が関与すると考えられた。また漢方処方剤の併用による副作用軽減の可能性が示唆された。

卵巣癌細胞株に対する塩酸イリノテカン併用化学療法の基礎的研究

岡崎 俊之 (津田 整 助教授)

卵巣癌化学療法はシスプラチン(CDDP)の登場により進展したものの、高い再発率、薬剤耐性などの問題を抱え、研究は未だ途についたばかりである。CPT-11 はこれまでに卵巣癌の治療に用いられてきた抗癌剤とは異なる作用機序を有するために交叉耐性の獲得が低頻度であると予想され、また未だ報告されていない相乗作用が期待される。細胞株を用いた抗癌剤の感受性試験は、臨床における薬剤選択の基礎的な資料となることから、本研究ではヒト卵巣癌から樹立した多彩な特性を有する培養細胞株を用いて CPT-11 に対する感受性を評価し、さらに他の抗癌剤と共添加したときの効果の増強・相殺について検討した。

CPT-11(SN-38)単剤処理時は、6 株中 5 株が感受性陽性であった。SN-38 と CDDP 併用時の効果を Combination index により評価すると、CDDP の濃度によって異なる結果を示した。一方 SN-38 と 5-FU の併用時は 5-FU 濃度に関わらず、SN-38 の低濃度域において特に著しい相乗効果をあらわした。卵巣明細胞腺癌由来の細胞株が SN-38 に感受性を示したことから、CPT-11 は卵巣明細胞腺癌の治療に有効な抗癌剤となり得ることが示唆された。また SN-38 と CDDP を共添加したとき、CDDP の濃度が 0.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ では抗腫瘍効果が相殺され、一方 1.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ では効果の増強が生じることが新たに明らかになった。さらに SN-38 と 5-FU との共添加では SN-38 の濃度が増すにつれて、併用効果が相乗作用から拮抗作用へと移行していく現象が見いだされた。

これらの結果から卵巣癌の治療において CPT-11 を他の抗癌剤と併用する際、CPT-11 あるいは併

用する抗癌剤の投与量、投与スケジュールによって、期待する併用効果が得られない可能性が考えられた。

抗てんかん薬の催奇形性に対する漢方方剤の作用

茂木 香里 (津田 整 助教授)

柴胡桂枝湯加芍薬は、相見が芍薬の薬能に注目し、柴胡桂枝湯に芍薬を増量して処方された処方であり、臨床的にもてんかんの治療に用い著効をあげたと報告されている。また、柴胡加龍骨牡蛎湯は我が国の健康保険において、てんかん適応となっている唯一の漢方方剤である。てんかん治療のためには、現在多くの合成抗てんかん薬があり、大きな治療効果をもたらす医療に貢献している反面、おおむね催奇形性作用を有することは広く知られており、妊婦のてんかん患者に対し治療効果と胎児への影響との兼ね合いが常に問題となっている。そこで、本研究においては柴胡桂枝湯加芍薬及び柴胡加龍骨牡蛎湯の両方剤が、臨床的には難治性のてんかんに用いられ、また他の抗てんかん薬と併用投与されると考えられるため、代表的な抗てんかん薬併用例であるフェニトイン、バルプロ酸と同時投与の場合の影響を検討した。

抗てんかん薬と漢方方剤を同時投与した場合は、死亡吸収胚の増加抑制、さらに、痕跡 14 肋骨及び 14 肋骨の発現の減少が認められた。柴胡加龍骨牡蛎湯を同時投与した場合は、骨化の抑制を示すものの発現頻度が増加したのも認められたが、用量の異なる 2 群間の比較において濃度が高い方がより効果的と考えられる結果を示した。柴胡桂枝湯加芍薬を同時投与した場合は雌胎児体重抑制、頭頂骨骨化抑制、胸椎椎体欠損、胸骨の分離分裂および欠損、さらに波状肋骨の発現が有意に減少することが認められ、抗てんかん薬の胎児成長阻害作用に対して抑制的に働くことが明らかとなった。今回用いた漢方方剤は、抗てんかん薬の催奇形性を抑制する効果があり、柴胡桂枝湯加芍薬及び柴胡加龍骨牡蛎湯は、それ自体が抗てんかん作用を有しており、抗てんかん薬と併用投与することにより治療効果の増大と共に奇形発生の低減が同時に期待できると考えられる。

補中益気湯の抗ストレス作用および神経細胞保護作用

芳野 純子 (津田 整 助教授)

補中益気湯は代表的補剤であり、病後の疲労、虚弱体質改善、食欲不振等に用いられ、臨床報告は極めて多く、多岐にわたっているが、生体の防御作用に関する報告はほとんどされていない。そこで、本研究では補剤としての補中益気湯の薬能に注目し、補中益気湯の生体防御作用を検討する目的で、ラット三叉神経刺激による Reilly 現象について検討した。また、神経細胞保護作用としてラットおよびマウスの大脳皮質初代培養神経細胞を用い、アルツハイマー病の発症に關与しているとされる amyloid- β -protein の神経毒性、細胞骨格毒である cytochalasinB による looping、さらにてんかん EEG モデルのコバルトフォーカスをラットで作製し、この時にみられる神経細胞の変

性・脱落及び脳波異常に対する抑制作用の検討を試みた。

Reilly 現象では、対照群のラットで肺に著明な出血性病変がみられたのに対して、補中益気湯エキス投与群では出血抑制作用が認められた。Amyloid- β -protein 添加による細胞死に対しては、細胞生存率に差は認められず、神経細胞保護作用は認められなかった。Cytochalasin B による培養神経細胞の神経突起伸張阻害に対しては、補中益気湯エキス 100 μ g/ml 添加群で looping が抑制された。また、ラットコバルトフォーカステんかんモデルにおける神経細胞障害に対しては、エキス投与群で、神経細胞の変性・脱落を有意に抑制した。しかし、脳波の測定においては補中益気湯エキスによる痙攣波の抑制は認められなかった。

以上の結果より、補中益気湯は生体外から加えられた過度の刺激に対して保護作用を示すと考えられた。また、今回検討した抗ストレス作用や神経細胞保護作用、神経細胞の成長・発達の正常化作用は漢方方剤以外では報告されていないことから、これからの臨床応用がさらに期待される。

ヒト血清ドリコールと各種臨床検査値との相関性およびその局在性について

清田 憲吾 (林 秀徳 教授)

血中のドリコールは他の組織に比べその濃度が低いので、その知見は少しずつ蓄積されつつあるものの、まだまだ不明な点が多く十分に研究されていないのが現状である。そこで今回、我々は血中ドリコールと病態との関連に着目し、血清ドリコール濃度と各種臨床検査値との相関性および血清コレステロール分布様式の変動におけるドリコールの局在性について調べた。

血清ドリコール濃度の測定は Yamada らの方法で行った。血清ドリコール濃度は free ドリコールと脂肪酸エステル体の合計量で求めた。各種臨床検査値の測定は日立臨床自動分析装置 7350 を用いて行った。

血清ドリコール濃度を測定し、各種臨床検査値との相関性を調べたところ、これまでに報告されているように HDL-コレステロールと正の高い相関を示した。この結果は、血中のドリコールが HDL 中に高率に含有されているというこれまでの報告を支持している。そのほか、臓器障害の指標として用いられる肝胆道機能検査値、腎機能検査値および膵機能検査値との相関性を調べたが、これらの値との間に相関はみられなかった。このことから、血清ドリコール濃度は肝機能障害、腎機能障害および膵機能障害によって系統だった影響を受けないことが示された。健常者において血中のドリコールは HDL 中に高率に存在することが報告されている。そこで、リポタンパク質濃度の変動によるドリコールの局在性への影響について検討した。コレステロール正常血清、高 HDL 血症および高 LDL 血症について調べた結果、ドリコールはいずれの場合においても HDL 中に高率に含有されていた。このことから、コレステロールはドリコールと同じイソプレノイド脂質としてメバロン酸経路で合成されることが知られているが、ドリコールの局在性はリポタンパク質中のコレステロールの分布変化に影響されないことが明らかになった。

テイコブラニンの臨床分離MRSAに対するPAE (postantibiotic effect)に関する基礎的研究 PAE期における薬剤併用効果

鈴木 俊久 (近藤 誠一 助教授)

MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, メチシリン耐性黄色ブドウ球菌)はメチシリンのみならず、他の殆どの抗菌剤に対しても耐性を獲得した高度薬剤耐性菌であり、医療機関における病院内感染症および日和見感染症の原因菌として最も重要視されている細菌である。MRSA感染症に対する第一選択薬として現在のところ、バンコマイシン(VCM)とテイコブラニン(TEIC)が専ら用いられているが、これらに対する耐性菌の出現も危惧されている。TEICはVCMに比べPAEが長期にわたることが知られているが、そのメカニズムはまだ明らかではない。本研究では、TEICのMRSAに対するPAEのメカニズムを解明することを目的とし、そのための基礎実験として臨床分離株に対するPAEの差を測定するとともに、PAE期におけるTEICと他の薬剤との併用効果を検討した。

9種の臨床分離MRSAに対するVCMとTEICの最小発育阻止濃度(MIC)は、それぞれ平均1.5および2.0 $\mu\text{g/ml}$ であった。9株のMRSAに対するVCMとTEICのPAEを、2倍および4倍のMICを用いて測定した結果、それぞれ1~3時間、1~7時間であり、菌株によって大きな差が認められた。次にこれらの分離菌株におけるPAE期での他薬剤との併用効果を検討した。4倍MICで2時間処理したMRSAに、それ自体では増殖抑制効果を示さないアンピシリン(ABPC)、アミカシンおよびミノサイクリンを作用させたところ、MRSAの増殖抑制時間はTEIC単独処理の場合に比べ2~4倍に延長された。特にABPCとの併用では最も増殖制御効果が高く、24時間以上も持続した。しかし、ABPCによるこの増殖制御効果は、TEICとの同時投与またはPAE期の後期での投与では全く認められなかった。また、VCMとの併用では上記いずれの薬剤においても併用効果は認められなかった。さらにノルフロキサシンとエリスロマイシンについても同様に検討したが、TEICおよびVCMとの併用において両者ともに増殖制御効果を示さなかった。TEICのPAE期に投与されたABPCのMRSAに対する増殖制御効果のメカニズムは不明であるが、さらに併用薬剤の種類を増やしてTEICまたはVCMとの併用効果を検討することにより、より有効なMRSA感染症の化学療法が可能であることを示唆する結果が得られた。また同時に、現在危惧されているTEICおよびVCM耐性MRSAの出現を極力抑える観点からも、これら両薬剤との併用効果に関する検討が重要であると考えられる。

IS-MS によるプトレアニン、イソプトレアニンの分析

医療薬学専攻 木村 好伸 (齋藤 節生 教授)

本研究は、ポリアミンおよびその代謝物を対象として、HPLC、キャピラリー電気泳動などの分離手段を用いずに、質量分析装置を分離、検出手段とする分析法開発の一環として行うものであり、異性体であるプトレアニン、イソプトレアニンを取り上げて検討した。まず、分析法開発に必要な両者の標準品の別途合成を行った。基本的には当研究室で開発したポリアミン合成法を利用して行い、全行程の収率はおよそ 30%で満足すべきものであった。つぎに、IS-MS により両者をどのようにして分離、検出したらよいか検討した結果、MS 分析を行うために必要な HFB 化のより緩和な反応条件で、イソプトレアニンは m/z 339 に HFB-イソプトレアニンラクタムの主イオン ($M+H^+$) となり、プトレアニンは主イオンとして m/z 570($M+NH_4^+$)、553($M+H^+$)に HFB-プトレアニンの擬分子イオンとなって認められた。つぎに、加水分解しない尿中のイソプトレアニンの分析を試みた。尿の前処理としては陽イオン交換樹脂(Dowex 50×2)の小カラムを用い、イソプトレアニン分画を集め、HFB 化後、IS-MS で検出した。その結果、 m/z 339 に HFB-イソプトレアニンラクタムのイオンピークを確認した。また、本実験で同じ尿に 10, 20 nmol のイソプトレアニンを添加し、同様に処理してスペクトルを見たところ、添加量に応じて m/z 339 のイオンピークが高まることがわかった。なお、 m/z 341 に尿由来の強い未知イオンピークが認められ、これを基準にしてイソプトレアニンとのピーク比をとると、直線性が認められた。以上の結果から、本法により生体試料中のイソプトレアニンを定量することは十分に可能であると考えられた。

わが国の癌化学療法における顆粒球コロニー形成刺激因子併用療法に関する文献的考察

田中 大捻 (齋藤 節生 教授)

抗癌剤の副作用の一つである骨髄抑制の基となる好中球減少症は日和見感染の原因となり、究極的に終末感染による死因に繋がる。近年、好中球増殖の目的でヒト顆粒球コロニー形成刺激因子(G-CSF) 製剤が開発され、欧米では、好中球減少時の発熱に対する予防投与の有効性についてのメタ分析が行われているが、本邦ではそのような報告がない。そこで、G-CSF が本当に好中球を上昇させ、感染症を防止しているかどうかを検討した。

【方法・結果】G-CSF の好中球上昇が感染症防止を司っているか否かを文献検索し、母数効果モデルの Pro 法及び Mental-Haenzel 法を用いてメタ分析を行った。

海外のメタアナリシスでは、G-CSF の好中球減少による発熱を有意に減少させている結果となっていたが、今回検討した国内での結果は臨床的有意差はみられず、その予防投与は有効でない結果になった。この理由として、欧米の G-CSF の投与量(filgrastim230 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ lenograstim 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$) は、日本の filgrastim50 $\mu\text{g}/\text{m}^2$, lenograstim 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$) に比べて多めに設定されており、G-CSF は用量依存的に効果が増強するため海外の報告の方で、効果が強いと判定されたと考え、海外の文献と、今回著者が行った日本における G-CSF の有効性を直接比較することは難しい

と考えられる。また他の理由として、好中球減少患者に見られる発熱の原因は、菌血症が 20%、起炎菌の判明した局所感染が 20%、起炎菌不明の感染が 20%、感染以外の原因によるものが 20%、不明熱が 20%とされており、実際に 38 以上の発熱の原因すべてが感染症由来のものではないことが考えられ、感染症が静断されさらに発熱した患者を指標としている海外より感染症とされる患者が多くなってしまったと考えられる。

日本における感染症に対する G・C S F の予防的投与は、上記の結果より好中球減少があっても発熱がない患者に G・C S F を使用する意義は確立していないため、G・C S F 使用を治療手段とするべきではないと考えられる。しかし、発熱を伴う場合、高度の好中球減少は、抗生物質の有効率が低下するという報告があるため、抗生物質と G・C S F の併用療法が適正使用と考えられる。実際に米国臨床腫瘍学会では、いくつかの無作為比較試験の結果を踏まえ、化学療法後の好中球減少に伴う発熱が起こる頻度が 40%以上あるような場合にはじめて G・C S F 予防投与することを薦めている。このように、痺化学療法後の好中球減少症に対しての G・C S F の使用あるいは、抗生物質との併用療法に関してもその適正使用には更に研究が必要であると考えられる。

心不全に対する - 遮断薬の有効性 - 大規模臨床試験と医療の場での薬学的な比較 -

手嶋 睦美 (齋藤 節生 教授)

我が国では一般的な心不全に対し - 遮断薬の投与は禁忌とされている。そこで、今日慢性心不全患者に対する有用性が特に期待されているカルベジロールについて、文献上排除基準に含まれる疾患や研究対象外の投与方法が適応となり、今後の治療の幅を広げ得るかどうかを調べる目的で調査した。

【方法・結果】これまでの大規模臨床試験のプロトコールと埼玉医科大学附属病院の治療とを比較し考察した。ここでは、日本人に対する - 遮断薬療法のひとつの可能性を文献と埼玉医科大学附属病院のカルテの相違点から比較し、以下の結果に至った。

1. 静注管理などを行っている重篤な患者に対しても利尿薬などにより前負荷を取り除いてからならば - 遮断薬が可能である。
2. - 遮断薬投与前に薬物、投与量の変更があっても - 遮断薬の投与は可能である。
3. 一般的に - 遮断薬は用量依存的であると証明されているが、日本人に対しては文献の最大投与量の 1 / 5 という低用量でも効果が発現する。
4. 高血圧に罹患していてもカルベジロール投与時排除基準規定の血圧内 (収縮期血圧 85 ~ 160mmHg、拡張期血圧 100mmHg 以下) または軽度、中程度高血圧であれば、投与可能である。
5. 85 歳以上の高齢者に対してもカルベジロールの投与は可能であり、効果発現がある。
6. Ca 拮抗薬、カルベジロール以外の - 遮断薬、 - 遮断薬の循環器薬の併用は可能である。

以上は調査期間 (3ヶ月) が短かったことと症例が少なかったことから、 - 連断薬療法の確

立とまでは断言できないが、文献でもカルテでも医師の厳重な監視下で治療を行っており、 β -遮断薬は厳重な監視下であれば排除基準疾患の治療も可能であると考えられる。しかし、まだ心不全治療の第一選択薬となることは難しいと考えられる。したがって安全な β -遮断薬治療と多くの症例に対する治療法確立のため、今後はこのような排除基準に含まれる患者に対しても症例数を収集し、 β -遮断薬治療の幅を広げるため数多くの研究対象患者を収集することが研究課題であると考えられる。

整形外科領域における非ステロイド性抗炎症剤(NSAIDs)の使用実態調査に関する研究

原田 裕美 (齋藤 節生 教授)

非ステロイド性抗炎症剤(NSAIDs)は、近年、急速な高齢化とともに、腰痛症・変形性関節炎などの治療薬として主に成形外科で使用され、また術後疼痛・歯科・口腔外科領域・そのほか眼科・皮膚科・婦人科領域などでも広く使用されていたが、それに伴い消化器障害という副作用が問題となってきた。この副作用の発生予防に関しては、抗潰瘍薬との併用の有用性を認める報告も多いが、一方では効果がないとする報告も見られ、いまだ結論が出ていないのが現状である。そこで、NSAIDs と抗潰瘍薬の併用の割合、高齢者・リウマチ患者への NSAIDs の選択および、COX-2 選択的阻害薬の使用状況を調査した。また、医師による NSAIDs の選択の根拠についても考察した。

【方法・結果】以下、1)～5)の項目について、三井記念病院整形外科医9名の3ヶ月間の処方箋4957枚を調査結果を示す。

- 1) 臨床における NSAIDs と抗潰瘍薬と併用：文献上で示唆される胃潰瘍有病率の高い NSAIDs (プロピオン酸系・フェニル酢酸系) については、平均70%以上の抗潰瘍薬との併用が見られた。
- 2) 年齢別における剤型の違いによる NSAIDs の選択：高齢者の NSAIDs の使用は、年齢別に剤型や種類の有効性に合わせて増減し、単剤投与には年齢ごとに増加する傾向が見られた。
- 3) リウマチ患者における NSAIDs の選択：リウマチ患者は、他の疾患と異なる処方がされていることが明らかになり、長期投与の消化器障害軽減とコンプライアンスの向上を考慮しているものと結論された。
- 4) COX-2 選択的阻害薬の使用状況：抗潰瘍薬との併用は、COX-2 選択性の高い薬物エトドラクとナブメトンについて調査した。まだCOX-2 阻害が消化器障害を軽減する証拠が確立されてないため、使用法にばらつきがあった。これからの治療でCOX-2 選択的阻害薬の有用性が見出されていくものと考えられた。
- 5) 医師による NSAIDs 使用の偏りに関する考察：今回の調査では、医師による処方の偏りがあると実証できたため、NSAIDs の使用に関して重要な意味を持つ研究であった。今後、NSAIDs の適正使用のために大規模の臨床学的なエビデンスが必要だと考えられる。

本研究は、EBMに基づく医療の第一歩になるのではないかと考えられ、医師の処方の偏りのデータだけでなく、アンケート結果からも NSAIDs の使用方法の根拠を示すことができた。整形外科

領域での EBM に基づいた NSAIDs の適正使用を確立するには、今後の臨床学的なエビデンスが求められる。