

究を行った。

牧野和隆はフェアビュー大学医療センターにおいて薬物有害事象管理とファーマシューティカルケアの実践について研究し、また、ファーマシューティカルケアの評価法について調査した。

さらに、山村、賀川、西口の3名はラスベガスで開催されたアメリカ・ヘルシステム・薬剤師大会 (ASHP Mid-Year Meeting、平成12年12月3日～12月7日) に参加し、米国薬剤師の業務や研究等について研修した。

医薬品の適正使用に関する基礎研究

(1) モルヒネの適正使用を促進するために、モルヒネの鎮痛効果、耐性および依存形成に対する神経ステロイド DHEAS の効果とそのメカニズムについて検討し、DHEAS はシグマ 1 受容体を介してモルヒネの依存形成に抑制的に作用することを明らかにした。(鍋島)

(2) 脂溶性薬物への高脂肪食 (イントラリポス) の影響について、薬物の溶解と消化管 pH 変動を考慮して開発した薬物吸収予測システムを用いて高脂肪食による吸収促進の有無を予想可能であることを示した。(宮崎)

(3) 漢方製剤と他の医薬品との相互作用の関連について漢方エキス製剤である小柴胡湯と経口糖尿病薬であるトルブタミドの消化管吸収過程における薬物相互作用、とくに小柴胡湯の胃排出挙動およびトルブタミドの胃吸収挙動におよぼす影響について精査した。(岩本)

(4) アレルギー性疾患や炎症性疾患の病態と密接に関連すると考えられる cysteinyl LT の生体内挙動について、先に確立した液体クロマトグラフィー/タンデムマススペクトロメトリー (LC/MS-MS) による尿中 LTE₄ の簡便かつ高感度な測定法を用いてヒトにおける cysteinyl LT 産生量の評価を行い、アトピー性皮膚炎の病態に関して cysteinyl LT が重要な役割を果たしている可能性を示した。

(水柿)

(5) 尿路、血管、CT などの X 線造影検査に広く使用されているヨード造影剤の副作用の発現機序について、ヒト微小血管内

皮細胞を用いて、造影剤の血管透過性に対する作用、NO の関与、形態学的変化、NO 産生に対する作用を検討し、造影剤の血管内皮細胞に対する有害作用を明らかにした。

(大石)

(6) 患者を対象とした臨床試験において薬物の体内挙動に影響を及ぼす変動因子を見出すために有用な母集団薬物動態解析法を応用し、新規抗がん剤 KRN5500 の臨床第 I 相試験成績から、用法、用量と血中濃度-時間推移の関係を説明する母集団薬物動態モデルを構築した。さらに、そのモデルの信頼性をブートストラップ法で検証した。

(谷川原)

D. 考察

本研究は、わが国のファーマシューティカルケアの向上と病院薬剤師の業務の手本となるべき国公立大学附属病院薬剤部の形成を目指した国内初の大規模な研究事業である。平成12年度の研究として(1)米国で臨床薬剤師として実務を担当している薬剤師や医療薬学担当教官を合わせて8名招聘し、米国での臨床薬剤師の業務の紹介および日本における病棟活動の指導を受けること、(2)米国へ若手薬剤師を派遣し、日本におけるファーマシューティカルケアの指導者の育成を計画した。また、(3)

(財)日本公定書協会が実施する平成12年度医薬安全総合研究推進事業に係る研究成果等普及啓発事業により、当該事業の3年間のまとめの成果を全国の薬剤師および一般市民に広く知っていただくためにシンポジウム「医薬品の適正使用における病院薬剤師の役割」を開催した。

外国人臨床薬剤師、研究者の招聘による研究では、各大学病院における病棟での直接的指導や症例検討会など実際的なプログラムを取り入れた。その結果、これまでの一方向的な講演会や講習会とは異なり、招聘した外国人薬剤師から臨床活動における具体的な提案や問題提起がなされ、薬剤師が直面する問題解決に大いに役立った。さらに、これらの指導や講演を通して、病院薬剤師としての職能の自覚と意識改革が進んだことから平成12年度の研究目標は十分に達成されたものと考えられる。この外国人招聘事業および若手薬剤師派遣事業によ

って、本研究の目的のひとつである病院薬剤師の業務の手本となるべき国公立大学附属病院薬剤部の中核の形成が達成されたと考えられる。さらに、本研究は、我が国におけるファーマシューティカルケアの格段の向上および国民の医療・福祉に大きく貢献できるものと期待される。

一方、我が国は、急速な少子・高齢化に伴い超高齢化社会を迎えようとしており、人口の高齢化に伴い種々の疾患が増加している。このような状況の下、現代医療の最も大きな柱の一つである薬物療法において、医薬品の適正な使用を図ることは、医療費を削減し、将来にわたり安定した医療・福祉政策を展開するために必要不可欠である。本年度の外国人臨床薬剤師、研究者の指導および米国へ派遣した若手薬剤師からの研修報告から、薬剤師の役割をさらに拡大することにより医薬品の適正使用と医療費の削減につながる可能性が示唆された。すなわち、病院薬剤師が医師、看護婦および患者とのコミュニケーションの重要性を再認識し、医薬品の副作用防止や医療過誤防止のために、より積極的に病棟活動を展開することが、より質の高い医療の提供と医療費の抑制への貢献につながると思われる。薬剤師の職能の拡大と医薬品の適正使用および医療費の問題については、今後も継続して検討すべき課題と考えられる。医薬品の適正使用に関する基礎研究においては、薬物依存の神経機構の解明や予防薬の開発、薬物の吸収・分布・代謝・排泄の分子メカニズムの解明、医薬品の適正使用および副作用・相互作用の防止につながる多くの研究成果が得られた。今後は、これら基礎研究の成果を臨床活動にフィードバックすることが重要であると考えられる。

E. 結論

わが国のファーマシューティカルケアの向上と病院薬剤師の業務の手本となるべき国公立大学附属病院薬剤部の形成を目指して、米国で臨床薬剤師として実務を担当している薬剤師や医療薬学担当教官を8名招聘し、病棟活動の指導を受けた。さらに、米国へ若手薬剤師4名を派遣し、日本におけるファーマシューティカルケアの指導者の育成を計画した。本年度の外国人臨床薬

剤師、研究者の指導および米国へ派遣した若手薬剤師からの研修報告により、薬剤師の役割をさらに拡大することが医薬品の適正使用と医療費の削減につながる可能性が示唆された。本研究は、我が国におけるファーマシューティカルケアの格段の向上と医療・福祉に大きく貢献できるものと期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

(鍋島俊隆)

- (1) Noda, Y., Kamei, H., Kamei, Y., Nagai T., Nishida, M. and Nabeshima, T.: Neurosteroids ameliorate conditioned fear stress: An association with σ_1 receptors. *Neuropsychopharmacology*, 23, 276-284 (2000)
- (2) Noda, Y., Kamei, H., Mamiya, T., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Repeated phencyclidine treatment induces negative symptom-like behavior in forced swimming test in mice: Imbalance of prefrontal serotonergic and dopaminergic functions. *Neuropsychopharmacology*, 23, 375-387 (2000)
- (3) Hamdy, M.H., Mamiya, T., Noda, Y., Sayed, M., Assi, A-A., Gomaa, A., Yamada, K. and Nabeshima, T.: A selective phosphodiesterase IV inhibitor, rolipram blocks both withdrawal behavioral manifestations, and c-Fos protein expression in morphine dependent mice. *Behav. Brain Res.*, 118, 85-93 (2001)
- (4) Mamiya, T., Noda, Y., Ren, X., Hamdy, M., Furukawa, S., Kameyama, T., Yamada, K. and Nabeshima, T.: Involvement of cyclic AMP systems in morphine physical dependence in mice: Prevention of development of morphine dependence by rolipram, a phosphodiesterase 4 inhibitor. *Br. J. Pharmacol.*, 132, 1111-1117 (2001)
- (5) Miyamoto, Y., Yamada, K., Noda, Y., Mori, H., Mishina, M. and Nabeshima, T.: Hyperfunction of dopaminergic and serotonergic neuronal systems in mice lacking the NMDA receptor ϵ_1 subunit. *J. Neurosci.*, 21, 750-757 (2001)
- (6) Noda, A., Noda, Y., Ichihara, K., Mamiya, T., Nagai, T., Sugiura, S., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Phencyclidine impairs latent learning in mice: interaction between glutamatergic systems and σ_1 receptors. *Neuropsychopharmacology*, 24, 451-460 (2001)

(7) Mori, A., Noda, Y., Mamiya, T., Miyamoto, Y., Nakajima, A., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Phencyclidine-induced discriminative stimulus is mediated via phencyclidine binding sites on the N-methyl-D-aspartate receptor-ion channel complex, not via sigma1 receptors. *Behav. Brain Res.*, 119, 33-40 (2001)

(岩本喜久生)

Nishimura, N., Naora K., Hirano, H., Iwamoto, K.: A chinese traditional medicine, Sho-saiko-to (Xiao-Chaihu-Tang), reduces the bioavailability of tolbutamide after oral administration in rats. *Am. J. Chin. Med.*, 27, 355-363 (2000).

Nishimura, N., Naora, K., Hirano, H., Iwamoto, K.: Effects of Sho-saiko-to (Xiao Chai Hu Tang), a chinese traditional medicine, on the gastric function and absorption of tolbutamide in rats. *Yakugaku-Zasshi*, 121, 153-159 (2001).

(大石了三)

(1) Sendo, T., Kataoka, Y., Takeda, Y., Furuta, W. and Oishi, R. Nitric oxide protects against contrast media-increased pulmonary vascular permeability in rats. *Invest. Radiol.*, 35: 472-478, 2000.

(2) Tominaga, K., Kataoka, Y., Sendo, T., Furuta, W., Niizeki, M. and Oishi, R. Contrast medium-induced pulmonary vascular hyperpermeability is aggravated in a rat climacterium model. *Invest. Radiol.*, in press.

(3) Furuta, W., Sendo, T., Kataoka, Y. and Oishi, R. Morphologic degeneration of a human microvascular endothelial cells induced by iodinated contrast media. *Acad. Radiol.*, in press.

(水柿道直)

1. 水柿道直、菱沼隆則、3型プロスタノイドの超微量定量法の確立とその臨床応用、脂質栄養学(総説), 2001, 印刷中

2. Hishinuma T, Suzuki N, Aiba S, Tagami H, Mizugaki M., Increased urinary leukotriene E₄ excretion in patients with atopic dermatitis. *Br J Dermatol.* 2001, 144:19-23.

3. Suzuki N, Hishinuma T, Abe F, Omata K, Ito S, Sugiyama M, Mizugaki M., Difference in urinary LTE₄ and 11-dehydro-TXB₂ excretion in asthmatic patients., *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2000, 62:395-403.

4. Murai Y, Hishinuma T, Suzuki N, Satoh J, Toyota T, Mizugaki M., Determination of

urinary 8-epi-prostaglandin F_{2α} using liquid chromatography-tandem mass spectrometry: increased excretion in diabetics.,

Prostaglandins Other Lipid Mediat. 2000, 62:173-81.

5. Mizugaki M., Ishizawa F, Yamazaki T, Hishinuma T., Epigallocatechin gallate increase the prostacyclin production of bovine aortic endothelial cells, *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2000, 62:157-64.

6. Hishinuma T, Yamazaki T, Mizugaki M., Troglitazone has a reducing effect on thromboxane production, *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2000 62:135-43.

7. Hishinuma T, Koseki Y, Katayama J, Murai Y, Saito T, Mizugaki M. Changes of the thromboxane A₂/prostacyclin balance in the urine of patients with renal diseases analyzed by gas chromatography/selected ion monitoring. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2000, 60:1-8.

(谷川原祐介)

T.Kita, Y.Tanigawara, N.Aoyama, T.Hohda, Y.Saijoh, F.Komada, T.Sakaeda, K.Okumura, T.Sakai and M.Kasuga: CYP2C19 genotype related effect of omeprazole on intragastric pH and antimicrobial stability. *Pharm. Res.*, in press.

T.Sakai, N.Aoyama, T.Kita, T.Sakaeda, K.Nishiguchi, Y.Nishitora, T.Hohda, D.Shirasaka, T.Tamura, Y.Tanigawara, M.Kasuga and K.Okumura: CYP2C19 genotype and pharmacokinetics of three proton pump inhibitors in healthy subjects. *Pharm. Res.*, in press.

T.Kita, Y.Tanigawara, S.Chikazawa, H.Hatanaka, T.Sakaeda, F.Komada, S.Iwakawa and K.Okumura: N-Acetyltransferase2 genotype correlated with isoniazid acetylation in Japanese tuberculous patients. *Biol. Pharm. Bull.*, 24(5) in press.

Hirota Takama, Hideji Tanaka, Tomohiro Sudo, Tomohide Tamura, Yusuke Tanigawara: Population pharmacokinetic modeling and model validation of a spicamycin derivative, KR5500, in phase 1 study. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, in press.

K.Tanaka, Y.Tanigawara, F.Komada, K.Nishiguchi, T.Sakaeda and K.Okumura: Nifedipine and itraconazole inhibited transcellular transport of digoxin. *Pharm.*

Pharmacol. Commun. 6, 167-171 (2000).

T.Nakamura, M.Kakumoto, K.Yamashita, K.Takara, Y.Tanigawara, T.Sakaeda and K.Okumura: Factors influencing the prediction of steady state concentrations of digoxin. Biol. Pharm. Bull., in press.

N.Ohmoto, Y.Tanigawara, M.Kakumoto, J.Funakoshi, K.Takara, T.Nakamura, T.Sakaeda, M.Hirai and K.Okumura: Interaction of digoxin with antihypertensive drugs, Jpn. J. Their. Drug Monit., in press.

2. 学会発表

(外国人招聘事業)

Bruce R. Canaday: "Changing the Face of Pharmacy Practice" (薬剤師業務の展開) 第8回クリニカルファーマシーシンポジウム特別講演(平成12年7月2日、仙台)

Bruce R. Canaday: "Pharmacy Practice in the United States" (合衆国における薬剤師業務) 厚生省医薬安全総合研究事業特別講演会(平成12年7月3日、仙台)

Bruce R. Canaday: "Pharmacy Practice in the United States" (合衆国における薬剤師業務) 厚生省医薬安全総合研究事業特別講演会(平成12年7月4日、静岡)

Bruce R. Canaday: "Pharmacy Practice in the United States" (合衆国における薬剤師業務) 厚生省医薬安全総合研究事業特別講演会(平成11年7月6日、神戸)

Debra K. Gardner: "Bloodstream Infections in a Neonatal Intensive Care Unit: 12 Year's Experience with an Antibiotic Control Program" (NICUにおける血行性感染症: 抗生剤管理プログラムの12年間の経験) 厚生省医薬安全総合研究事業薬剤師病棟業務研修会特別講演(平成12年10月17日、金沢)

Debra K. Gardner: "Pharmacist-Initiated Hyperemesis Gravidarum Protocol" (薬剤師による妊娠悪阻の治療計画) 厚生省医薬安全総合研究事業特別講演(平成12年10月18日、金沢)

Debra K. Gardner: "Development of a Clinical Pharmacy Practice in the Neonatal Intensive Care Unit" (新生児ICUにおける臨床薬剤業務実践の発展) 厚生省医薬安全総合研究事業薬剤師病棟業務研修会(平成12年10月21日、名古屋)

Debra K. Gardner: "Bloodstream Infections

in a Neonatal Intensive Care Unit: 12 Year's Experience with an Antibiotic Control Program" (NICUにおける血行性感染症: 抗生剤管理プログラムの12年間の経験) 厚生省医薬安全総合研究事業特別講演(平成12年10月24日、名古屋)

Debra K. Gardner: "Development of a Clinical Pharmacy Practice in the Neonatal Intensive Care Unit" (新生児ICUにおける臨床薬剤業務実践の発展) 厚生省医薬安全総合研究事業薬剤師病棟業務研修会特別講演(平成12年10月27日、京都)

Karim A. Calis: "Providing Patient - Specific Drug Information" (個々の患者に応じた医薬品情報の提供) 厚生省医薬安全総合研究事業学術講演会特別講演(平成13年1月11日、福岡)

Karim A. Calis: "Providing Patient - Specific Drug Information" (個々の患者に応じた医薬品情報の提供) 厚生省医薬安全総合研究事業学術講演会特別講演(平成13年1月12日、長崎)

Karim A. Calis: "Providing Patient - Specific Drug Information" (個々の患者に応じた医薬品情報の提供) 厚生省医薬安全総合研究事業学術講演会特別講演(平成13年1月16日、熊本)

Paula A. Thompson: "Advances in the Treatment of Chronic Heart Failure: Systolic Dysfunction" (慢性心不全の薬物療法における進歩: 収縮機能不全について) 厚生省医薬安全総合研究事業シンポジウム「医薬品の適正使用における病院薬剤師の役割」特別講演(平成13年1月28日、名古屋)

Paula A. Thompson: "Chronic Heart Failure: Overview of Pathophysiology and Treatment" (慢性心不全: 病態生理および治療法の概観) 厚生省医薬安全総合研究事業病棟業務指導研修会特別講演(平成13年1月31日、島根)

Paula A. Thompson: "Pharmacotherapy: Special Consideration in the Geriatric Patient" (高齢患者における薬剤治療上の注意点) 厚生省医薬安全総合研究事業病棟業務指導研修会特別講演(平成13年2月9日、岡山)

Gordon S. Sacks: "Drug Nutrient Interactions in Critically Ill Patients" (専門的ニュートリションサポートを受けている患者における薬と輸液の相互作用) 厚生省医

薬安全総合研究事業シンポジウム「医薬品の適正使用における病院薬剤師の役割」特別講演（平成13年1月28日、名古屋）

Gordon S. Sacks: “Nutritional Management of Oncology Patients”（癌患者の栄養管理）厚生省医薬安全総合研究事業病棟業務指導研修会特別講演（平成13年2月2日、筑波）

Gordon S. Sacks: “Nutritional Management of Oncology Patients”（癌患者の栄養管理）厚生省医薬安全総合研究事業病棟業務指導研修会特別講演（平成13年2月6日、千葉）

David M. DiPersio: “Pharmaceutical Care in the United States: Expanding Roles of the Pharmacist in Medical Practice”（アメリカにおけるファーマシューティカルケア：医療現場で広がっている薬剤師の役割）厚生省医薬安全総合研究事業学術講演会特別講演（平成13年2月15日、東京）

Shirley Reitz: “Clinical Practice Guidelines: The Pharmacist’s Role”（臨床業務ガイドライン：薬剤師の役割）厚生省医薬安全総合研究事業薬剤師病棟業務指導研修会特別講演（平成13年2月19日、名古屋）

Shirley Reitz: “Antimicrobial Switch Therapy in Community-Acquired Pneumonia”（市中肺炎の抗生物質スイッチ療法）厚生省医薬安全総合研究事業特別講演（平成13年2月20日、名古屋）

Shirley Reitz: “Clinical Practice Guidelines: The Pharmacist’s Role”（臨床業務ガイドライン：薬剤師の役割）厚生省医薬安全総合研究事業薬剤師病棟業務指導研修会特別講演（平成13年2月23日、京都）

Shirley Reitz: “Clinical Practice Guidelines: The Pharmacist’s Role”（臨床業務ガイドライン：薬剤師の役割）厚生省医薬安全総合研究事業薬剤師病棟業務指導研修会特別講演（平成13年2月26日、三重）

Barry L. Carter: “The Improve Study: How Do We Interpret the Results?（調査結果をいかに解釈し活用すべきか？）厚生省医薬安全総合研究事業薬剤師による患者ケア業務研修会特別講演（平成13年3月2日、札幌）

Barry L. Carter: “The Improve Study: How Do We Interpret the Results?（調査結果をいかに解釈し活用すべきか？）厚生省医薬安全総合研究事業薬剤師による患者ケア業務研修会特別講演（平成13年3月8日、秋田）

Barry L. Carter: “The Improve Study: How Do

We Interpret the Results?（調査結果をいかに解釈し活用すべきか？）厚生省医薬安全総合研究事業薬剤師による患者ケア業務研修会特別講演（平成13年3月9日、仙台）

(鍋島 班)

(1) 野田幸裕, 任修海, 亀井浩行, 間宮隆吉, 鍋島俊隆: Morphine の依存形成に対する dhydroepiandrosterone sulfate の抑制作用: 脳内シグナル伝達系の関与、第30回日本神経精神薬理学会年会（仙台, 2000.10.26-27）
(2) Noda, Y., Mamiya, T., Nagai, T. Ren, X. and Nabeshima, T.: The mechanisms of morphine dependence and its withdrawal syndrome: study in mutant mice. The 9th International Catecholamine Symposium(京都, 2001. 3.31-4.5)

(宮崎 班)

小林道也, 佐田憲昭, 立浪綾子, 坪井瞳, 菅原満, 井関 健, 宮崎勝巳「消化管内 pH 変動を考慮した薬物評価系の改良と消化管内薬物相互作用の評価」、第121回日本薬学会（平成13年3月、札幌）

(岩本 班)

西村信弘, 直良浩司, 平野栄作, 岩本喜久生: 甘草含有漢方エキス製剤によるトルブタミドの溶出阻害、日本薬学会第120年会（平成12年3月）

西村信弘, 直良浩司, 平野栄作, 岩本喜久生: トルブタミドの消化管吸収機構; Caco-2 細胞を用いた解析、第15回日本薬物動態学会年会（平成12年10月）

西村信弘, 直良浩司, 平野栄作, 岩本喜久生: 小柴胡湯によるトルブタミドの Caco-2 細胞単層膜透過性の亢進、第39回日本薬学会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会（平成12年10月）

西村信弘, 直良浩司, 平野栄作, 岩本喜久生: Caco-2 細胞におけるトルブタミド輸送機構および小柴胡湯の影響、日本薬学会第119年会（平成11年3月）

直良浩司, 岩本喜久生, 他: 日本薬学会第121年会（平成13年3月）

(大石 班)

(1) 古田和歌子, 中川慎介, 住村智子, 千堂年昭, 片岡泰文, 大石了三: 造影剤による血管内皮細胞透過性亢進における一酸化

窒素の役割. 日本薬学会 121 年会、札幌、
2000 年 3 月

(水柿 班)

鈴木直人, 菱沼隆則, 水柿道直: LC/MS-MS
を用いたヒト尿中 12-HETE の定量とその
性差. 日本薬学会第 120 年会. 岐阜, 2000 年
3 月 28 (火) . 31 (金)

2. 中村浩規, 菱沼隆則, 澤井高志, 水柿道直:
リウマチ患者におけるプロスタノイド
産生量に対する薬剤の影響. 第 8 回クリニ
カルファーマシーシンポジウム. 仙台, 2000
年 7 月 1 日 (土) . 2 日 (日)

3. 菱沼隆則, Bruce R. Canaday, 水柿道直. :
Pharmaceutical care and practice in North
Carolina, USA., 第 8 回クリニカルファ
ーマシーシンポジウム. 仙台, 2000 年 7 月 1
日 (土) . 2 日 (日)

4. Hishinuma T., Suzuki N., Aiba S., Tagami
H., Mizugaki M. Urinary Leukotriene E4
Excretion in Patients with Atopic Dermatitis.
60th International Congress of FIP., Vienna,
Austria, August 26 – 31, 2000

5. 水柿道直, 菱沼隆則: 3 型プロスタノイド
の超微量定量法の確立とその臨床応用 日
本脂質栄養学会第 9 回大会. (日本脂質栄養
学会ランズ賞学術賞受賞講演) 東京, 2000
年 9 月 8 日 (金) . 9 日 (土)

6. 菱沼隆則, 鈴木直人, 塚本宏樹, 水柿道直:
気管支喘息患者におけるロイコトリエ
ン及びトロンボキサン産生と病態との関連.
日本脂質栄養学会第 9 回大会. 東京, 2000
年 9 月 8 日 (金) . 9 日 (土) .

7. 菱沼隆則, 鈴木直人, 塚本宏樹, 水柿道直:
トロンボキサン代謝物の LC/MS-MS
による定量法の開発と臨床応用, 第 10 回日
本病院薬学会年会, 京都, 2000 年 10 月 7 日
(土) . 8 日 (日)

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

発明の名称: 麻薬性鎮痛剤の依存・耐性形
成抑制剤

発明者: 鍋島俊隆、吉井光信、塩谷正

特許出願人: 鍋島俊隆、第一製薬株式会社

特許出願日: 平成 8 年 8 月 6 日

特許番号: 6107330

厚生省科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）

分担研究報告書

モルヒネ耐性および依存形成に対するニューロステロイドの予防効果

主任研究者 鍋島 俊隆 名古屋大学医療薬学・医学部附属病院薬剤部長

研究要旨：モルヒネの適正使用を促進するために、モルヒネに対する依存形成のメカニズムの解明および薬物依存の予防・治療薬の開発に関する基礎研究を行った。モルヒネを連続投与したマウスにオピオイド受容体アンタゴニストのナロキソンを投与すると退薬症状が認められ、モルヒネに対する依存形成が示唆された。ニューロステロイドの一種であるデハイドロエピアンドロステロン硫酸塩(DHEAS, 10 mg/kg)とモルヒネを連続併用投与したマウスでは、モルヒネを単独で連続投与したマウスと比較して、ナロキソン誘発退薬症状の発現回数は有意に減少した。この DHEAS の作用はシグマ₁受容体拮抗薬の NE-100(5 mg/kg)によって拮抗された。モルヒネ連続投与マウスにおいて、退薬症状を示したマウスの脳内 cAMP 含量、c-fos mRNA、リン酸化 ERK2 蛋白の発現量は、saline 連続投与マウスと比較して有意に増加していた。DHEAS とモルヒネを連続併用投与したマウスでは、モルヒネ連続投与マウスと比較して脳内 cyclic AMP 含量には差は認められなかったが、c-fos mRNA とリン酸化 ERK2 蛋白の発現量は減少していた。以上の結果より、DHEAS はシグマ₁受容体を介してモルヒネの依存形成に抑制的に作用することが示唆された。

A. 研究目的

モルヒネはがん性疼痛の緩和療法に用いられる麻薬性鎮痛薬であるが、ヒトや動物に連用すると依存が形成されることが知られている。臨床においてモルヒネの連用による依存形成を心配して、がん性疼痛に対してモルヒネの使用を躊躇する場合がある。この場合、患者は激しい痛みに苦しむこととなり、QOL は著しく低下する。したがって、モルヒネによる依存形成のメカニズムの解明、あるいは薬物依存の予防・治療薬の開発は患者の QOL の改善や医薬品の適正使用に大いに貢献するものと考えられる。

近年、デハイドロエピアンドロステロン(DHEA)やその硫酸塩(DHEAS)あるいはプレグネノロン(PREG)などが脳内で合成されていることが明らかになり、末梢内分泌腺で合成されるステロイドホルモンと区別してニューロステロイドと呼ばれている。これまでの研究から、ニューロステロイドは情動や記憶などの高次脳神経機能を調節している新しい神経調節物質と考えられている。

本研究では、モルヒネの鎮痛効果、耐性および依存形成に対する DHEAS の効果とそのメカニズムについて検討した。

B. 研究方法

実験には ICR 系の雄性マウス（6週齢）を使用した。モルヒネ耐性/依存形成の実験では、モルヒネ(10 mg/kg s.c.)を1日2回5日間マウスに連続投与した。6日目にはモルヒネ連続投与マ

ウスにモルヒネ(10 mg/kg s.c.)を投与し、投与2時間後にナロキソン(1 mg/kg i.p.)を投与した。ナロキソン投与直後から退薬症状（逃避跳躍行動、前肢振戦および立ち上がり行動）の発現回数を15分間記録した。モルヒネの鎮痛効果は熱板法により測定した。DHEAS(10 mg/kg i.p.)およびシグマ₁受容体拮抗薬の NE-100(5 mg/kg i.p.)は、それぞれモルヒネ投与30および45分前に投与した。

行動観察終了後、脳内 cyclic AMP 含量を EIA 法により測定した。さらに、c-fos mRNA の発現量は RT-PCR 法を用いて、extracellular signal-regulated protein kinase (ERK)の活性は特異的リン酸化抗体を用いた Western blotting 法により解析した。

C. 研究結果

モルヒネの鎮痛効果と耐性発現に対する DHEAS の作用

モルヒネ(10 mg/kg)の単回投与により、熱板法におけるマウスの反応潜時を有意に延長し、鎮痛効果が確認された。DHEAS(10 mg/kg)とモルヒネを併用しても反応潜時は変化しなかった。モルヒネを5日間連続投与したマウスでは、6日目にモルヒネを投与しても熱板法における反応潜時はコントロール群と差がなく、単回投与後の反応潜時に比較して有意に短縮していた。したがって、モルヒネの5日間連続投与により、その鎮痛効果に耐性が生じたことが示唆された。一方、DHEAS(10 mg/kg)とモルヒネを併用して連続投

与したマウスでは、6日目にモルヒネを投与するとモルヒネ初回投与時と同程度の有意な鎮痛効果が観察された。

以上の結果より、DHEAS はモルヒネの鎮痛効果には影響せず、連続投与による耐性形成を抑制することが示唆された。

モルヒネの依存形成に対する DHEAS の作用

モルヒネを連続投与したマウスにナロキソン (1 mg/kg) を投与すると、投与直後より逃避跳躍行動、前肢振戦および立ち上がり行動が発現し、モルヒネに対する依存形成が示唆された。DHEAS (10 mg/kg) とモルヒネを連続併用投与したマウスでは、モルヒネ連続投与マウスと比較して、ナロキソン誘発退薬症状の発現回数は有意に減少した。この DHEAS の作用はシグマ₁ 受容体拮抗薬の NE-100 (5 mg/kg) によって拮抗された。

以上の結果より、DHEAS は、シグマ₁ 受容体を介してモルヒネの依存形成を抑制することが示唆された。

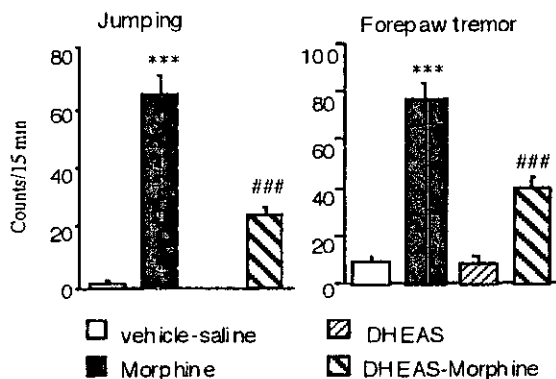


Fig. 1 Effect of DHEAS on naloxone-precipitated morphine withdrawal symptom in mice

モルヒネ依存マウスにおけるナロキソン投与後の脳内 cyclic AMP 含量、c-fos mRNA およびリン酸化 ERK の変化

モルヒネ連続投与マウスにおいて退薬症状を示したマウスの視床における cyclic AMP 含量、視床と皮質における c-fos mRNA の発現量および皮質におけるリン酸化 ERK2 の発現量は、saline 連続投与マウスのそれらと比較して増加していた。DHEAS とモルヒネを連続併用投与したマウスでは、モルヒネ単独投与群と比較して、

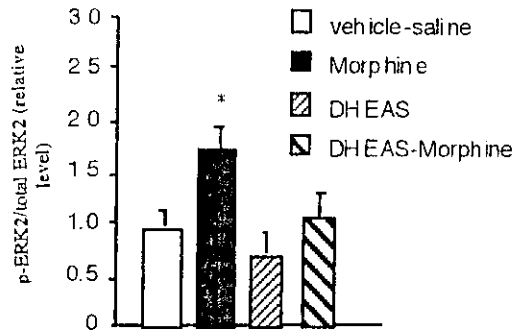


Fig. 2 Effect of DHEAS on naloxone-induced activation of ERK2 in morphine-dependent mice

cyclic AMP 含量に差は認められなかったが、視床における c-fos mRNA および皮質のリン酸化 ERK2 の増加をほぼ完全に抑制した。

D. 考察

ニューロステロイドの DHEAS は、GABA_A 受容体およびシグマ₁ 受容体に結合し、その機能を調節すると考えられている。シグマ₁ 受容体は様々な神経系に対して調節的に働き、抗ストレス作用、学習・記憶障害改善作用あるいは神経細胞保護作用に関与していることが示唆されている。しかしシグマ₁ 受容体と薬物依存との関係については未だよく分かっていない。

本研究において、DHEAS はモルヒネの鎮痛効果には影響を及ぼさなかったが、モルヒネ耐性および依存形成を抑制した。この結果は Reddy and Kulkarni (1997) の報告と一致していた。DHEAS のモルヒネ依存抑制作用はシグマ₁ 受容体拮抗薬の NE-100 によって拮抗されたことから、この作用はシグマ₁ 受容体を介して発現していると考えられる。

これまでに我々は、モルヒネの依存形成に cyclic AMP が重要な役割を果たしていることを報告している。以前の報告 (Mamiya et al., 2000) と同様に今回の研究でも、ナロキソン誘発退薬症状を示したモルヒネ連続投与マウスにおいて、脳内 cyclic AMP 含量の増加が認められた。一方、DHEAS はナロキソン誘発退薬症状を抑制したが、cyclic AMP の増加には影響しなかった。したがって、DHEAS は cyclic AMP の下流あるいはその他のシグナル伝達系を抑制することにより、モルヒネの依存形成を抑制すると考えられる。

モルヒネ連続投与ラットにおいて脳内 ERK 量が増加していること、およびモルヒネ連続投与マ

ウスにナロキソンを投与すると MAP Kinase が活性化することが報告されている。本研究においても、ナロキソン誘発退薬症状を示したマウスにおいてリン酸化 ERK2 の増加が認められ、ERK の活性化が示唆された。一方、DHEAS を併用すると、ERK の活性化が抑制された。さらに、ナロキソン誘発退薬症状を示したマウスの c-fos mRNA 量の増加も抑制された。

本研究より、DHEAS はシグマ₁ 受容体を介してモルヒネの耐性および依存形成に抑制的に作用することが示唆された。DHEAS の依存抑制作用の詳細なメカニズムは不明であるが、ERK シグナル伝達系が関与していることが示唆された。

E. 結論

本研究により次ぎのことが明らかとなった。

- (1) DHEAS はモルヒネの鎮痛効果には影響せず、連続投与による耐性形成を抑制する。
- (2) DHEAS は、シグマ₁ 受容体を介してモルヒネの依存形成を抑制する。
- (3) DHEAS のモルヒネ依存抑制作用には ERK シグナル伝達系が関与している。

F. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Noda, Y., Kamei, H., Kamei, Y., Nagai T., Nishida, M. and Nabeshima, T.: Neurosteroids ameliorate conditioned fear stress: An association with sigma₁ receptors. *Neuropsychopharmacology*, 23, 276-284 (2000)
- (2) Noda, Y., Kamei, H., Mamiya, T., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Repeated phencyclidine treatment induces negative symptom-like behavior in forced swimming test in mice: Imbalance of prefrontal serotonergic and dopaminergic functions. *Neuropsychopharmacology*, 23, 375-387 (2000)
- (3) Hamdy, M.H., Mamiya, T., Noda, Y., Sayed, M., Assi, A-A., Gomaa, A., Yamada, K. and Nabeshima, T.: A selective phosphodiesterase IV inhibitor, rolipram blocks both withdrawal behavioral manifestations, and c-Fos protein expression in morphine dependent mice. *Behav. Brain Res.*, 118, 85-93 (2001)
- (4) Mamiya, T., Noda, Y., Ren, X., Hamdy, M., Furukawa, S., Kameyama, T., Yamada, K. and Nabeshima, T.: Involvement of cyclic AMP systems in morphine physical dependence in mice. Prevention of development of morphine dependence by rolipram, a phosphodiesterase 4 inhibitor. *Br. J. Pharmacol*, 132, 1111-1117 (2001)

(5) Miyamoto, Y., Yamada, K., Noda, Y., Mori, H., Mishina, M. and Nabeshima, T.: Hyperfunction of dopaminergic and serotonergic neuronal systems in mice lacking the NMDA receptor ϵ_1 subunit. *J. Neurosci.*, 21, 750-757 (2001)

(6) Noda, A., Noda, Y., Ichihara, K., Mamiya, T., Nagai, T., Sugiura, S., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Phencyclidine impairs latent learning in mice: interaction between glutamatergic systems and sigma₁ receptors. *Neuropsychopharmacology*, 24, 451-460 (2001)

(7) Mori, A., Noda, Y., Mamiya, T., Miyamoto, Y., Nakajima, A., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Phencyclidine-induced discriminative stimulus is mediated via phencyclidine binding sites on the N-methyl-D-aspartate receptor-ion channel complex, not via sigma₁ receptors. *Behav. Brain Res.*, 119, 33-40 (2001)

2. 学会発表

(1) 野田幸裕, 任修海, 亀井浩行, 間宮隆吉, 鍋島俊隆: Morphine の依存形成に対する dehydroepiandrosterone sulfate の抑制作用: 脳内シグナル伝達系の関与、第 30 回日本神経精神薬理学会年会 (仙台, 2000.10.26-27)

(2) Noda, Y., Mamiya, T., Nagai, T., Ren, X. and Nabeshima, T.: The mechanisms of morphine dependence and its withdrawal syndrome: study in mutant mice. The 9th International Catecholamine Symposium (京都, 2001. 3.31-4.5)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

発明の名称: 麻薬性鎮痛剤の依存・耐性形成抑制剤

発明者: 鍋島俊隆、吉井光信、塩谷正

特許出願人: 鍋島俊隆、第一製薬株式会社

特許出願日: 平成 8 年 08 月 06 日

特許番号: 6107330

「薬物吸収予測システムを用いた高脂肪食併用時の脂溶性薬物の吸収評価」

分担研究者 宮崎 勝巳 北海道大学医学部附属病院 教授・薬剤部長

研究要旨

当研究室にて開発した薬物吸収予測システムを用いて数種の脂溶性薬物への高脂肪食（イントラリポス）の影響について検討した。その結果、用いたグリセオフルビン、ナプロキセン、プラシルカストは脂肪の添加により見かけの溶解度は増加し、小腸壁（Caco-2）透過率も増大したことから、本吸収予測システムにより、高脂肪食による吸収促進が予測可能であった。

一方、脂肪への分配が特に強かったアルベンダゾールの透過促進は認められなかった。

A. 研究目的

本研究室ではこれまでに、薬物の溶解と消化管 pH 変動を考慮した薬物吸収予測システムを構築し、易溶性薬物、難溶性薬物ともに吸収予測が可能であることを報告してきた。一方これまでに、数種の脂溶性薬物の消化管吸収は高脂肪食摂取時に増大することが報告されている。そこで今回は本吸収予測システムを用いて、脂溶性薬物に対する高脂肪食による吸収促進が予測可能であるか否かを評価することを目的とした。またこのような観点より消化管吸収性を予測した報告は殆どない。

B. 研究方法

吸収予測システムの概念図を図1に示す。胃内 pH を想定した胃液槽に固体状態で加えられた薬物は、溶解しながら小腸上部の pH を想定したチャンパー（pH 6.0）へと送られた後、Caco-2 細胞を挟んだ吸収槽（ドナー側）へと運ばれる。ここで、吸収される薬物は Caco-2 細胞を透過してアクセプター側へと移行する。

脂溶性薬物はグリセオフルビン、ナプロキセン、プラシルカストおよびアルベンダゾールを用い、脂肪食のモデルとしてはイントラリポスを使用し

た。薬物はいずれも固体の 10mg を胃液槽に添加した。消化管にはヒトの消化管吸収を良く反映することが知られているヒト結腸ガン由来細胞（Caco-2）を用い、拡散チャンパーに設置した。薬物の定量には HPLC を用いた。

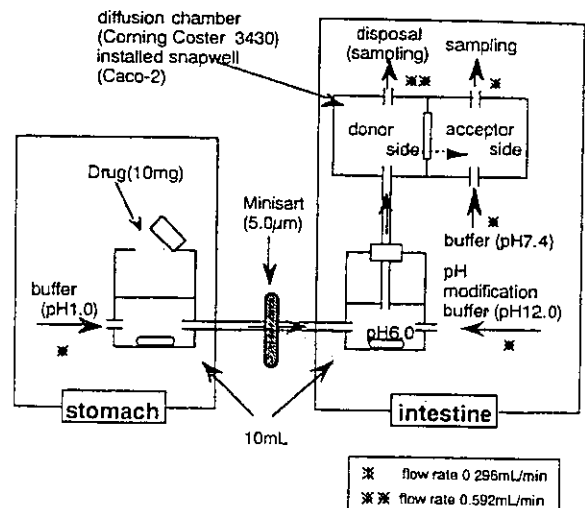


図1 pH変動を考慮した消化管吸収予測装置

C. 研究結果

まずはじめに、脂肪の添加によって Caco-2 細胞が損傷しないことを確認する目的で易溶性薬物（セフジニル）の膜透過性を測定した結果、脂肪

(イントラリポス) 添加の有無で膜透過率に変動は認められなかった。

1. 脂溶性薬物の溶解度

各脂溶性薬物の溶解度が脂肪添加により増大するか否かを確認するため、pH1.0ならびに6.0の条件において、10%の脂肪の添加による溶解度の変化をみた。その結果、いずれの薬物も両条件においてみかけの溶解度は増加した。

2. ドナー側への流出薬物量

ドナー側から装置外へと流出する溶液中の薬物濃度を測定することで、薬物の溶解性におよぼす脂肪添加の影響をみた。その結果、いずれの薬物も脂肪の添加により流出率、すなわち溶解性は顕著に増大した。

3. Caco-2 透過率

次いで、脂肪添加による各薬物のドナー側への流出の増大が、Caco-2 透過率を増大させるか否かについて検討した。その結果、グリセオフルビン、ナプロキセン、プラニルカストは脂肪添加によってCaco-2 透過率は有意に増大した。300分までの膜透過率でみると、グリセオフルビンおよびナプロキセンでは約3倍、プラニルカストでは約2倍に増大した。

しかしながら一方、アルベンダゾールは、ドナー側でのみかけの溶解度は増加したにもかかわらず、Caco-2 透過率の促進は認められなかった。

D. 考察

用いた4つの薬物のうち、Caco-2 透過促進が前3者で認められ、アルベンダゾールではみられなかった理由としては次のことが考えられる。脂肪添加後のドナー側の水相中に存在する薬物量を測定したところ、透過促進効果が認められたグリセオフルビン、ナプロキセン、プラニルカストは、いずれも水相中の薬物は、全量(水相+脂肪相)の60~90%を占めていたのに対して、アルベン

ダゾールでは、水相中に全量の約18%しか存在しなかった。このことは膜透過に促進が認められた薬物群の脂肪への分配は比較的弱く、pH調整槽やドナー側へ移行するにしたがって、脂肪相から水相へと移行しやすいことを示している。

一方、アルベンダゾールは脂肪への分配が特に強く、このことが消化管壁と接触する水中の遊離薬物量を減少させたものと考えられる。アルベンダゾールのヒトでの吸収は脂肪摂取によって増大することから、今後は胆汁酸の影響等を考慮して検討する必要があると思われる。

E. 結論

1. 脂溶性薬物のグリセオフルビン、ナプロキセン、プラニルカストは脂肪の添加によりみかけの溶解度が増大した。また水相での遊離型薬物も脂肪非添加時に比べて増大することで消化管吸収率が促進されたと考えられる。

2. アルベンダゾールは、脂肪添加によってみかけの溶解度は増大するものの、脂肪への分配が強いために膜透過の促進は認められなかった。

3. 本吸収予測システムは、脂肪との分配、およびドナー側での水相中遊離型濃度を考慮することで、高脂肪食による吸収促進の有無を予測可能であることが示唆された。

F. 学会発表

2001年3月 第121回日本薬学会(札幌)

「消化管内 pH 変動を考慮した薬物評価系の改良と消化管内薬物相互作用の評価」

小林 道也、佐田 憲昭、立浪 綾子、坪井 瞳、菅原 満、井関 健、宮崎 勝巳

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業） 分担研究報告書

漢方製剤等の繁用医薬品の相互作用に関する研究

分担研究者 岩本喜久生 島根医科大学医学部附属病院教授・薬剤部長

研究要旨 西洋薬あるいは合成薬と繁用される漢方エキス製剤として小柴胡湯を選び、*in situ*実験によりラット胃内容排出速度およびトルブタミドの胃吸収におよぼす小柴胡湯の影響について検討した。小柴胡湯の前処置あるいは併用により、試験食餌投与後40分におけるラットの胃内容排出速度は対照群の約7割に低下すること、これには小柴胡湯の用量依存性が認められないこと、しかしながら、トルブタミドの胃吸収には対照群との間で差が認められないことを明らかにした。以上の結果から、小柴胡湯はラットの胃内容排出機能を抑制する作用を有するものの、トルブタミドの胃吸収そのものには影響をおよぼさないことが示唆され、すでに得ている*in vivo*実験での小柴胡湯併用によるトルブタミドのバイオアベイラビリティ低下現象を支持する成績であると考えられる。

A. 研究目的

漢方製剤は慢性疾患に対して長期連用され、近年では他の西洋薬あるいは合成薬などと併用されるケースが多くなっている。漢方製剤と他の医薬品との相互作用に関する研究は、小柴胡湯単独あるいはインターフェロン製剤との併用による間質性肺炎などの副作用の発現や増悪が最近報告されて以来、ようやく注目されつつあるが、これらに関する基礎研究の成果が十分に蓄積されているとは言いがたい現状である。本研究では、多剤併用時の医薬品適正使用に有用な情報を得る目的で、繁用の漢方製剤のうち小柴胡湯を選び、本製剤と経口糖尿病用薬であるトルブタミドの消化管吸収過程における薬物相互作用について、とくに小柴胡湯の胃排出挙動およびトルブタミドの胃吸収挙動におよぼす影響について精査した。

B. 研究方法

1. 胃内容排出速度測定実験

前投与液として1%アラビアゴム懸濁液単独あるいは小柴胡湯エキス顆粒（250, 500, 750 mg/kg用）を含有したものをを用いた。試験食餌としてメチルセルロース（400 cps, 2 w/v%）水溶液に非吸収性マーカーのフェノールレッド（0.05 w/v%）およびトルブタミド（12.5 mg/mL）を添加したものをを用いた。無麻酔下10週令SD系雄性ラットに前投与液（2 mL/kg）をゾンデ針にて胃内に投与し、1時間後に試験食餌（4 mL/kg）を胃内に注入した。試験食餌注入直後、20分あるいは40分後にラットを屠殺し、腹大動脈より血液採取後ただちに噴門および幽門を切除し胃を全摘出した。摘出したラットの胃に残存するフェノールレッド量は、既報処理

法を一部改良してアルカリ処理後ホモジナイズし、トリクロロ酢酸混和後の遠心分離上清の再アルカリ化を経て、560 nmにおける吸光度測定により定量した。胃内容排出速度は試験食餌投与直後のラット胃を標準としてその残存フェノールレッド量を基準に胃から腸管への排出率として算出した。

2. 胃ループ吸収実験

ラットを実験前24時間絶食（さらに1時間は飲水も中止）しエーテル麻酔下開腹し幽門を結紮した。開腹部を簡易縫合したラットを個別ケージに戻し30分後にトルブタミド懸濁液（1% バレイショデンプン含有生理食塩液中）を単独あるいは小柴胡湯（500 mg/mL）とともにゾンデ針にてラット胃内に注入（4 mL/kg）した。注入後20, 40, 60分にラットを屠殺し腹大動脈より血液採取後、幽門部および噴門部を結紮・切除することにより、胃を摘出した。胃内に幽門からpHメーター極細電極を挿入し、胃内pHを測定した。胃内容物を取り出し遠心分離上清中のトルブタミド濃度をHPLC法にて定量し、胃内での溶出濃度とした。一方、血液より血清を得、血清中トルブタミド濃度を定量するとともに血清の一部を限外濾過し、ろ液中薬物濃度を測定しトルブタミドの結合形分率を求めた。

C. 研究結果

1. 胃内容排出速度におよぼす小柴胡湯の影響

試験食餌投与後20分の胃内容排出速度は対照群と小柴胡湯前処置群との間で差は無く、両群とも約35%であったが、40分後のそれは対照群が81%であるのに対して小柴胡湯群では58%（対照群の71.6%）と有意に減少し、

小柴胡湯による胃内容排出機能の抑制が観察された。小柴胡湯の用量を3水準に変えて検討したところ、いずれの投与量においても対照群の約70%に低下するのみで用量依存性は認められなかった。一方、腹大動脈中トルブタミド濃度は、対照群に比べ小柴胡湯前処置群で若干低下する傾向を示し、いずれの時点においても血中薬物濃度は胃内容排出速度と正の相関関係を示すことも明らかとなった。小柴胡湯前処置群における胃内pHは、対照群(約1.8)に比べいずれの時間においても高値(約2.5~3.5)を示した。

2. トルブタミドの胃吸収におよぼす小柴胡湯の影響

幽門結紮ラットを用いるin situ胃吸収実験法により検討した結果、投与後20分における血清中トルブタミド濃度は小柴胡湯併用群が単独群に比較してやや低値を示したが、40分以降では逆に高値で上昇傾向が観察された。しかし、60分までのAUCには、併用群でやや大きくなる傾向があるものの両群間での有意差は存在しなかった。さらに、本実験条件下でのトルブタミドの血清蛋白結合率は約92%であり、小柴胡湯併用の影響は認められなかった。

D. 考察

胃内容排出試験において小柴胡湯懸濁液を前処置としたのは、試験食餌との同時投与では対照群にくらべ胃内容が高粘度となるのでその影響を解消するためであった。小柴胡湯前処置による胃内容排出速度の低下は胃内pHの上昇に加えて、恐らく中枢神経系を介する胃収縮機能の抑制作用によるものと考えられる。本実験での胃内容排出速度の低下効果の主要因は小柴胡湯に含有される生姜の指標成分である[6]-gingerolによるものと推察される。胃内容排出速度と血中トルブタミド濃度との間に密接な相関関係が認められ、排出速度が大なるほど高い血中濃度を示したことから、胃内容排出速度は経口投与後の血中トルブタミド濃度を支配しうる要因の一つであると考察される。

トルブタミドはその化学的性質より胃からも吸収されうると考えられたので、幽門結紮ラットによるin situ胃吸収におよぼす小柴胡湯併用の影響を調査したところ、吸収率に対応するパラメータであるAUCでは併用の影響が認められなかった。本実験条件下での胃吸収によるAUCは、研究者らが既報したin vivo経口投与後のトルブタミドのAUCの僅か約10

%程度にしか相当しないことから、この薬物の主たる吸収部位は小腸であることが明確となった。

E. 結論

小柴胡湯による前処置はラット胃内容排出機能に対して抑制的に作用し、その胃内容排出抑制作用が血中トルブタミド濃度の低下を導くことが明らかとなった。また、ラットにおけるトルブタミドの消化管吸収に対する胃吸収の寄与は小さく、しかも小柴胡湯の併用は胃吸収にはほとんど影響をおよぼさないことが明らかとなった。併用によるトルブタミドのバイオアバイラビリティ低下の成績(既報)および小腸吸収過程における相互作用をCaco-2細胞膜系で精査した最近の成績(発表予定)などとともに、本研究での知見は臨床における小柴胡湯の他剤との併用に対して有用な示唆を与えるものと考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Nishimura, N., Naora, K., Hirano, H., Iwamoto, K.: A chinese traditional medicine, Sho-saiko-to(Xiao-Chaihu-Tang), reduces the bioavailability of tolbutamide after oral administration in rats. *Am. J. Chin. Med.*, 27, 355-363(2000).

Nishimura, N., Naora, K., Hirano, H., Iwamoto, K.: Effects of Sho-saiko-to(Xiao Chai Hu Tang), a chinese traditional medicine, on the gastric function and absorption of tolbutamide in rats. *Yakugaku-Zasshi*, 121, 153-159(2001).

2. 学会発表

西村信弘、直良浩司、平野栄作、岩本喜久生：甘草含有漢方エキス製剤によるトルブタミドの溶出阻害、日本薬学会第120年会、平成12年3月。

西村信弘、直良浩司、平野栄作、岩本喜久生：トルブタミドの消化管吸収機構；Caco-2細胞を用いた解析、第15回日本薬物動態学会年会、平成12年10月。

西村信弘、直良浩司、平野栄作、岩本喜久生：小柴胡湯によるトルブタミドのCaco-2細胞単層膜透過性の亢進、第39回日本薬学会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会、平成12年10月。

西村信弘、直良浩司、平野栄作、岩本喜久生：Caco-2細胞におけるトルブタミド輸送機構および小柴胡湯の影響、日本薬学会第121年会、平成13年3月。

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）
分担研究報告書

医薬品有害作用に関する基礎的研究

分担研究者 大石 了三 九州大学医学部附属病院薬剤部教授

研究要旨 ヒト微小血管内皮細胞に対するヨード造影剤の影響について検討した。イオキサグル酸およびイオヘキソールは濃度依存的に血管内皮細胞の sodium fluorescein に対する透過性を亢進した。イオキサグル酸による透過性亢進は、一酸化窒素 (NO) 供与体であるニトロプルシドナトリウムの前処置により有意に抑制された。一方、NO合成酵素阻害剤L-NMMAの前処置は著明にイオキサグル酸による血管内皮細胞の透過性亢進を増悪した。また、イオキサグル酸及びイオヘキソールは血管内皮細胞のNO産生を濃度依存的に抑制した。以上の結果より、造影剤の血管透過性亢進作用にNOが抑制的役割を示し、造影剤自身のNO産生抑制も血管透過性亢進の一因と考えられた。

A. 研究目的

ヨード造影剤は尿路、血管、CTなどのX線造影検査に広く使用されている。造影剤に期待される作用はX線吸収という物理的な作用のみであり、造影剤の薬理作用はほとんどが副作用として現れることになる。現在、主流となっている非イオン性造影剤の副作用は、以前のものに比べればその発生率はかなり減少しているが約3%に見られており、0.04%は重篤な副作用である。極めて多い使用件数を考えると重篤な副作用発現件数は年間数千例以上にも達する。しかも、これらの発現機序は不明の点が多く副作用の予防対策も十分でない。

我々はこれまでに、造影剤の注入時のバイアル製剤からディスポーザブルシリンジへの移し替え操作および高速注入に伴い、シリンジ内壁からのシリコン遊離による不溶性微粒子が異常に増加すること、造影剤のシリコン汚染は肺障害作用の増悪因子となること、造影剤による肺浮腫に対してNOは抑制的役割を示すことを報告してきた。本研究の目的は、ヒト微小血管内皮細胞を用いて、造影剤の血管透過性に対する作用、NOの関与、形態学的変化、NO産生に対する作用を明らかにすることである。

B. 研究方法

1. ヒト微小血管内皮細胞透過性に対する

造影剤の効果

プレートにインサートをおき、そのインサートの膜内に微小血管内皮細胞を培養した。NO関連薬物の非存在下あるいは存在下で造影剤を30分間負荷し、洗浄後、sodium fluoresceinを添加し、5、10、15分後にプレート内に透過した量を測定して、その値から透過係数を求めた。

2. ヒト微小血管内皮細胞におけるNO産生に対する造影剤の効果

培養した微小血管内皮細胞に造影剤(50-150mgI/mL)を30分間負荷し、その後15分間に産生されるNO₂の量を高速液体クロマトグラフィーを用いたジアゾ化反応吸光度法により測定した。

3. 形態学的変化

プレートに微小血管内皮細胞を培養し、光学顕微鏡で観察しながら造影剤(100-150mgI/mL)を負荷し、10、30、60分後に正常な細胞の割合を測定した。

C. 研究結果

1. ヒト微小血管内皮細胞透過性に対する造影剤の効果

イオキサグル酸、イオヘキソールともに濃度依存的に、また15分後まで直線的にsodium fluoresceinの血管内皮細胞透過性を亢進し、100mgI/mLの濃度ではいずれも約2.5倍となった。

ニトロプルシドナトリウム1mMはそれ自体透過性に影響を与えなかったが、イオキサグル酸150mgI/mLによる透過性亢進は約50%抑制された。また、イオキサグル酸50mgI/mL単独では透過性にほとんど影響を及ぼさなかったが、NO合成酵素阻害薬N-monomethyl-L-arginine (L-NMMA) 0.5 mMの添加により約2.5倍に透過性を亢進させた。L-NMMA 0.5 mM自体では透過性に影響を与えなかった。

2. ヒト微小血管内皮細胞におけるNO産生に対する造影剤の効果

微小血管内皮細胞のNO₂産生量はイオキサグル酸およびイオヘキソールにより濃度依存的に抑制された。150mgI/mLでの抑制率はそれぞれ約75%および55%であった。

3. 形態学的変化

イオヘキソールは微小血管内皮細胞に対しほとんど形態学的変化を与えなかった。しかし、イオキサグル酸は細胞を変性させ、10、30、60分後の正常細胞の割合は100mgI/mLでは約80%、60%、50%、150mgI/mLでは約43%、35%、25%であった。

D. 考察

本研究において、造影剤はヒト微小血管内皮細胞のsodium fluoresceinに対する透過性を亢進させ、その作用はNO供与体のニトロプルシドナトリウムにより抑制され、NO合成酵素阻害薬L-NMMAにより著明に増強された。これらの結果は造影剤によるラット肺へのエバンスブルー漏出量増加を指標としたin vivoの結果と一致している。

今回、造影剤が内皮細胞のNO産生を抑制することが明らかとなった。このことは造影剤による血管透過性亢進作用の一つのメカニズムかもしれない。また、イオキサグル酸が細胞を直接変性させることも分かったが、イオヘキソールによる明らかな細胞変性は認められなかった。このことはイオン性造影剤が非イオン性造影剤よりも直接的な細胞障害作用が強いことを示唆するかもしれない。しかし、この作用が透過性の亢進にどの程度寄与しているかは明らかでない。

これらの結果から、NOは造影剤によっ

て引き起される血管内皮細胞透過性の亢進に対して保護的に働くことが示され、NO供与体が造影剤による血管内皮細胞障害の予防に有効である可能性が示唆される。さらに、eNOS遺伝子多型によりNO産生の低下した患者では造影剤による血管内皮細胞傷害の危険性が高いことも示唆される。

E. 結論

1. 造影剤はヒト微小血管内皮細胞のsodium fluoresceinに対する透過性を亢進させ、その亢進にNOは抑制的役割を示す。
2. 微小血管内皮細胞のNO産生は造影剤により濃度依存的に抑制される。
3. イオキサグル酸は微小血管内皮細胞を変性させる。

以上の結果は、造影剤の血管内皮細胞に対する有害作用を明らかにしたもので、有害作用の危険性や予防対策を提唱するものである。

F. 研究発表

1. 論文発表

(1) Sendo, T., Kataoka, Y., Takeda, Y., Furuta, W. and Oishi, R. Nitric oxide protects against contrast media-induced pulmonary vascular permeability in rats. *Invest. Radiol.*, 35: 472-478, 2000.

(2) Tominaga, K., Kataoka, Y., Sendo, T., Furuta, W., Niizeki, M. and Oishi, R. Contrast medium-induced pulmonary vascular hyperpermeability is aggravated in a rat climacterium model. *Invest. Radiol.*, in press.

(3) Furuta, W., Sendo, T., Kataoka, Y. and Oishi, R. Morphologic degeneration of a human microvascular endothelial cells induced by iodinated contrast media. *Acad. Radiol.*, in press.

2. 学会発表

(1) 古田和歌子、中川慎介、住村智子、千堂年昭、片岡泰文、大石了三：造影剤による血管内皮細胞透過性亢進における一酸化窒素の役割。日本薬学会121年会、札幌、2000年3月

Cysteinyl LT 産生とアトピー性皮膚炎の病態との関連性に関する研究

分担研究者 水柿道直 東北大学医学部附属病院薬剤部

Cysteinyl LT と呼ばれる LTC₄、LTD₄ 及び LTE₄ の産生亢進はアレルギー性疾患や炎症性疾患の病態と密接に関連すると考えられており、その生体内挙動についての定量的解析が病態の把握や薬物療法の治療効果の判定等に有用な情報を提供するものと期待される。そこで我々は、先に液体クロマトグラフィー/タンデムマススペクトロメトリー（LC/MS-MS）による尿中 LTE₄ の簡便かつ高感度な測定法を確立し、ヒトにおける cysteinyl LT 産生量の評価を可能とした。

アトピー性皮膚炎（AD）は、アトピー素因を有する患者に生じ、憎悪・寛解を繰り返す掻痒のある湿疹を主病変とする疾患である。AD 患者においては IgE 産生の亢進や末梢好酸球数の増加、病変部における肥満細胞数の増加等が認められており、血管透過性亢進作用や皮膚における発赤や腫脹誘発作用等を有する cysteinyl LT が AD の病態形成に関与している可能性が示唆される。しかし、AD の病態に対する cysteinyl LT の寄与についてはいまだ明確ではない。

そこで本研究では、AD 患者の尿中 LTE₄ 量の測定を行い、健常人における測定値との比較を行った。さらに、AD 患者における尿中 LTE₄ 量と、血清総 IgE 値及び末梢好酸球数との相関性についても検討した。

A. 研究目的

アトピー性皮膚炎（atopic dermatitis, AD）は、アトピー素因を有する患者に生じ、憎悪・寛解を繰り返す掻痒のある湿疹を主病変とする疾患である。AD 患者においては IgE 産生の亢進や末梢好酸球数の増加、また病変部においてリンパ球や単球の浸潤及び肥満細胞数の増加が認められており、AD の病態形成に免疫系の異常や炎症反応が関与していると考えられている。このようなことから、近年 Th1/Th2 サイトカインの産生プロファイル解析を始め免疫学的な観点から AD の病態へのアプローチが数多くなされており、AD の免疫学的性質が明らかにされてきている。しかし、エイコサノイドのような炎症性メディエーターの動態など、炎症疾患としての AD の病態に関する知見は比較的乏しい。

Cysteinyl LT は血管透過性亢進作用、皮膚における発赤や腫脹誘発作用、また好酸球浸潤作用等を有しており、AD 患者では cysteinyl LT の産生が亢進している可能性が示唆される。しかし、病変部における LTC₄ の産生亢進に関する報告については二次的な産生亢進の可能性が考えられるほか、尿中代謝体の LTE₄ の測定においては統一した結果は得られていないなど、現在まで cysteinyl LT の AD への寄与についていまだ明確な結論は得られていない。

このような背景から、我々は先に LC/MS-MS による簡便な LTE₄ の測定法を用いて、AD 患者の尿中 LTE₄ 量の測定を行い、健常人における測定値と比較するとともに使用薬剤との関連について検討した。さらに、AD 患者における尿

中 LTE₄ 量と、血清総 IgE 値及び末梢好酸球数との相関性についても検討した。

B. 研究方法

LTE₄ の測定は、先に確立した方法により行った。タンデム質量分析計に エレクトロスプレーイオン化インターフェイスを装着した Quattro II (micromass)、HPLC 装置に Nanospace SI-1 (資生堂)を用いた LC/MS-MS 装置を使用した。

C. 研究結果

1. 対象

尿中 LTE₄ 量の測定は、試料採取に関して本人の同意が得られた外来の AD 患者 42 例、

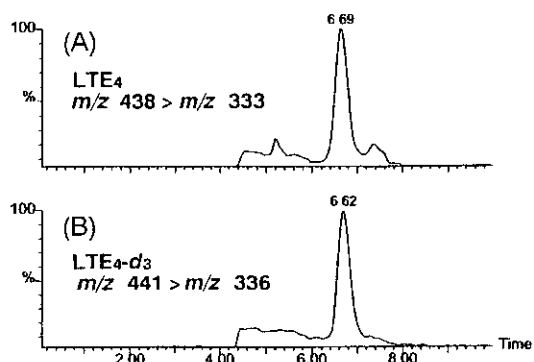
Table 1 Characteristics of subjects

	No. of subjects	Age(mean : SD)	Sex	
			F	M
Patients with AD	42	20 : 8	15	27
Patients with other dermatosis	5	37 : 20	3	2
Healthy volunteers	17	27 : 6	5	12

急性湿疹など AD 以外の皮膚疾患を有する患者 5 例及びアレルギー性疾患に罹患していない健常人 17 例を対象として行った。平均年齢はそれぞれ 20 才、37 才及び 27 才であった (Table 1)。

2. LTE4 量

LTE4 量の測定は、先に確立した LC/MS-MS を用いた方法により行った。ヒト尿試料から精製した LTE4 の SRM クロマトグラムを Fig. 1 に示す。LTE4 及び内部標準物質として用いた重水素標識 LTE4 (LTE4-*d*₃) は 6.6 分付近に観測され、妨害ピークは認められなかった。



AD 患者、非 AD 患者及び健常人の尿中 LTE4 量を測定した。本研究では、対象とした全試料について LTE4 の検出・定量が可能であった。なお、LTE4 量は同一尿のクレアチニン含量により補正を行った。結果を Fig. 2 に示す。

AD 患者の尿中 LTE4 量は平均 130 ± 106 pg/mg creatinine であり、健常人と同等の値を示す患者も存在するものの健常人尿中 LTE4 量の平均値である 60 ± 18 pg/mg creatinine に比べ有意に高値を示した ($p < 0.005$)。同様に、AD 以外の皮膚疾患患者の尿中 LTE4 量は 100 ± 40 pg/mg creatinine であり、健常人尿中 LTE4 量に比べ有意に高値を示した ($p < 0.05$)。一方、AD 患者及び AD 以外の皮膚疾患患者の尿中 LTE4 量の間には有意な差は認められなかった。

3. 病態変化との関連

新規に通院した AD 患者 4 例を対象に、治療開始前及び治療開始から約 2 週間後の尿中 LTE4 量の変動について検討した。患者は外用のステロイド剤、抗ヒスタミン剤、抗アレルギー剤及び抗菌剤を症状に応じて処方された (Fig. 3 A)。

その結果、全ての患者において治療に伴い尿中 LTE4 量の減少が認められた (Fig. 3 B)。また、

治療開始前に LTE4 量が最も高値を示した AD 患者で認められた苔癬化を伴う点状紅斑や丘疹は治療開始後 2 週間で軽減が認められ (Fig. 3 C)、皮膚の改善に伴い尿中 LTE4 量が減少していることが示された。同様に、他の AD 患者においても病状の改善が認められた。

4. 臨床検査値との関連

AD 患者の多くで IgE 産生の亢進や末梢好酸球数の増加が認められている。IgE とアレルギーの複合体により肥満細胞やマクロファージからの cysteinyl LT の産生が惹起されることや、活性化した好酸球が cysteinyl LT を産生することから、cysteinyl LT と IgE 及び好酸球数との関連性が示唆される。そこで、AD 患者の尿中 LTE4 量と、血清総 IgE 値及び末梢好酸球数との関連について検討した。

AD 患者血清総 IgE 値の平均値は 6,100 IU/mL であり、165 IU/mL 以下とされる健常人血清総 IgE 値に比べ明らかに高値を示した。さらに、AD 患者の血清総 IgE 値と尿中 LTE4 量の間には有意な正の相関が認められた (Fig. 4)。

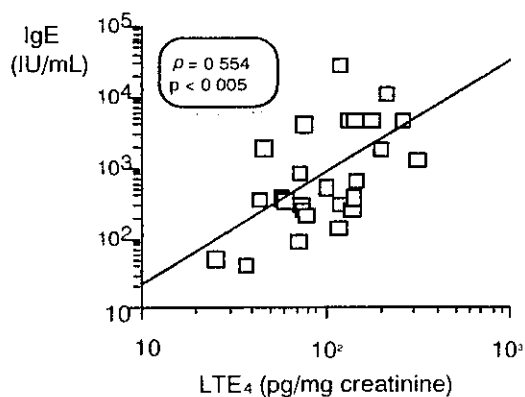


Fig. 4 Correlation between LTE4 levels and serum total IgE in patients with AD

一方、AD 患者血中の白血球数に対する好酸球数の割合は平均 9.9% であり、平均 3.0% とされる健常人における値に比べ明らかな高値を示したが、尿中 LTE4 量との関連性は認められなかった (Fig. 5)。

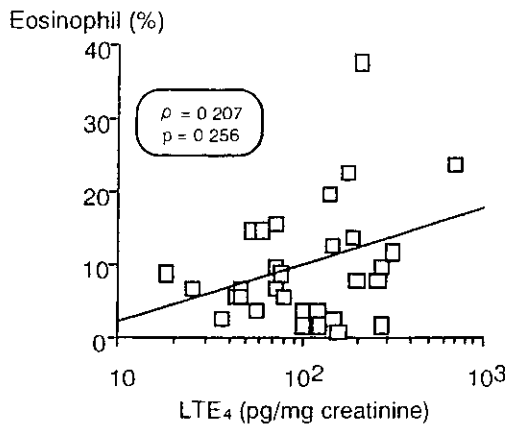


Fig. 5 Correlation between LTE4 levels and peripheral eosinophil count in patients with AD

D. 考察

これまで、AD 患者におけるエイコサノイド産生異常の有無については、主に血中及び皮膚病変部におけるエイコサノイド量の測定により検討されている。AD 患者血中 LTB₄ 量は健常人における値に比較して高値を示す。また、血中 LTC₄、LTD₄ 及び TXB₂ 量は健常人レベルと同程度であるとされている。また、皮膚病変部においては、LTB₄、LTC₄ 及び PGE₂ の産生が亢進していることなどが報告されており、エイコサノイドの病態への寄与が示唆されている。しかしながら、cysteinyl LT の産生亢進に関しては、血中の LTC₄ 及び LTD₄ は不安定であることや、病変部におけるエイコサノイドの測定では試料採取時に人工的に産生が亢進する可能性を否定できないなど、いまだ問題点が残されているのが現状である。炎症疾患としての病態の解明や AD 患者の Quality of Life の向上に寄与する新規治療法を開発する上で、cysteinyl LT の動態解析の意義は大きいと考えられる。そこで、生体内における cysteinyl LT 産生の指標となる尿中 LTE₄ 量と AD との関連性について検討した。

本研究では、健常人に比べ AD 患者の尿中 LTE₄ 量は有意に高値を示し、AD 患者において cysteinyl LT 産生が亢進していることが示された。これまで、AD 患者における尿中 LTE₄ 量の測定についての報告は散見されるのみであり、またその結果は相反している。すなわち、GC/MS-MS による尿中 LTE₄ 量の測定により AD 患者における cysteinyl LT の産生亢進が報告されている一方、RIA による測定の報告では AD 患者の尿中 LTE₄ 量と健常人尿中 LTE₄ 量との間に有意な差は認められないとされている。

このような相違の理由としては、RIA により測

定した尿中 LTE₄ 量が健常人において高値であることが挙げられる。一方、LC/MS-MS では低濃度の LTE₄ 量を夾雑物の影響を受けることなく測定することが可能である。また健常人尿中 LTE₄ 量はこれまでに報告されている健常人尿中 LTE₄ 量と同等であることから、本研究における健常人尿中の LTE₄ 量は正確な値を反映していると推察される。

さらに、先の報告では対象とした AD 患者がそれぞれ 8 例、7 例と少数例であることも理由として考えられる。本研究においても、AD 患者で統計学的に有意な尿中 LTE₄ 量の増加が認められたものの、健常人と同等な値を示す患者が存在することが示されている。また、新規に通院した AD 患者を対象にした尿中 LTE₄ 量の変動についての検討では、治療による苔癬化を伴う点状紅斑や丘疹といった皮膚症状の改善とともに尿中 LTE₄ 量の減少が認められた。特に、治療開始前に LTE₄ 量が高値を示した患者において大きな変化が認められたが、一方 LTE₄ 量が正常値に近い値を示した AD 患者においては治療後においても同程度であった。以上のことから、cysteinyl LT が全ての AD 患者の病態において重要なメディエーターではないという可能性が示唆された。

AD 患者の 80% 以上で IgE の産生亢進が認められており、IgE により誘発される種々の反応が AD の病態形成に大きな役割を果たしていると考えられている。このようなことから、炎症性メディエーターの産生に及ぼす IgE の影響について多くの研究がなされてきているが、ヒスタミンなどのメディエーターの産生や病態の重症度と血清総 IgE 値の間には必ずしも相関関係は認められていない。このため、IgE により惹起される肥満細胞の脱顆粒反応が AD の病態に及ぼす影響は比較的小さいものと考えられてきた。一方、本研究では少数例での結果ではあるが、尿中 LTE₄ 量と血清総 IgE 値との間に有意な正の相関が認められた。この結果は、IgE 受容体を有する肥満細胞やマクロファージばかりでなく、AD の病態形成に関与している好酸球を始めとする多種の細胞が活性化することにより産生された cysteinyl LT が、全身性の cysteinyl LT 産生の指標となる尿中 LTE₄ 量に反映されたことによるものと考えられた。LTE₄ の産生亢進が多種の細胞の寄与の結果であるという考察は、尿中 LTE₄ 量と末梢血好酸球数との間に有意な相関が認められなかったことから支持された。以上のことから、尿中 LTE₄ 量が正常値を示す AD 患者では、病態形成に対し、IgE により誘発されるメディエーターの産生・放出の寄与が比較的小さい可能性が示唆された。本研究における結果は、非

侵襲的に採取が可能である尿中 LTE4 量の測定が間接的に血清総 IgE 値を類推する方法として有用であるばかりでなく、IgE を介する種々のアレルギー反応の病態への寄与の程度を評価する方法としても有用である可能性を示した。

現在、AD の治療には外用ステロイド剤を基本として内服の抗アレルギー剤や抗菌剤等が併用されている。また、近年免疫抑制薬であるタクロリムスを用いた治療が大きな効果を上げている。従来、抗アレルギー剤単独投与では治療効果は不十分とされているが、本研究の結果は、気管支喘息の治療に有効である cysteinyl LT 受容体拮抗薬などの抗 cysteinyl LT 薬が AD の病態に奏功する可能性を示唆するものと考えられた。さらに、尿中 LTE4 量が健常人と同等な値を示す AD 患者も存在することから、尿中 LTE4 量の測定が個々の患者に適した治療を行うオーダーメイド医療に応用できる可能性が示された。

今後は、乾癬患者においても cysteinyl LT の産生亢進が報告されていることから、今回少数例の検討であった AD 以外の皮膚疾患患者の尿中 LTE4 量の測定例数を増やし、cysteinyl LT の産生亢進の疾患特異性についてさらに検討する必要があると考えられる。

E. 結論

尿中 LTE4 量の測定から、AD 患者では cysteinyl LT の産生が有意に亢進していること、症状の改善に伴い cysteinyl LT の産生が減少することを示した。また、尿中 LTE4 量が血清総 IgE 値と相関する一方、末梢血白血球数に占める好酸球数の割合とは相関性が認められないことを明らかにした。

以上のことから、AD の病態に関して cysteinyl LT が重要な役割を果たしている可能性が示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. 水柿道直、菱沼隆則、3型プロスタノイドの超微量定量法の確立とその臨床応用、脂質栄養学（総説）、2001、印刷中

2. Hishinuma T, Suzuki N, Aiba S, Tagami H, Mizugaki M., Increased urinary leukotriene E4 excretion in patients with atopic dermatitis. Br J Dermatol. 2001, 144:19-23.

3. Suzuki N, Hishinuma T, Abe F, Omata K, Ito S, Sugiyama M, Mizugaki M., Difference in urinary LTE4 and 11-dehydro-TXB2 excretion in asthmatic patients., Prostaglandins Other Lipid Mediat. 2000, 62:395-403.

4. Murai Y, Hishinuma T, Suzuki N, Satoh J, Toyota T, Mizugaki M., Determination of urinary 8-epi-prostaglandin F2 α using liquid chromatography-tandem mass spectrometry: increased excretion in diabetics., Prostaglandins Other Lipid Mediat. 2000, 62:173-81.

5. Mizugaki M, Ishizawa F, Yamazaki T, Hishinuma T., Epigallocatechin gallate increase the prostacyclin production of bovine aortic endothelial cells, Prostaglandins Other Lipid Mediat. 2000, 62:157-64.

6. Hishinuma T, Yamazaki T, Mizugaki M., Troglitazone has a reducing effect on thromboxane production, Prostaglandins Other Lipid Mediat. 2000 62:135-43.

7. Hishinuma T, Koseki Y, Katayama J, Murai Y, Saito T, Mizugaki M.

Changes of the thromboxane A2/prostacyclin balance in the urine of patients with renal diseases analyzed by gas chromatography/selected ion monitoring. Prostaglandins Other Lipid Mediat. 2000, 60:1-8.

2. 学会発表

1. 鈴木直人、菱沼隆則、水柿道直、LC/MS-MS を用いたヒト尿中 12-HETE の定量とその性差。
日本薬学会第 120 年会、岐阜、2000 年 3 月 28（火）
。31（金）

2. 中村浩規、菱沼隆則、澤井高志、水柿道直。
リウマチ患者におけるプロスタノイド産生量に対する薬剤の影響。
第 8 回クリニカルファーマシーシンポジウム。
仙台、2000 年 7 月 1 日（土）・2 日（日）

3. Pharmaceutical care and practice in North Carolina, USA., 菱沼隆則, Bruce R. Canaday, 水柿道直.

第8回クリニカルファーマシーシンポジウム.
仙台, 2000年7月1日(土). 2日(日)

4. Hishinuma T., Suzuki N., Aiba S., Tagami H.,
Mizugaki M. Urinary Leukotriene E4 Excretion in
Patients with Atopic Dermatitis.
60th International Congress of FIP.
Vienna, Austria, August 26 – 31, 2000

5.水柿道直, 菱沼隆則, 3型プロスタノイドの超
微量定量法の確立とその臨床応用,
日本脂質栄養学会第9回大会. (日本脂質栄養学
会ランズ賞学術賞受賞講演)
東京, 2000年9月8日(金). 9日(土)

6. 菱沼隆則, 鈴木直人, 塚本宏樹, 水柿道直,
気管支喘息患者におけるロイコトリエン及びト
ロンボキサン産生と病態との関連.
日本脂質栄養学会第9回大会.
東京, 2000年9月8日(金). 9日(土).

7. 菱沼隆則, 鈴木直人, 塚本宏樹, 水柿道直.
トロンボキサン代謝物の LC/MS-MS による定量
法の開発と臨床応用, 第10回日本病院薬学会年
会, 京都, 2000年10月7日(土). 8日(日)