

Picoline-Borane を用いる Aldehyde 及び Ketone 類の One-Pot Reductive Amination

薬品製造化学教室 佐藤晋也 (菊川靖雄 教授)

Carbonyl化合物(aldehyde及びketone)とamine類と適当な還元剤の組み合わせによるreductive aminationは簡単な操作で目的とするalkyl化されたamine類が得られるので広く用いられている。これまでよく使用されている還元剤である NaBH_3CN や $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ は毒性や使用する溶媒に環境汚染の問題があるなどの欠点がある。当研究室ではこれまでamine-boraneの研究を行ってきたが、その中でpicoline-borane (pic-BH_3)が上記還元剤の欠点を補うものであることを発見した。そして(1) MeOH中でのreductive amination (2) 水溶媒中でのreductive amination (3) 無溶媒でのreductive aminationなどを行ない好結果を得た。特に水溶媒、無溶媒の条件下の反応は学術的だけでなく、実用的にも有用と思われる。

N-Acylaminophthalimide 類の高原子価ヨウ素化合物による分子内閉環反応

薬品製造化学教室 椎屋 恵 (菊川靖雄 教授)

当研究室は、これまでに*N*-methoxyamide類から発生した*N*-methoxy-*N*-acylnitrenium ionが、benzene環の*para*位にmethoxy基がある場合は*ipso*位を攻撃してspirodienone体を与えることを報告した。近年、1-azaspiro[4.5]decane骨格を持つ生理活性物質の合成が多く報告されているので、それらの原料となるspirodienone類は上記の反応を応用して*N*-methoxy-3-(4-methoxyphenyl)propionamide類の分子内閉環反応によって合成されている。さらに、当研究室ではN-O結合をN-N結合に変えた*N*-acylaminophthalimide類とpenyliodine(III) bis(trifluoroacetate) ($\text{PhI}(\text{OCOCF}_3)_2$)との反応を検討し、phthalimide基を持つ上記のspirodienone類の合成に成功した。次いで、本反応を発展させbenzene環に隣接する炭素の代わりに酸素及び窒素の入った*N*-acylaminophthalimide類 ($\text{Ar}(\text{CH}_2)_n\text{-OCNHPhth}$ 及び $\text{Ar}(\text{CH}_2)_n\text{-NRCONHPhth}$)の分子内閉環反応について研究し、閉環による複素環化合物の合成に成功した。

分子内に二重結合をもつ *N*-Acylaminophthalimide 類と高原子価ヨウ素化合物との反応

薬品製造化学教室 塚本政都 (菊川靖雄 教授)

当研究室では、これまでに *N*-methoxyamide 類より *N*-methoxy-*N*-acylnitrenium ion の発生に成功した。このイオンと芳香環との反応は進行したが、二重結合との反応では産物が多数認められ、満足する結果は得られなかった。

最近の当研究室の研究で *N*-methoxyamide 類の N-O 結合を N-N 結合に変えた *N*-acylaminophthalimide 類と phenyliodine(III) bis(trifluoroacetate) (PhI(OCOCF₃)₂) (PIFA) との反応を検討し、*N*-phthalimido-*N*-acylnitrenium ion を発生させ、分子内閉環させることで含窒素複素環化合物の合成に成功した。今回、著者は、この nitrenium ion が分子内の C-C 二重結合へ求電子反応を行えば含窒素環状化合物が合成されると考え検討した。その結果、*N*-acylaminophthalimide 類と PIFA との反応により発生した nitrenium ion は、二重結合と反応し分子内閉環し、含窒素環状化合物を好収率で与えた。

パラグアイ産 *Melia sempervirens* (センダン科) の成分研究

朴 建華 (横江一朗 教授)

センダン科(Meliaceae)植物の中には民間薬や伝統薬として使用されているものが多い。たとえば苦楝皮 (*Melia azedarach*) や *Melia toosendan* の樹皮や根皮は回虫などの寄生虫の治療薬として用いられる。これまで各種センダン科植物から 300 種以上のリモノイド骨格を持つ化合物が単離されていて、有機化学的に魅力的な骨格と昆虫に対する強い摂食阻害活性があることから活発に研究されている。

南米パラグアイ産の *Melia sempervirens* は現地では *paraiso* と呼ばれ、その葉の水抽出エキスを除虫薬として用いているが、その成分研究の報告はない。

今回 *Melia sempervirens* の葉部を入手し、メタノール抽出後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを繰り返すことにより、エーテルエキスから β -sitosterol、diethylhexylphthalate、 β -sitosterol- β -D-glucoside を得た。これらの化合物の構造は各種スペクトルデータ (1H-NMR、13C-NMR、MS など) および加水分解反応により決定した。さらに酢酸エチルエキスより nicotiflorin (5, 7, 4'-trihydroxyflavone-3-rutinoside) を単離し、また BuOH フラクションより rutin を得た。これらの構造は各種スペクトルデータ (1H-NMR、13C-NMR、MS など)、13C-NMR の重水添加によるケミカルシフトの移動および加水分解反応により決定した。

漢方薬の煎出に及ぼす水硬度の影響

小川哲寛 (齋藤節生 教授)

漢方煎液の薬効を左右する影響因子の一つとして、また日本と中国で用いる生薬量の違う原因の一つと考えられている水の硬度の違いに焦点をあて、水の硬度が、どの程度煎剤中の成分量に影響を及ぼしているかについて検討した。

今回の調査では、水の硬度による影響はかなり硬度が高くなると表れなかった。小柴胡湯の煎出で硬度の高いミネラルウォーターでは、水道水よりもsaikosaponin b2量が明らかに低下していた。この原因としては、水の硬度よりも、煎出後の煎液のpHが中性に近いによる影響が大きく関与している可能性が考えられた。pHの違いによりsaikosaponin aとdはsaikosaponin b1とb2へ変化するため、煎出液のpHが変化し、これらの割合が変化し薬効にも影響を与える可能性が危惧された。BaicalinとGlycyhizic acidでは、硬度が高くなると各成分量は全体的に減少する傾向がみられ、硬度1000mg/LではContrex[®]の時よりも指標成分量の減少が大きかった。水道水と2種のミネラルウォーターを比較した官能検査のアンケートでは、Contrex[®]の煎液で、80%以上の人に視覚的影響がみられたことから、患者のコンプライアンスの低下防止には漢方薬の煎出に用いる水の種類によっては煎液に何らかの変化があらわれることを患者に説明する必要があると考えられた。また、日本と中国で薬用量が異なる理由としてこれまで言われていた水の硬度が違うためであるという伎説は、中国の水が硬水であるといっても、硬度が500mg/Lには満たないことから、影響はないものと思われた。しかし、生薬中の有効成分の煎出には、溶解度やイオン強度、pHなどさまざまな因子が影響しているものと思われ、煎出される成分も多成分であるため、今回の結果が処方ごとに異なる可能性も否定できない。漢方薬は硬度の高い水ではできるだけ煎出ししないほうが望ましいといえる。

沖縄県における高脂血症用剤の処方箋および黄紋筋融解症を引起す可能性のある薬剤の処方箋の発行実態調査

翁長真一郎 (齋藤節生 教授)

今回、沖縄県下の300床以上の病院、すなわち沖縄県立北部病院、県立中部病院、浦添総合病院、琉球大学医学部附属病院(琉球大学病院)、沖縄協同病院の5病院から発行された処方箋を対象とし、長寿県沖縄県における高脂血症用剤の処方箋発行実態を調査・解析した。

高脂血症用剤の処方箋発行実態の調査では地方の同じ県内の病院でも院外処方箋の発行率に大きな違いがあった。高脂血症用剤の処方箋発行枚数から女性では閉経が原因の高脂血症に罹患している可能性が高い結果を得た。高脂血症の薬物療法で使用されている薬剤はHMG・CoA還元酵素阻害薬

が7割を占めていた。HMG・CoA還元酵素阻害薬は最も強いコレステロール低下作用を有しているため、コレステロールのみが高い場合は第一選択薬となるベザフィブラートは併用療法での使用が多く、HMG・CoA還元酵素阻害薬との併用が50%以上を占めていた。この併用は横紋筋融解症を起こす危険性が高いため、併用された場合、特に高齢者では加齢による腎機能の低下に留意する必要があると考えられる。

横紋筋融解症が記載されている薬剤は、高脂血症用剤が最も多かったが、最も多く使用されていた薬剤は高脂血症用剤ではなく、消化性潰瘍用剤であった。また高脂血症用剤と併用される、横紋筋融解症を副作用に持つ薬剤で、最も併用頻度の高かった薬剤は消化性潰瘍用剤であった。横紋筋融解症を副作用に持つ薬剤を、診療科別における処方箋発行枚数からみた場合、小児科での使用が2番目に多く、使用された薬剤ではテオフィリンが60%以上を占めていた。テオフィリンは有効血中濃度域と中毒症状発現域が接近しているため、特に小児に処方された場合は用法・用量が適切であるか確認することが大切である。

今回の処方箋発行実態調査は処方箋情報のため、病名などの詳しい患者背景は不明という難点があったものの、上記のような薬物療法に関するいくつかの問題点を知ることができた。調査期間が1週間という短い期間であったので、今後の課題としては調査期間を最新かつ長期間とする必要がある。他府県でも同様の調査が行われると長寿県としての特徴をより明らかにすることができるであろう。

HbA1c チャートを利用した糖尿病患者に対する服薬指導

金谷直紀（齋藤節生 教授）

現在行われている服薬指導は、処方薬の説明やコンプライアンスの確認をするだけで各患者において同じである。しかし、糖尿病患者は血糖コントロール状態を悪化させている原因がそれぞれ異なるので、個別の指導が必要である。従って、糖尿病の血糖コントロール状態の指標には血糖値やヘモグロビン値（HbA1c）チャートで指導を行うことが可能である。

HbA1c チャートは、糖尿病患者を服薬指導する際に次のようなツールとして役に立つ。・生活習慣を見直す・治療に対する自覚・自主性を促す・コンプライアンスの判定・教育入院の効果の判定・糖尿病治療の効果の判定・チーム医療の情報源・合併症の危険性を知る・糖尿病の状態が一目で分かる・治療の目標を視覚的に明確化する・患者とのコミュニケーションをはかる・的確な指導を行う。

現在（平成15年2月）までのところ、HbA1c チャートを渡したすべての患者は、血糖コントロール状態が良好である。このことから、自己血糖測定（血糖値）とあわせてHbA1c チャートを糖尿病療養指導や服薬指導に用いることが、治療に対する自覚や自主性を促し、また糖尿病治療の成果をみていくうえで有用であると考えられる。このようにHbA1c チャートは2型糖尿病患者の服薬・療養指導

に多くの利益をもたらしてくれるが、問題点がないわけではない。今後、HbA1c チャートの有用性をアンケート調査や統計的手法を用いて評価することが課題としてあげられる。また、HbA1c チャートは糖尿病の合併症発現の抑制に有用であるかどうかを評価するために今後さらに患者の追跡調査を行うことも重要な課題である。

医薬品情報の代価に関するアンケート調査

金子紗弓（齋藤節生 教授）

平成9年から薬剤情報の提供が義務化され、調剤報酬の改正に伴い薬剤服用管理・指導料や薬剤情報提供料などが加算された。今回、適切な医薬品情報を提供するにあたり、利用者が本当に必要としている医薬品情報の種類や、その入手のために支払ってもよいと思う代価などを把握することを目的として、アンケート調査し検討を行った。

調査方法は、平成14年10月に越谷市のサンシティ小ホールにおいて行われた埼玉県薬剤師会主催「彩の国健康フェアの参加者の中から随意に選び、直接聞き取り調査により、アンケート調査を行った。回答者数は146人であり、そのうち医療関係者を除く有効回答数は男性43人、女性95人、計138人であった。

今回の調査では約8割の利用者が薬の情報を受け取ったことがあり、そして大部分がその情報に満足していた。その一方、何らかの欲しい情報があると回答したのは男女別では男性の方が関心が高く、女性は病院にかかったり、薬を飲んだりしている割合が低かった。副作用や相互作用などが欲しい情報として高率を占めているのは内用薬での副作用や相互作用などは予測することは難しく、予想もしないことが起こる可能性や、一般薬の風邪薬を服用後の Stevens-Johnson 痘候群が発症、副作用に対するニュース、医療ミスや副作用における報道も増え、利用者の副作用などに対する関心があるからだろう。医療保険制度の改正により、一部負担額が、被保険者2割から、外来・入院の区別なく3割負担となる。現在の調剤報酬170円、270円も実際患者がその時直接支払う金額としては51円、81円となる。アンケート調査による支払ってもよいと考えられる金額で多数を占めた100円、200円という結果は、実際に支払っている金額よりも高い額である。この結果から、利用者にとって、本当に欲しい情報を得るためなら現行の金額よりも高くなってもよいと考えているものと思われる。

エラスポール®を用いた全身性炎症反応症候群に伴う急性肺炎障害治療に関する調査

吉川 真 (齋藤節生 教授)

2003年の始めから全世界を震撼させた SIRS は、本来様々な内因性メディエーターによって惹起される非特異的全身性炎症反応による疾患 Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) と定義されている。日本医科大学付属病院における患者は救急救命センターで多く発生しており、本センターでは、2002年4月に承認され、同年6月から発売されたエラスポール[®]による治療を同年7月から開始した。エラスポール投与患者のカルテ調査可能数はわずか11例であったが、SIRSに伴う急性肺炎障害に有効であるという結果を得た。即ち、カルテ調査の結果では、エラスポール[®]の投与により PEEP と PaO₂/FiO₂ を肺障害スコアで換算したときの値の合計が、投与前と投与後で2点以上低下した患者では、FiO₂、PEEP、PaO₂/FiO₂の投与開始からの変動は3~5日目までにそれぞれの正常値に近づくか、もしくは、投与開始からほぼ一定の値で安定している患者が多く、FiO₂、PaO₂/FiO₂では悪化した例はなく、PEEPでは悪化した患者が2例あったが、肺障害スコアで見ると点数には変化がなかった。

投与前と投与後で変化しないあるいは±1点の変化であった患者では、FiO₂、PEEP、PaO₂/FiO₂の投与開始からの変動は、3~5日目までにそれぞれの値であり改善傾向がみられず、その後投与を続けても、改善傾向が見られない患者が多い (FiO₂では3例、PEEPでは4例、PaO₂/FiO₂では2例) という結果になった。また、PEEPでは悪化した患者 (2例) がおり、肺障害スコアで見ると1~2点上昇している例が見られた。今回、症例数が少なかったが、その有効性に関しては、今後、長期的かつ多数例での調査が必要であり、併用禁忌、併用注意、混注時の薬効の変化などについての情報を収集し、医師に提供していくことが重要であると考えられる。

IS-MSによるポリアミン分析法の癌研究への応用

小林正樹 (鮫島啓二郎 教授)

イオンスプレーイオン化マスマスプロトメトリー (IS-MS) によるポリアミン分析法に修飾を施して、癌の診断と治療に関する問題を検討し、有用な知見を得ることができた。

第1章 アセチルポリアミンの同時分析： 癌の診断と予後を占うのに役立つことが期待されている N¹, N¹²ジアセチルスペルミン (Ac₂Spm) を IS-MS法に組み込むことを主目的に、N¹または N⁸アセチルスペルミジン (AcSpd) も含めて方法の拡張を試みた。AcSpdについては、異性体の MS 応答に差があったため、分別定量は検討しなかった。内標準物質として新たに化学合成した ¹⁵N-Ac₂Spm を用いて、癌患者尿中の Ac₂Spm を定量した結果、得られた定量値が ELISA で測定した定量値とよく相

関することを見出した。このことは、同定と定量を同時に行うIS-MS法と多数検体測定が可能なELISA法が、いずれも信頼できる方法であることを証明した。

第2章 経口投与¹⁵N-ポリアミンのADME研究： ポリアミンを調節して癌を治療しようとする研究において、外部からのポリアミンの取り込みという必ず考慮しなければならない問題を取り扱った。IS-MS法で¹³C,¹⁵N-ポリアミンを内標準物質にすることにより、¹⁵N-ポリアミンをトレーサー化合物として利用でき、放射能汚染の心配なくラットへの経口投与のような実験が通常の実験室で行えるようになった。腹水癌細胞(AH109A)をドンリュウラット(♂)の皮下に移植して得られた固形癌担癌ラットを実験動物として、¹⁵N-ポリアミンを経口投与し、3時間後の組織への分布を調べた。その結果、腸管からのPut, Spd, Spmの吸収はほとんど差がなく、受動拡散機構によると思われること、肝臓、腫瘍ともにSpdの方がSpmより取り込まれやすいこと、腸管から吸収された過量のポリアミンは速やかに腎臓に集まること、Putはジアミン酸化酵素により速やかに代謝されるらしいこと、などがわかった。なお、本研究で見られた¹⁵N-Spmの異常取り込みの例は今後の研究に興味ある問題を投げかけた。

不死化ヒト胎盤絨毛細胞におけるペルオキシソーム酵素活性とホルモン分泌に対する WY-14643 の影響

森田美江子 (林 秀徳 教授)

WY-14643は、齧歯類のペルオキシソーム増殖剤であるが、ヒトの生殖に関係する細胞に対する影響はほとんど分かっていない。本実験では不死化ヒト胎盤絨毛細胞(細胞性栄養膜細胞)を用い、ペルオキシソーム酵素活性とホルモン産生に対するWY-14643の影響を調べ、フィブラート系の薬物(ゲンフィブロジル、クロフィブリン酸)と比較した。

絨毛細胞を24時間前培養したのち、WY-14643、ゲンフィブロジル、クロフィブリン酸を種々の濃度で加え3日間反応させた。細胞を採取し、DNAやタンパク質の含量を測定した。またペルオキシソーム酵素のカタラーゼ、脂肪酸アシル CoA 酸化酵素の活性を測定した。さらに培養液中に分泌されたプロゲステロンとヒト絨毛性ゴナドトロピン(hCG)の濃度を測定した。

細胞のDNAとタンパク質の含量は、WY-14643、ゲンフィブロジル、クロフィブリン酸の添加濃度に依存して減少した。カタラーゼの比活性は、これらの薬物により増加傾向を示した。脂肪酸アシル CoA 酸化酵素の活性は、ゲンフィブロジル、クロフィブリン酸により少ないながらも増加したが、WY-14643による明らかな増加はみられなかった。培養液中のプロゲステロンのタンパク質当たりの濃度は、全薬物の添加により増加したが、hCGの濃度は低下した。3種の薬物の中では、WY-14643が最も低い濃度で影響した。以上のことからWY-14643は、ヒト絨毛細胞の増殖とホルモン産生にお

いて、フィブラート系の薬物と同様に作用するが、ペルオキシソーム酵素には若干異なる作用をすることが示唆された。

鶏胚の発育過程におけるドリコールおよびコレステロール含量の変化

堀江竹虎 (林 秀徳 教授)

近年、細胞増殖におけるメバロン酸経路の重要性が示されイソプレノイドが注目を浴びている。ドリコールはこのメバロン酸経路を経て合成されるイソプレノイドの 1 種であるが細胞増殖が盛んな発育中の鶏胚におけるドリコールの含量化については知られていない。本実験では鶏胚発育過程におけるドリコールとコレステロール含量の変化とこれらのイソプレノイドの含量に対する HMG-CoA 還元酵素阻害薬の影響について調べた。

有精鶏卵をふ卵器に入卵し、全卵、胚、卵黄・漿尿膜・羊水および卵白のドリコールとコレステロール含量を経時的に測定した。有精鶏卵に HMG-CoA 還元酵素阻害薬であるプラバスタチンナトリウムを投与し、ドリコールおよびコレステロール含量を測定した。

全卵のドリコール含量は、ふ卵開始から 10 日目以降に大きく増加した。また、胚と卵黄・漿尿膜・羊水のドリコール含量も増加したが、卵白では変化がみられなかった。全卵のコレステロール含量は、ふ卵開始後 15 日目までは一定であったが、その後、減少した。15 日目の卵黄・漿尿膜・羊水のコレステロール含量は、10 日目に比べ低下したが、胚では増加した。この卵黄・漿尿膜・羊水での低下量と胚での増加量は、ほぼ同量であった。プラバスタチンナトリウムの投与により、ドリコールおよびコレステロール含量は影響を受けなかった。以上のことから発育中の鶏胚においてドリコールとコレステロール挙動が異なり、コレステロールは卵黄から胚に輸送されるのに対し、ドリコールは活発に合成されていることが示唆された。また、有精鶏卵のドリコール合成において HMG-CoA 還元酵素はさほど重要でないかもしれない。

薬局製造医薬品に関する医薬品情報

細川玄機 (駒田富佐夫 助教授)

【目的】 薬局製造医薬品(薬局製剤)は、市中薬局の薬剤師が自ら製剤して顧客に提供できる唯一の重要な一般用医薬品である。それだけに市中薬局薬剤師は、製造上での医薬品情報の活用、販売時の情報提供、とくに使用上の注意事項に意を尽くさねばならない。平成13年11月現在、薬局製剤には局方品46品目、局方外品339品目(うち漢方212品目)、計385品目が収載されている。それらについて、薬局製剤業務指針(日薬編)、製剤方法の解説(日薬誌収載:日薬薬局製剤・漢方委員会)はあるが、副作用、相互作用など販売時における服薬指導上の情報がまとめられている形式の記述は少ない。また医薬品の使用上の注意は常に改変されている。そこで、それら各品目について、薬用量、副作用、使用上の注意、相互作用を中心に、製剤、服薬指導上で必要になるとと思われる情報の取り扱いと、薬局における情報の処理について検討する。

【方法】 一部の漢方品目を含む薬局製剤業務指針 第4版(日薬編、薬事日報)中の各品目について、処方、製造方法、規制等23項目を集約した基本データを抽出、Microsoft Excel 2000により基本データベースを構築し、File Maker Pro5へファイルを変換して本データベース(DB)とした。そのDBを用いて、処方を構成する各薬品に関する薬用量、相互作用、配合変化、薬物動態学的データの観点から薬局製剤全体について考察した。

【結果】 薬物動態学的に考察したとき、たとえば腎疾患患者に用いられる場合の薬用量の配慮についての情報記載が欠けている肝臓代謝薬物配合製剤がみられた。用語の統一性、たとえばある品目について「〇〇を起こしたことがある人」との記載が別の箇所では「〇〇の既往歴のある人」と記載されているような異なる表現・用語の使用が認められた。またたとえば、多くの品目に記されている「使用上の注意」中の単に「同時に服用しないでください」という記載は、併用によってどのような効果が表れるのか服薬指導に必要な情報が不足している点が認められた。これらの点を改良、充足することによって薬局製剤は一層有効かつ安全に用いられると考える。

呼吸器・心臓疾患における β_2 アドレナリン受容体遺伝子多型の関連性

相澤夕紀 (駒田富佐夫 助教授)

【目的】 β_2 アドレナリン受容体遺伝子のコード領域には数カ所の一塩基多型(SNP)の存在が確認されており、このSNPによりコードするアミノ酸が変化する。このうち、アミノ酸16部位(Arg16→Gly16)および27部位(Gln27→Glu27)の多型は、受容体のダウンレギュレーションに影響を与える。さらに164部位(Thr164→Ile164)のそれは受容体の反応性を低下すると報告されている。

また、これら遺伝子多型と疾患との関連性に関する研究報告が数多く発表されている。しかしながら、日本人を対象とした研究報告は少ない。そこで、日本人における β_2 受容体遺伝子多型の頻度を調査し、疾患と多型、さらにはリスクファクターとの関連性を明らかにすることを目的として検討した。

【方法】 喘息などの疾患の治療を受けている呼吸器疾患患者、心筋梗塞・狭心症などの治療を受けている心臓疾患患者、健常人および呼吸器・心臓疾患による治療を受けていない患者を対象とし、全被験者からインフォームドコンセントを得た。血液検体および口腔粘膜からゲノム DNA を抽出し、PCR-RFLP 法により遺伝子型を決定した。

【結果・考察】 β_2 受容体遺伝子多型と呼吸器疾患、不整脈・心筋梗塞・心不全などの心臓疾患に対しては、その関連性が認められなかった。しかしながら高血圧症および狭心症患者では、ともに 16 部位 Arg/Arg がその発症に関与していることが示唆された。また、糖尿病と 16 部位 Gly/Gly が心臓疾患のリスクファクターとなることも示唆された。日本人を対象としたこれらの結果は、 β_2 受容体遺伝子多型と疾患との関連性を明らかにすることで、発症の予防や早期治療に有用な情報を与えるものと考えられる。

遺伝子治療における遺伝子発現制御 — 活性酸素刺激による転写因子発現量と発現タンパク量との関係 —

新井昌代 (駒田富佐夫 助教授)

【目的】 遺伝子治療の問題点の一つに遺伝子導入後の発現調節がある。プラスミドベクター等を導入した遺伝子の発現量は、その上流に存在する種々ウィルスの long terminal repeat (LTR) により制御されており、そこに種々転写因子が付加することにより転写を調節されている。また、AP-1 などの転写因子は活性酸素刺激により誘導されることが報告されている。そこで、ヒト Cu/Zn SOD (SOD) 遺伝子に IL-2 分泌ペプチド遺伝子を付加し、細胞外分泌型とした ILSOD 遺伝子及び CMV-LTR を有するベクターをラット皮膚線維芽細胞 (FR 細胞) へ導入し、FR-ILSOD 細胞を樹立した。この細胞に対し、パラコート (PQ) を負荷することにより導入遺伝子及び転写因子発現量の時間的変動について検討した。

【方法】 FR 細胞ならびに FR-ILSOD 細胞に PQ (0, 5, 20, 50 μ M) を負荷し、4 時間、24 時間後の *c-fos*、*c-jun* mRNA 発現量の変動について検討した。さらに、FR-ILSOD 細胞に対して、PQ 負荷後の総 SOD 活性と ILSOD mRNA 発現量の変化について検討した。SOD 活性の測定には大柳の方法を用いた。mRNA 発現量の測定には RT-PCR 法を用い、 β -actin を対照としてその比を求めた。

【結果・考察】 FR 細胞ならびに FR-ILSOD 細胞において、PQ 負荷 4 時間、24 時間後の *c-fos*

及び *c-jun* mRNA 発現量は、PQ 非負荷時と比較して増加が認められた。また、PQ 負荷 4 時間、24 時間後の *ILSOD* mRNA 発現量では、PQ 非負荷時と比較し増加が認められた。しかし、細胞外総 SOD 活性は、両時間において変化は認められなかった。以上の結果から、活性酸素負荷による転写因子発現ならびに制御の可能性が示唆された。

Whey protein およびその成分の薬物消化管吸収に与える影響の評価

加藤奈穂子（從二和彦 教授）

生理活性ペプチド等の難吸収性薬物の吸収性改善のため、様々な吸収促進剤の利用が検討されている。しかし、吸収促進効果に伴い生体膜障害性が増大する場合も少なくないため、より安全性の高い物質の使用が求められている。また、地球環境の保持や資源の有効利用の面から、医薬品材料の選択についても十分な配慮が必要となる。そこで本研究では、チーズ製造時の副産物であり、現在そのほとんどが廃棄されている乳清タンパク質（whey protein ; WP）を用い、機能性製剤基剤としての可能性を評価する目的で、WP を基剤としたマイクロスフィア（MS）の調製、および薬物の消化管吸収におよぼす WP の影響について検討した。

ポリプロピレングリコールを分散媒に用いた乳化剤を使用しない MS 調製法により、WP を基剤とした MS が得られ、WP の製剤基剤への応用の可能性が示された。

ウサギ摘出空腸を用い、粘膜側に WP もしくは WP の主タンパク質である β -ラクトグロブリン (β -Lg) と α -ラクトアルブミン (α -La)、および FITC-デキストラン (FD-4) を同時適用し、透過実験を行った。これらの結果、FD-4 の粘膜透過性は WP の濃度依存的な増加傾向を示し、WP による透過促進効果が示唆された。しかし、 β -Lg、 α -La にはその効果は認められなかった。さらに、WP および FD-4 をラット腸管に灌流し、*in situ* 吸収実験を行った。この結果、WP 同時適用群において、薬物適用初期段階での FD-4 の吸収促進傾向が認められた。また、先に調製した WP MS は速やかに水に溶解することが認められたため、WP MS を水溶液とし、ウサギ摘出空腸を用いた透過実験を行った。この結果、WP は MS 調製の過程で先に観察された FD-4 の透過促進効果が消失することが認められた。

以上、WP の製剤分野における応用に向け、WP の機能性製剤基剤としての可能性を示した。

ヒト乳腺細胞の能動輸送に関する研究

木村聡一郎 (森本雍憲 教授)

授乳期間中、母親が薬物を服用した場合、乳汁を介する乳児の医薬品曝露が問題になる。これまでに、受動拡散に従った乳汁中薬物濃度予測式が報告されたが、予測値と *in vivo* データが合わない薬物があり、能動輸送の関与が示唆された。また、ヒトでは輸送担体の発現が mRNA で確認されているが、輸送特性は明らかとなっていない。本研究では、機能的に授乳期乳腺と同等なヒト乳腺上皮細胞単層膜 (HMEC monolayer) 培養法を確立し、有機カチオンおよび有機アニオン輸送系のモデル基質を用いて輸送特性を評価した。

まず、乳腺発達に関与するホルモンを培地に添加して、細胞の増殖および経上皮抵抗値 (TER) に対して優れた添加パターンを決定した。次に機能分化した monolayer の形成を目的として、三次元培養法および trypsin 抵抗性培養法を応用した。その結果、2 回の trypsin 処理に抵抗性を示した細胞 (double resistance HMEC) で、最も高い TER を示し、輸送特性の評価に用いた。有機カチオンおよび有機アニオン輸送系のモデル基質として、tetraethylammonium および p-aminohippuric acid を $0.41 \mu\text{M}$ で添加し、透過速度の比較により輸送特性を評価した。TEA では、B から A への輸送が逆方向の輸送に比べて有意に大きく ($p < 0.05$)、PAH の輸送に方向性は観察されなかった。

これらの結果から、double resistance HMEC monolayer は、授乳期乳腺に近い性質を示し、血液から乳汁方向へ有機カチオンを能動的輸送担体の発現が示唆された。さらに、能動輸送を評価できることが明らかとなり、トランスポーターの発現および機能を確認することにより、乳汁移行に関する情報収集が可能になると考えられる。

貼付剤の放出試験法の検討

島村剛史 (森本雍憲 教授)

現在、第 14 改正日本薬局方には、貼付剤について放出試験を行うことになっている。しかし、試験法が記載されている公定書は存在しない。そのため製造・品質管理のための放出試験法について検討した。放出試験法構築に際し、International Conference on Harmonization の考え方である国際調和の観点と、環境汚染物質である有機溶媒を使用しないことを前提とした。なお、多種類の貼付剤に同一試験条件を適用することは難しいため、最も繁用されている非ステロイド性消炎鎮痛薬について検討した。

溶出試験装置 (Puddle Over Disk) と我々が作成したホルダーおよび放出媒体として水を基本としたパップ剤の膨潤を抑制するための人工汗 (Artificial Sweat: AS) を用いた放出試験法を考案し、

インドメタシン (IM) 製剤 (A、B、C、D)、ケトプロフェン (KP) 製剤 (E、F) およびフルビプロフェン (FP) 製剤 (G、H、I) の先発医薬品 9 製剤の放出試験を行った。放出試験は 32°C、12 h で行った。

パップ剤は基剤として高吸水性ポリマーを含むため、水に浸漬すると極めて強く膨潤する。そこで、ヒト汗に含まれ、高吸水性ポリマーの膨潤を抑制すると報告のある金属イオンを用いて、AS を調製し、放出液とした。それぞれの製剤で膨潤の程度が違うことから、ヒト汗成分のうち膨潤抑制効果が最も高いと報告されている Ca²⁺濃度を、各々製剤について膨潤が完全に抑制される濃度まで上昇させ、他のイオンはヒト汗の上限の濃度にして AS を調製した。

溶解律速になっていないことを確認し、USP の条件に合わない製剤に関しては放出面を小さく、あるいは放出液の量を検討し、適合するようにしてから放出試験を行った。膨潤を完全に抑制した放出液を用いた放出試験では、IM 製剤で約 10%、KP 製剤ではほぼ 100%、FP 製剤では約 40%の薬物が放出された。この放出試験法を用いることで、膨潤および放出特性の違いが各製剤で顕著に見られるため、パップ剤の製剤・品質の評価に有用であると考えられる。

皮膚外用剤試験における TEWL 測定の有用性と問題点

佃 慶一 (森本雍憲 教授)

経表皮水分損失量 (TEWL) の測定は、臨床において皮膚の病状・機能評価に有用である。また、OECD ガイドラインにも記載され、透過皮膚試験を行う際の皮膚 integrity 評価に利用できるとされている。日本において経皮薬物透過試験を行う場合、ヒト死体皮膚の使用に規制があるため、ヘアレスラットが最も汎用されている。そこで本研究では、tape stripping により、皮膚に種々程度のダメージを与え、TEWL との関係进行调查することで、TEWL をヘアレスラット皮膚のダメージの指標にすることが妥当であるか検討した。intact 皮膚の場合、TEWL はどの skin sample でも一定の値が得られ、再現性が見られた。5 回目までの TS では、測定初期に TEWL の一過性の上昇が見られ、その後安定した値を示した。7 回目以降では一過性の上昇は見られず、その後も TEWL の不安定な変動が見られ大きなバラツキを示した。この結果の原因を調査するために stripping に用いたテープを観察したところ、7 回目以降の TS では SC がほとんど存在しないものや部分的に欠損しているものなど SC の状態が sample ごとに大きく異なっていた。TEWL は残存する SC が少なくなったときに顕著に上昇するので、観察された SC の状態のばらつきが測定結果に反映されたものと考えられる。20 回 TS した皮膚 (full stripped skin) では、測定初期に他の回数のものより低い値が得られた。これは理論と異なり、今後更なる検討が必要である。本研究の結果より、TEWL の測定は皮膚 integrity の評価に用いることは可能であるが、軽度のダメージを識別、また TEWL の値からダメージの程度

を予測することは困難であることが示唆され、さらに TS より角質抵抗を均一に段階減少させたと仮定して、TEWL や薬物透過速度を関連付けることは非常に困難であることが明らかになった。

院外処方せん発行に関する諸問題

土田さおり (森本雍憲 教授)

平成 14 年 4 月 1 日より済生会栗橋病院(以下、当院)は、全外来患者の院外処方せん発行に踏み切った。そこで、外来患者がどのように保険薬局を選択するかについて、調査・解析し、院外処方せん発行に関する諸問題について考察した。

当院では、薬剤部窓口前の FAX から患者の希望した薬局へ処方せんを送信するシステムが整っており、この FAX 利用率は 75.7%と高く、多くの外来患者が利用していることから、送信記録をもとに以下の調査を行なった。1. 院外処方せんの地域別(1)および病院周辺薬局(以下、周辺薬局)別(2)の送信件数を調査した。2. 患者の薬局選択様式を推定するために、周辺薬局利用率の月別推移を用いてシミュレーション分析を行なった。

1 (1): 処方せんは当院を中心とした周囲、車で 30 分以内の範囲に拡散したことから、この範囲が当院の通院距離圏であると思われた。(2): 周辺薬局の調査では、幹線道路から駐車場への車の流れがスムーズで駐車スペースが大きい薬局に多くの処方せんが送信された。2: シミュレーション分析による患者の薬局選択様式は、新患(18%)の 7 割の患者が初診時に周辺薬局を選択し、2 回目には 6 割に減少、3 回目以降は 8 割の患者が再度周辺薬局を利用するという結果であった。このような傾向を示したことには、患者が自宅近隣の(かかりつけ)薬局を利用した際に、備蓄医薬品不足による不自由を経験したことがあるためではないかと考え、調査したが説明できる結果は得られなかった。以上のことから、患者の薬局選択は車の利便性の追求により行なわれることが示唆され、今後、薬剤師は「かかりつけ薬局」を持つことが真に患者自身の利益に繋がるという社会的認識を持つように働きかけることが大変に重要であると思われた。

超音波による薬物の経皮送達促進に関する予備的検討—超音波照射条件の検討とモデル角質層脂質に対する超音波の影響—

中村恭士 (森本雍憲 教授)

超音波を用いた経皮吸収促進法は、外部駆動力を利用しているため、薬物送達をコントロールできる可能性がある点で注目されている。最近の研究では、数百 kHz 以下の低周波数超音波が親水性化合物の吸収促進に対して効果的であることが報告されているが、その効果は十分に特徴付けられていない。本研究では、低周波数域超音波を用い親水性化合物カルセインの皮膚透過に対する促進効果特徴づけ、さらにリポソームを用いて角質層脂質に対する影響を評価した。

実験は、縦型拡散セルにヘアレスラット腹部摘出皮膚を装着し、角質層または真皮側に 1 mM カルセイン溶液を適用した。41, 158 および 445 kHz の超音波 (強度: 60 または 120 mW/cm²) を角質層または真皮側から照射し、経時的にセル中の溶液を採取しカルセイン移行量を測定した。また、経時的に皮膚を介した電気抵抗値もモニターした。60 mW/cm² の強度で超音波を照射したとき、いずれの周波数においても超音波照射中にカルセイン flux の増大が認められ、照射後にはコントロール付近まで回復した。Flux 増大のランクオーダーは 41 kHz > 158 kHz > 445 kHz だった。41 kHz の超音波 (120 mW/cm²) を用い検討を加えたところ、カルセインの皮膚透過は超音波照射方向に特異的に促進されることが明らかとなった。また、真皮側に超音波照射した場合と比較したところ、角質層側から照射したときに顕著な促進効果が観察された。角質層側照射時には、皮膚電気抵抗値は base line の 50% まで低下していたことから、角質層脂質領域の構造的な変化が寄与していることが示唆された。角質層から抽出した脂質を用い、脂溶性の異なる種々蛍光物質を包含するリポソームを調製し、超音波照射前後の蛍光スペクトルの変化に基づき角質層脂質に対する 41 kHz 超音波の影響を試験したところ、超音波は角質層脂質の親水性領域の拡散性を増大していることが推察された。

医薬品の皮膚障害性副作用と Transglutaminase 活性との関連性

根本英一 (森本雍憲 教授)

薬疹は、体内に取り込まれた薬物やその代謝物により誘発される皮膚粘膜組織障害である。また薬疹は、有害反応の中で非常に起こりやすいものの 1 つであり、Stevens-Johnson 症候群などのように死に至る場合もある。著者は、架橋酵素 Transglutaminase (TGase) と、紅皮症や魚鱗癬、棘融解との関連性が示唆されていることから、TGase に着目し、薬物のヘアレスラット摘出皮膚中 TGase の阻害活性を調べ、薬疹の発症を回避するためのスクリーニング法が可能であるかを検討した。

以前の研究で TGase 阻害活性が検討されている薬物は、本検討においても同様の結果が得られた。

enalapril と bleomycin に TGase 阻害活性が認められたことから、両薬物による薬疹の発症には TGase 活性阻害が関与することが示唆される。薬疹発症の報告のある薬物は、TGase 阻害活性を示さなかった。したがって、これら薬物による薬疹の発症には TGase 活性ではなく、免疫的な機構等が関与するものと考えられる。enalapril と allopurinol の代謝産物である enalaprilat と oxipurinol には TGase 阻害活性が認められなかった。したがって、enalapril の poor metabolizer が enalapril による薬疹を発症しやすいことが示唆される。薬疹を発症しない薬物は、pentoxifylline を除いて TGase 阻害活性を示さなかった。

結論として、いくつかの薬物で薬疹との関連性がみられたが、ほとんどの薬物ではそのような関係は認められなかったことから、TGase 活性阻害のみでは薬疹の発症を予測することはできず、免疫的な機構を考慮した方法が必要であると考えられる。

花粉飛散数とアレルギー性鼻炎新規患者数の動向について

佐村 優 (森本雍憲 教授)

アレルギー性鼻炎は、その原因となるアレルゲンの違いから、通年性アレルギー性鼻炎と季節性アレルギー性鼻炎（以後花粉症と記す）に分類されている。前者はハウスダスト、ダニ、カビなどがアレルゲンとなって発症し、後者は様々な花粉がアレルゲンとなって発症する。アレルゲンとなる花粉は 50 種類以上あるが、これらの花粉の飛散は地域によって大きく異なると考えられている。そこで、城西大学薬学部薬物療法学講座の観測データをもとにスギ、ヒノキ科、ブタクサ花粉飛散数の年次変動と、当観測地点に近い埼玉医科大学付属病院におけるアレルギー性鼻炎新規患者数の動向と花粉飛散数との関連性について検討した。

空中飛散花粉調査は、日本アレルギー協会の空中花粉測定および花粉情報の標準化委員会の規定に従って行った。アレルギー性鼻炎新規患者数の動向は、埼玉医科大学付属病院耳鼻咽喉科外来において、1992 年から 2001 年の 10 年間に耳鼻科に来院した新規患者のうち、疾患名がアレルギー性鼻炎または鼻アレルギー、花粉症と診断された患者を対象とし、患者台帳より一日ごとに抽出した。

アレルギー性鼻炎新規患者数の動向と花粉飛散数との関連性を検討した結果、3 月のスギ花粉飛散数とアレルギー性鼻炎新規患者数で高い相関を示した。さらに、スギ花粉数にヒノキ科花粉数も加えると、より高い相関を示した。今回の調査の結果から、最も多くの患者が来院する 3 月の患者数と単独で高い相関を示したスギ花粉飛散数が、アレルギー性鼻炎新規患者数の動向に多大な影響を与える因子であることが示された。

花粉飛散数は、2800 億円に達するともいわれている花粉症関連の医療費や患者の QOL に多大な影響を与える。医療費軽減や QOL の向上には、セルフケア・薬物療法などが重要であるが、これらの

基準となる花粉飛散数予測・観測結果も重要な役割を担っていると考えられる。

間接熱量測定による肺癌治療評価の検討

清水祥正（森本雍憲 教授）

公立藤岡総合病院では 1999 年からの日本静脈経腸栄養学会（JSPEN）による栄養サポートチーム（Nutritional Support Team : NST）結成促進運動に同調し、同年 NST を設立した。その NST 活動の一環に間接熱量測定器による安静時エネルギー消費量測定がある。慢性閉塞性肺疾患（COPD）をはじめ多くの慢性呼吸器疾患に伴う栄養障害及び体重減少は予後と深く関連している。栄養評価を行う上でエネルギー消費量の算定は重要であり、NST 結成以来多くの患者を測定してきた。今回手技を同じくして間接熱量測定により栄養管理を行うと共に、肺癌患者の状態や化学療法の評価に使用できるか検討した。

入院中の肺癌患者を対象に、間接熱量測定器を用いて昼食後、患者それぞれのベッド上で横臥位にて測定した。測定時にはキャノピーを患者の顔面を覆うように被せ、付属のビニールシートを用い患者の呼気が周囲に逃げないようにした。測定時間は基本的には測定開始後 15 分間とし、測定し得られた REE が Harris Benedict の式から推測された pREE に対してプラス何%であったかで代謝の亢進度を評価した。化学療法の効果について、患者 2 人（A、B とする）に対して化学療法のクール中及びクール終了後に REE を測定することで、また、患者の状態評価については、疼痛緩和目的の放射線療法中患者 1 人（C とする）に対して REE を約 2 週間おきに 3 回測定した結果で判定した。

相対的な評価では、化学療法により腫瘍が縮小すれば患者のエネルギー消費量が減少するという傾向が示唆された。しかし、絶対的な代謝の亢進率ではどちらの治療後も亢進している状態と考えられる。特に患者 B においては減少幅も少なく依然として +28% と高値を示した。これらの亢進状態は腫瘍が縮小しているとはいえ完全に消失していないこと、および併発疾患によるものであるとすれば REE の減少は治療による改善傾向を示す可能性を示唆した。また、患者 C は疼痛緩和目的の放射線療法しか行っていなかった。よって基礎代謝を測ることにより治療の評価というよりも患者の状態を知ることはできなかったが代謝亢進により腫瘍の悪化を予想できる可能性が示唆された。

帯状疱疹後神経痛に対するリドカインの効果に関する検討

青木理佳 (森本雍憲 教授)

帯状疱疹後神経痛 (PHN) は、治療に難渋する疼痛疾患のひとつである。これまで、PHN 患者に対して様々な治療法が試みられているが、日本大学医学部附属練馬光が丘病院 (以下、光が丘病院) では、第一段階で lidocaine と epinephrine の併用 (LE) 療法、ついで第二段階で methylpredoniziron (MP) 溶液のイオントフォレシス (IP) 療法の実施を第一選択としている。本療法は、高い治療効果が得られ、副作用も認められていないが、他の治療法との比較検討は行われていない。そこで、本療法と他の治療法の有効性を比較し、また他の施設の IP 療法との比較も行った。さらにヘアレスラットを用いてリドカインの IP 適用を行い、血中および皮膚中リドカイン濃度を測定し有効性について考察を試みた。

方法は、平成 14 年 3 月～平成 15 年 6 月までの期間、PHN と診断された入院患者 7 名および外来 PHN 患者 1 名の合計 8 名に対して IP 療法を行った結果と、clinical evidence に記載されていた amitriptyline と gabapentin の治療効果、および key word として PHN、iontophoresis を用いて PubMed による文献検索を行い、該当した 4 報のデータを比較した。

光が丘病院の IP 療法の治療成績は、文献調査により得た amitriptyline および gabapentin の治療成績よりも有意に高く ($p < 0.05$)、有効性が示された。光が丘病院の IP 療法の効果は、他施設で報告されている LE および MP 溶液や aspirin DL-Lysine 溶液を用いた IP 療法の治療成績よりも有意に高く、indomethacin 溶液を用いた IP 療法よりも優れていた。これは、他施設での施行が定期的かつ条件付であったのに対し、光が丘病院では痛みに応じて随時施行する体制がとられていたためと考えられた。痛みの寛解に随時処置する方法では、副作用もみられておらず、有効性の高いことが示された。

水溶性高分子化合物の結膜透過および生理機能に対するイオントフォレシスの影響

金田洋昌 (森本雍憲 教授)

眼球を覆う角膜や結膜上皮は高いバリア能を有し、点眼による後眼部への薬物送達には困難である。イオントフォレシス (IP) は電流を適用することにより薬物を非侵襲的に送達することが可能であり、眼内薬物送達に関してもいくつかの検討がなされている。これらの研究は、IP が水溶性高分子化合物の眼内送達を増大することを示しているが、眼組織を介した高分子化合物の透過に対する IP の効果について詳細に検討されていない。本研究では、モデル眼組織として家兎摘出結膜、モデル化合物として FITC-デキストラン (4.4~150 kDa) を用いて IP の透過促進効果を試験し、併せて生理機能

に対する効果も評価した。

結膜を Ussing 型チャンバーに挟み、粘膜側から漿膜側への FITC-デキストランの透過量を測定した。実験開始 120 または 180 分後に種々電流密度の IP を 10 または 30 分間適用した。実験中にわたり経上皮抵抗 (TEER) をモニターした。また、IP 適用中止 90 分後に ATP、8-bromo-cAMP、または forskolin を粘膜側に適用したときの短絡電流値 (Isc) の変化を生理機能の指標として測定した。

粘膜側を陽極としたとき (anodal IP)、FITC-デキストランの結膜透過は電流依存的に増大した。適用電流を 0.85 mA/cm^2 、適用時間を 30 分としたとき、anodal IP は試験したすべての分子量のデキストランに対して有意な促進効果を示した。一方、このような効果は粘膜側を陰極とした cathodal IP では観察されず、促進効果は主に electroosmosis 効果によるものと考えられた。Anodal および cathodal IP とともに IP 適用中に TEER を低下させたが、一時的なものであった。さらに、ATP、8-bromo-cAMP、および forskolin により誘導される Isc 変化は、IP 処理とコントロールで有意な差はなかった。以上より、IP は結膜の生理機能を障害することなく水溶性高分子の結膜透過を促進するものと考えられた。

人工汗を用いた放出試験による先発パップ剤と後発パップ剤の比較

平松寛彦 (森本雍憲 教授)

以前の研究で、我々はパップ剤の放出試験法について検討を重ね、人工汗 (AS) の利用による方法を提唱した。本法は膨潤抑制を示す AS の組成を製品ごとに決定した後に放出試験を行うことから、膨潤性と放出性の両面からパップ剤の機能を評価できる。本放出試験法の目的は、本来製造管理に応用し、製剤の性能を鋭敏にとらえることが目的であるが、操作の簡便性を考慮すると、先発および後発製剤間の比較にも用いることができると考えられる。そこで、汎用性の高い NSAIDs 含有先発パップ剤と後発パップ剤の膨潤性と放出製を比較することとした。

試験製剤として、インドメタシン (IM) 製剤 8 種 (先発品 4 種および後発品 4 種)、ケトプロフェン (KP) 製剤 7 種 (先発品 2 種および後発品 5 種)、およびフルルビプロフェン (FP) 製剤 4 種 (先発品 3 種および後発品 1 種) を用いた。

各製剤の AS 中での膨潤を測定したところ、膨潤が完全に抑制される AS 中の Ca 濃度は製剤間で大きく異なり、最も高濃度の Ca を必要とした製剤は IM 製剤の先発品だった。また、KP 製剤の後発品および FP 製剤の先発品では、 3 mEq/mL の Ca を含有する AS (AS(3)) 中で基剤崩壊する製剤も認められた。12 時間後の薬物放出率は薬物によって大きく異なり、各製剤に最適な AS (AS(S)) を用いたときの放出率は、IM 製剤で約 10%、KP 製剤で約 90%、FP 製剤で約 50% だった。IM 製剤は先発品と後発品で放出率に差は認められなかった。KP 製剤では、先発品は AS(3) と AS(S) の両方で

約 90%の薬物が放出した。一方、後発品では AS(3)で基剤崩壊したもののほぼ 100%の放出率を示し、AS(S)での放出率は約 90%だった。FP 製剤では後発品は先発品と同様の放出率を示したが、FP 製剤間の放出率には約 1.5 倍の差が認められた。以上より、本放出試験法は製剤間の品質評価に利用できることを示しているが、放出率の低い製剤については感度の向上を目指した検討が必要であると思われる。

ゲフィチニブの治療効果と副作用に関する検討

茂木拓也 (森本雍憲 教授)

ゲフィチニブ (イレッサ®) は、上皮成長因子受容体チロシンキナーゼを特異的に阻害する分子標的薬として開発された肺がん治療薬であり、わずか治験 50 例の臨床試験を経て承認され、2002 年 7 月に世界に先駆けて日本で発売された。しかし、その後の臨床使用において間質性肺炎による死亡例が多発し、その承認過程が大きくクローズアップされた。ゲフィチニブは、少数の治験例数で承認されたということから、治療効果と副作用に関する十分な情報が得られていない。そこで、埼玉県立循環器・呼吸器病センター (以下、センター) においてゲフィチニブ単独治療を受けている患者について、その治療効果と副作用について調査し、考察することとした。

センターにおけるゲフィチニブ服用患者の治療効果は、完全寛解率 1.1%、部分寛解率 20.7%であり、奏功率は 21.7%であった。この効果を他の抗がん剤の効果と比較すると、プレオマイシンの 50%には及ばないものの、ゲフィチニブが経口剤であることを考慮すると、外来患者に対する有用性は高いものと考えられた。生存患者と死亡した患者の服用期間の比較は、ゲフィチニブに対する感受性が明らかに異なる 2 群が存在することを示唆した。一方、副作用の発現率と治療効果の関係を調査したところ、下痢の副作用を発現した患者においてゲフィチニブの治療効果を期待できない可能性のあることが示唆された。さらに、下痢を発現した患者でがん病巣不変および増悪が多く見られたことから、ゲフィチニブ服用患者では、下痢の副作用が他の治療方法を検討する際の重要な指標になるものと考えられた。

薬物の乳汁移行性の速度論的解析

内山玲子 (森本雍憲 教授)

薬物の乳汁移行性と授乳による乳児への危険性に関する報告は少なく、しかもその指標として報告されている乳汁/血漿中濃度比 (M/P) に関しては、統一された考え方がない。そのため、M/P を定速静注時の定常状態における M/P と定義し、乳腺機能および乳汁産生を反映し、さらに乳汁への薬物移行を排泄過程と考えた速度論モデルより、薬物の乳汁移行および M/P について検討した。また、授乳安全性基準について動態学的に検討した。

モデルは、乳汁産生速度を Z (L/h) とし、① 1 コンパートメントモデル・乳汁排泄、② 2 コンパートメントモデル・セントラルからの排泄、③ 2 コンパートメントモデル・ペリフェラルからの乳汁排泄の3つのモデルを作成して定義した M/P 理論式を求めた。①および②では、M/P 理論値は、 k_m 、 V 、および Z 、③では k_m 、 k_{12} 、 k_{21} 、 V 、および Z のハイブリッドな式となった。ただし、 k_m は乳汁中排泄速度定数、 k はコンパートメント間の移行定数、 V は分布容積、下付きの「1」はセントラル、「2」はペリフェラル、を意味し、下付き数字の並び順は方向を示す。これらの式およびモデルから、体内動態パラメーター既知の薬物では、乳汁中濃度から M/P が予測でき、1 次吸収過程のある場合では、経時的な M/P が算出できる。なお、シメチジンの臨床データから M/P を計算したところ 1.67 となった。

授乳安全性は、Harnack 表より、新生児薬用量は成人量の 1/8 (未熟児 1/10) であり、授乳婦の服用量に対する乳児薬物摂取量比 (乳児/成人薬用量比) が 0.1 未満の場合は問題ないと仮定できる。そこで、分布容積と M/P 比を用いて授乳 1 回あたりの乳児/成人薬用量比が 0.1 未満となる範囲を求めた結果、分布容積 116L 以上の薬物は、母体での希釈効果により乳汁中濃度が低くなり、授乳安全性が高い可能性が示唆された。

エレクトロポレーション/イオントフォoresis併用系における薬物の皮膚透過促進作用に関する研究

五十嵐 崇 (杉林堅次 教授)

Electroporation (EP) や iontophoresis (IP) などの物理化学的促進法により、化学的促進剤ではほとんど吸収されなかった高分子薬物についても非侵襲的に投与することが可能となった。ここで、EP は細胞や組織への遺伝子導入にも用いられている技術で、ミリ秒オーダーの高電圧パルスを与えることにより生体膜に小孔を形成させる方法である。一方、IP は低電流を数分から数時間の適用し、薬物の生体膜透過を促進する技術である。そこで本研究では、多方面から広く研究されている EP と

IP を併用した場合の促進効果およびそのメカニズムの解明を試みた。

EP による薬物の皮膚透過促進効果と皮膚の *iontophoretic permselectivity* に及ぼす EP の影響を評価するため、アニオン性、カチオン性、非荷電性の低分子および非荷電性の高分子を用いて実験を行った。In vitro 皮膚透過実験の結果、IP 適用時による透過促進効果は、EP 前処理により非荷電性および荷電性低分子薬物とも減少した。これは、EP 前処理による皮膚の *permselectivity* の減少ならびに皮膚からの競合イオンの漏出によるものと推定された。また、低分子薬物では *electrorepulsion* の寄与が大きく、カチオン性薬物では皮膚の *permselectivity* の減少に伴う *electroosmosis* の低下が透過に大きく影響することが明らかとなった。これに対し、高分子薬物では EP/IP 併用により皮膚の *permselectivity* が減少したにも関わらず、EP によって形成された新規透過ルートの大きさに依存して皮膚透過性が増大することが示唆された。以上より、EP による皮膚の *permselectivity* の変化と *pore size* が透過に大きく影響し、特に *electrorepulsion* に関与せずに促進されるアニオン性低分子薬物では陽極側から陰極側への *convective flow* の影響を考慮した投与設計が必要であると考えられた。

水溶性薬物の白色ワセリン基剤軟膏からの放出性および皮膚移行性に関する研究

石井 宏 (杉林堅次 教授)

アトピー性皮膚炎の治療に使われる外用剤基剤として刺激感が極めて少ない白色ワセリン軟膏が繁用される。アトピー性皮膚炎治療薬の中には水溶性のものも存在するが、白色ワセリンは疎水性で水溶性薬物の保持が悪い。加えて、これまでに水溶性薬物の白色ワセリンからの薬物放出性や皮膚移行性に関する詳細な研究はほとんどない。そこで、水溶性の新規アトピー性皮膚炎治療薬である TN-1b をモデル薬物として選択し、1(w/w)%TN-1b 白色ワセリン軟膏からの TN-1b 放出性と皮膚透過性を試験した。なお、基剤には未処理、未添加の白色ワセリン (コントロール)、10(w/w)%精製ラノリンまたは 1 もしくは 5(w/w)%セラミドを加えた白色ワセリン、さらに *intact skin* に 6 時間適用した白色ワセリン (適用後白色ワセリン) を用いた。

放出実験結果から、コントロール軟膏から放出された TN-1b は主に放出液との界面付近に存在していた TN-1b であることが示唆された。また、10(w/w)%精製ラノリンや 1 もしくは 5(w/w)%セラミドまたは適用後白色ワセリン軟膏からの TN-1b 放出性はコントロール軟膏からの値と比較して、高くなる傾向を示した。さらに、*stripped skin* を用いた透過実験結果から、10(w/w)%精製ラノリン、5(w/w)%セラミドと適用後白色ワセリンからの皮膚透過性はコントロール軟膏からより高くなる傾向を示した。また、これらの軟膏適用後の皮膚中量においてもコントロール軟膏と同等かもしくは増加する傾向を示した。*intact skin* に適用した場合は、全ての軟膏で皮膚透過は見られなかったが、

皮膚中量はコントロール軟膏より全ての軟膏で増加した。これらの結果から、角層から製剤中に TN-1b の放出を促す物質、おそらく角層脂質成分のセラミドが分泌・分配されている可能性が示唆された。

以上、白色ワセリン軟膏を皮膚に適用すると、含有された TN-1b が角層脂質成分であるセラミドの働きに助けられて皮膚に分配し、目的とした TN-1b の局所作用を発揮すると予想された。

水溶性薬物の疎水性粘着剤への封入性改善と放出・皮膚透過挙動の研究

小林さつき (杉林堅次 教授)

皮膚適用製剤に用いる感圧粘着剤 (Pressure Sensitive Adhesive : PSA) には主にシリコーン系、アクリル系、ゴム系の三種類があるが、これらは全て疎水性である。そのため、PSA に水溶性薬物を溶解・封入させることは困難で、水溶性薬物の貼付剤からの放出性や皮膚透過性も著しく低い。そこで、本研究では PSA からの水溶性薬物の放出・皮膚透過性の改善を目的として、疎水性 PSA に親水性の種々高分子、フィラーさらにはグリセリンを添加した貼付剤を調製し、水溶性薬物の PSA 中の溶解性と貼付剤からの放出性について検討した。なお、モデル水溶性薬物として塩酸ジフェンヒドラミン (Diphenhydramine Hydrochloride : DH) を、粘着基剤には比較的安価で、環境負荷が低く、ホットメルト製造が可能なゴム系のスチレン - イソプレン - スチレンブロック共重合体 (SIS) を選定した。

親水性高分子の添加により、DH が PSA 基剤に可溶化することが確認され、また、基剤中の水分量が可溶化量に関与していることが示唆された。さらに、これら貼付剤の放出プロファイルを線形速度論に基づいたコンパートメントモデルにあてはめて解析を行った結果、DH 皮膚透過性には累積放出量 (率) よりも PSA 中の DH 溶解量が深く関与していることが示唆された。また、DH の可溶化能は親水性高分子の種類により異なり、薬物の溶解性および放出性の改善には、添加する親水性高分子の選択が重要になると考えられた。

以上のことより、高い皮膚透過が得られる水溶性薬物含有貼付剤の選択が、放出実験とその理論的解析により可能であることが示唆された。

薬物局所適用後の皮内・皮下動態に関する研究

- 線維芽細胞成長因子で形成させた肉芽への薬物分布と滞留性 -

築地泰臣 (杉林堅次 教授)

一般に、皮膚に局所適用された薬物は皮膚に分配した後皮膚中毛細血管から全身循環へと移行するか、適用部位深部の皮下組織へと移行した後全身循環へと移行する。皮下局所での持続的薬効を期待する場合、皮下組織からの薬物の消失は緩徐であることが望ましい。標的部位を筋肉とした近年の我々の研究により、筋肉での薬物滞留性を高めるには、薬物を筋肉へ直接注入するよりも近傍の皮内に注入した方が良好であることが判明した。また、筋肉中での薬物滞留性には血流が関与していることが推定された。そこで、本研究では局所血流を変動させたモデル動物を作成し、薬物の皮内・皮下動態に及ぼす血流の影響について試験した。Wistar 系雄性ラットの腹部正中線上皮下に線維芽細胞成長因子 (basic fibroblast growth factor : bFGF) を染み込ませた直径 1.5 cm の paper disk を埋め込み、5 日間飼育して標的部位としての肉芽を形成させた。このモデル動物に対し、モデル薬物としてのサリチル酸ナトリウムまたはカルセインナトリウムを静脈内急速単回注入 (i.v.)、標的組織内直接注入 (i.t.)、近傍皮内組織注入 (i.c.)し、血漿中薬物濃度と組織中薬物量の経時的推移を求め、得られたデータについて筋肉で検討した以前の研究結果と比較した。その結果、control, model 両群とも i.t.投与後に薬物は速やかに全身循環へと移行し、model 群でより急速な薬物消失が認められた。一方、i.c.投与後の標的組織からの薬物消失は control, model 両群とも i.t.投与後のそれと比べて遅く、薬物は標的組織に長時間滞留した。さらに、control 群では i.t.投与後に皮膚中に認められる薬物はすべて再分布に由来するものであったのに対し、model 群では標的組織から皮膚へ薬物が移行している可能性があること、model 群における標的組織及び皮膚からの薬物消失は control 群のそれと比べてより速いことが判明した。以上のことから、標的組織近傍皮内への薬物注入法は、標的組織に対する直接注入法に比べて標的組織での薬物滞留性を高める手段として有用であること、さらに血流の変動は局所薬物動態を変動させることが示唆された。

眼瞼皮膚から結膜への薬物移行に関する研究

中川暁彦 (杉林堅次 教授)

現在、眼科領域における薬物治療の大部分を占める点眼剤は、結膜囊の容量を超える投与ができないだけでなく、鼻涙管等を通じた排出が速いため、結膜、角膜、水晶体等への局所バイオアベイラビリティは低い。眼軟膏剤やゲル化点眼剤を用いることによりアベイラビリティは向上するが、使用感が悪いことコンプライアンスの低下が問題となっている。そこで今回、眼瞼皮膚から結膜へ薬物を直

接送達させることで、就寝中にも薬効を発揮でき、かつ眼粘膜への直接刺激のない眼瞼皮膚適用型外用剤の可能性について検討することとした。本研究では、始めに Franz 縦型拡散セルを用い *in vitro* 皮膚透過実験を行ない、異なる皮膚（腹部、上眼瞼および下眼瞼）からの皮膚透過性に関する検討を行った。さらに、その透過プロファイルを酵素パラメータの算出、光学顕微鏡による観察、さらには共焦点顕微鏡とエステラーゼの存在によって蛍光を発するフルオレセイン-5-イソシアナート二酢酸エステルを用いて視覚的に酵素分布を評価することで検証した。また、適用部位を下眼瞼に絞り NA もしくは EN を適用することで *in vivo* 吸収実験を行い NA 点眼実験時と結膜中濃度を比較した。

その結果、眼瞼皮膚は腹部皮膚とは異なり NE だけでなく NA をも透過させることが示され、比較的水溶性の薬物についても眼瞼皮膚適用型外用剤に含有できる可能性が示唆された。また、腹部皮膚のほうが眼瞼皮膚に比べ角層の構造が密であることが示された。さらに、各皮膚間（腹部、上眼瞼および下眼瞼）で酵素活性に相違は見られなかったが、眼瞼皮膚では、表皮に加えて結膜側にもエステラーゼが存在することが示された。加えて、経眼瞼投与は点眼に比べ、結膜中濃度の滞留性が延長することが示された。

以上より、眼瞼皮膚適用による経眼瞼投与は結膜への薬物標的能を有する投与方法として有用であることが示唆された。そして、プロドラッグは眼瞼皮膚透過における真皮律速を改善する方法になることが示された。

ビタミン入りガム型サプリメントの吸収性に関する動態学的研究

寺田元美（杉林堅次 教授）

高齢化や生活習慣病の増加に伴い、国民の健康への関心が高まり、近年数多くの保健機能食品や健康食品が市場に出回っている。しかし、その有用性や安全性に関する適切な試験・評価法が少ないため、科学的根拠のある評価が望まれる。これらの食品に含まれる栄養素は薬物と同様、ほとんどが消化管や他の上皮粘膜から吸収され、効果を発揮し、そして消失（代謝・排泄）されるので、これらの科学的評価には栄養素動態学（*nutrient-kinetics*）的な解析が必要となる。今回は、吸収部位特異性を持つリボフラビン（VB2）と消化管吸収が内因子量に依存するためバイオアベイラビリティが一定しないといわれているシアノコバラミン（VB12）をモデル栄養素とし、これらを含むガム型サプリメント（機能性ガム）の吸収性を、健康人の尿中排泄量から評価した。

繰り返し投与による食事での栄養素（VB2, VB12）の動態解析を行い、これらビタミンの個人毎の動態パラメータを求めた。一部の栄養素については、非侵襲的に得られる尿サンプルをもとにした解析法で個人毎の栄養必要量を算出できる可能性が示唆された。

VB2 は食事のみに対して、顕著に吸収が増加し、口腔粘膜に由来すると思われる初期吸収もみ

られたので、サプリメントとしての有用性が認められた。しかし、経口サプリメントと比較すると、バイオアベイラビリティでは劣ることもわかった。一方、同じ水溶性ビタミンである VB12 については、今回の検討では個人差が大きく、明確な知見は得られなかった。

以上の結果より、ガム製剤の有用性を評価するには、含有する薬物や栄養素を選ぶ必要があるものの、本研究で示した解析法が用いることができることが示された。

機能水の外用剤基剤としての有用性に関する研究

代永 恵 (杉林堅次 教授)

外用剤に用いる添加剤は皮膚傷害性が少なく、かつ薬物放出性・皮膚透過性を制御できるものが望ましい。そこで本研究では、優れた洗浄作用や殺菌作用を有し、すでに消毒剤や食品添加物として認可を受けている強酸性電解水 (pH 約 2)、強アルカリ性電解水 (pH 約 12)、および後者の市販品である S-100 (pH 約 12) (エー・アイ・システムプロダクト (株)) の外用剤基剤としての有用性を検討した。また、これらが有すると考えられる活性酸素消去能を測定し、活性酸素が関与する疾患に対する有効性についても推定した。

安息香酸およびリドカインの皮膚透過性は、それぞれ強酸性電解水および強アルカリ性電解水を基剤とした時に精製水を基剤とした場合と比べ著しく高かった。また、これらの透過性は基剤中薬物の分子型分率に強く相関しており、強酸性および強アルカリ性電解水には皮膚刺激性に関係するような吸収促進効果はみられないことが示唆された。一方、MTT 試験から評価した皮膚障害性は、電解水と同 pH の HCl、NaOH 溶液と比べて低くなる傾向が見られた。さらに、各電解水を角質層側に適用したときの真皮側液の pH 変動は、同 pH の HCl や NaOH 溶液より小さかった。これらのことから、電解水の皮膚刺激性は、同 pH の酸性水、アルカリ水より低いことが示唆された。また、強酸性電解水にスーパーオキシドラジカルの発生抑制、消去能があることが示唆された。以上より、電解水は皮膚透過促進能を有する安全な外用剤基剤であると考えられた。さらに、酸性電解水については種々疾患の原因や健常組織の老化にも関与していると言われている活性酸素を除去する作用を持つことが示唆され、加えて酸化還元電位が低い機能水を用いることにより生体の酸化防止効果も望めると考えられるため、特に O₂⁻を発生する疾患に適用する基剤として期待が持てることが示唆された。

フッ素化脂肪酸の体内分布に関する研究

山田優樹 (川嶋洋一 教授)

フッ素系界面活性剤であるペルフルオロ脂肪酸(PFCA)は、その炭素鎖長によってラットにおける腎臓からのクリアランス値に大きな違いがある。しかしながら、生体内における臓器特異的な蓄積性についてはほとんど明らかになっていない。本研究では PFCA の生体内での蓄積機構を明らかにする目的で、炭素鎖長 8 のペルフルオロオクタン酸(PFOA) と炭素鎖長 10 のペルフルオロデカン酸について体内分布および細胞内分布を比較した。Wistar ラットに PFOA または PFDA を 5, 20, 48.6 $\mu\text{mol/kg}$ 体重投与し、投与後 5 分および 48 時間後に臓器を摘出し、また、肝臓に関しては細胞分画を行った。各臓器および画分中の PFCA を定量した。

PFOA および PFDA の主要な蓄積部位は血液と肝臓であった。PFOA の血漿と肝臓に於ける濃度はほぼ 1:1 であるのに対し、PFDA では 3:1 であった。また、肝細胞画分中では PFOA の場合、ミトコンドリア画分、マイクロソーム画分および可溶性画分において蛋白質質量あたりほぼ同程度に分布していたのに対し、PFDA はミトコンドリア画分とマイクロソーム画分で高かった。このような PFDA に特徴的な肝臓への蓄積および肝細胞内での膜画分への選択的な分布は、CCl₄ 投与により肝障害を誘発したラットでは認められなかった。

以上の結果から、PFCA のなかでも炭素鎖長の長い PFDA は肝臓中の膜画分に親和性が高いために、肝臓に蓄積され易いものと推察された。

ラット胃粘膜培養細胞を用いた種々薬物の障害作用、及びラットにおける胃粘膜損傷とアポトーシスの関連の研究

松田一希 (谷 覺 教授)

治療薬の中には副作用として胃腸障害を引き起こすものが多い。このうち特に胃粘膜に障害を引き起こすものを選び、培養したラットの胃粘膜上皮細胞に対する作用を検討した。胃障害を引き起こす薬物としてはイプリフラボン、インドメタシンを選び、対照の化合物としてエストラジオール、デキサメタゾンを選んだ。胃粘膜細胞の培養液にこれらの化合物を添加し、培養を行い、1 及び 48 時間後の生存率を検討したところ、添加 48 時間後の生存率を、イプリフラボンがインドメタシンやデキサメタゾンよりも強く投与量に依存して低下させた。この生存率の低下を検討したところ、DNA ラダーが観察された。そこで、イプリフラボンによる細胞死を回避させる薬物を検討したところ、プロスタグランジン E₂ では成功しなかったが、カスパーゼ阻害薬の Z-DEVE-FMK の添加によって、細胞死が回避された。このことはイプリフラボンによる細胞死がアポトーシスであることを示すもの

である。また、イプリフラボンを添加した培養細胞を TUNEL 染色したところ、無添加のものに比較し、多くの染色された細胞が観察された。

以上のことにより、イプリフラボンの消化管に対する副作用は、アポトーシスを引き起こすことによることが示した。

ポリ-L-アルギニンによる水溶性高分子物質の経鼻吸収に対する促進効果の解析に関する研究

前野拓也（荻原政彦 教授）

鼻からのペプチド及びたん白質様高分子薬物の吸収は、他の粘膜部位に比べ高いものの良好とはいえず、改善が望まれる。一方、Poly-L-arginine (poly-L-Arg)はin vivoおよびin vitroにおいて、モデル水溶性高分子であるFITC-dextran (FD-4)の粘膜上皮細胞間隙透過性を、tight junction (TJ)を介して、一過性に増大させることが知られている。しかし、その生理的なメカニズムに関しては、これまで詳細に検討されていない。そこで、poly-L-Argの促進効果ならびにTJのassembly or disassemblyに対するキナーゼ及びホスファターゼの関与について、電気生理学的およびin vitro透過実験より評価した。

その結果、poly-L-Argはイオン輸送系を一過的に高めた後、膜電位を低下させながら細胞間隙を拡張し、FD-4の透過を増加させた。さらに、その自発的膜電位及び短絡電流の一過的な増加は、K⁺及びCl⁻チャンネル阻害剤により抑制された。一方、PKC阻害剤の処理では、透過係数(P_{app})の増加が、またチロシンホスファターゼ阻害剤の処理では、P_{app}及びGtの増加が有意に減少した。この時のZO-1とoccludinはTJから、poly-L-Argによって細胞内へ分散したが、PKC阻害剤の前処理では、occludinだけが細胞内に分散した。

以上の結果より、poly-L-Argは、(1)K⁺及びCl⁻の分泌と関連していると考えられ、この分泌障害を起こしているような疾患時の治療効果に興味を持たせるものである。(2)Ca²⁺非依存的なPKCの活性化を経てZO-1をリン酸化及びチロシンホスファターゼの活性化を介するoccludinの脱リン酸化により、これらを細胞内に分散させ、細胞間隙を拡張し、細胞間隙透過性を促進したと考えられた。