

22 文献

- [1] Carroll CL, Sekaran AK, Lerer TJ, Schramm CM. A modified pulmonary index score with predictive value for pediatric asthma exacerbations. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2005 Mar;94(3):355-9.
- [2] 西間三馨, 小田嶋博. ISAAC(International Study of Asthma and Allergies in Childhood) 第 I 相試験における小児アレルギー疾患の有症率. *日本小児アレルギー学会誌.* 2002;16(3):207-20.
- [3] 西日本小児アレルギー研究会・有症率調査研究班. 西日本小学児童におけるアレルギー疾患有症率調査 1992年と2002年の比較. *日本小児アレルギー学会誌.* 2003;17(3):255-68.
- [4] Donahue JG, Weiss ST, Livingston JM, Goetsch MA, Greineder DK, Platt R. Inhaled steroids and the risk of hospitalization for asthma. *Jama.* 1997 Mar 19;277(11):887-91.
- [5] Blais L, Ernst P, Boivin JF, Suissa S. Inhaled corticosteroids and the prevention of readmission to hospital for asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998 Jul;158(1):126-32.
- [6] Suissa S, Ernst P, Benayoun S, Baltzan M, Cai B. Low-dose inhaled corticosteroids and the prevention of death from asthma. *N Engl J Med.* 2000 Aug 3;343(5):332-6.
- [7] Katz RW, Kelly HW, Crowley MR, Grad R, McWilliams BC, Murphy SJ. Safety of continuous nebulized albuterol for bronchospasm in infants and children. *Pediatrics.* 1993 Nov;92(5):666-9.
- [8] Craig VL, Bigos D, Brill R. Efficacy and safety of continuous albuterol nebulization in children with severe status asthmaticus. *Pediatr Emerg Care.* 1996 Feb;12(1):1-5.
- [9] Smith M, Iqbal S, Elliott TM, Everard M, Rowe BH. Corticosteroids for hospitalised children with acute asthma. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003(2):CD002886.
- [10] Rowe BH, Spooner C, Ducharme FM, Bretzlaff JA, Bota GW. Early emergency department treatment of acute asthma with systemic corticosteroids. *Cochrane Database Syst Rev.* 2001(1):CD002178.
- [11] Camargo CA, Jr., Spooner CH, Rowe BH. Continuous versus intermittent beta-agonists in the treatment of acute asthma. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003(4):CD001115.
- [12] Papo MC, Frank J, Thompson AE. A prospective, randomized study of continuous versus intermittent nebulized albuterol for severe status asthmaticus in children. *Crit Care Med.* 1993 Oct;21(10):1479-86.
- [13] Khine H, Fuchs SM, Saville AL. Continuous vs intermittent nebulized albuterol for emergency management of asthma. *Acad Emerg Med.* 1996 Nov;3(11):1019-24.
- [14] National Asthma Education and Prevention Program (NAEPP), Expert Panel

Report 3 (EPR3): Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma. National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) 2007.

[15] Kadar D, Tang HY, Conn AW. Isoproterenol metabolism in children after intravenous administration. Clin Pharmacol Ther. 1974 Nov;16(5 Part 1):789-95.

[16] Reyes G, Schwartz PH, Newth CJ, Eldadah MK. The pharmacokinetics of isoproterenol in critically ill pediatric patients. J Clin Pharmacol. 1993 Jan;33(1):29-34.

[17] 朱博光. 気管支喘息重症発作に対するイソプロテレノール持続吸入療法について. 小児科. 1981;22(5):537-43.

[18] 乾宏行, 小幡俊彦, 植草忠. 小児気管支喘息重症発作に対するイソプロテレノール療法. 日本小児アレルギー学会誌. 1988;2(1):28-35.

[19] 笹本明義, 斎藤誠一, 松本広伸. 気管支喘息重積発作に対する低濃度イソプロテレノール(isopro)持続吸入療法の効果. 日本小児アレルギー学会誌. 1992;6(1):20-6.

[20] 足立雄一, 吉住昭, 五十嵐隆夫. 小児気管支喘息症発作に対するイソプロテレノール持続吸入療法(第2報) 年少児と年長児における差の検討. アレルギー. 1992;41(11):1584-90.

[21] 小幡俊彦, 八木剛一, 内山宏幸. 小児気管支喘息患者271例に対するイソプロテレノール持続吸入療法の検討. 小児科. 1994;35(1):85-9.

[22] 橋本光司, 飯倉洋治, 小屋二六. 小児気管支喘息重積発作に対する多施設共同による1-イソプロテレノール持続吸入療法に関する検討. 小児科診療. 1997;60(6):1050-62.

[23] 松野正知, 伊東道夫, 吉住昭, 足立雄一, 五十嵐隆夫. 小児気管支喘息重症発作に対するイソプロテレノール持続吸入療法 dl 体と1体の比較検討. 日本小児アレルギー学会誌. 2003;17(1):115-21.

[24] 高増哲也, 柳川進, 栗原和幸. 小児気管支喘息発作に対する dl 体イソプロテレノール持続吸入療法 アスプールの大量持続吸入療法. アレルギー. 1998;47(5):504-10.

[25] 三好麻里, 足立佳代, 櫻井隆, 児玉荘一. 1体イソプロテレノール持続吸入療法中に心筋障害, うっ血性心不全を呈した3歳幼児例. 日本小児アレルギー学会誌. 1999;13(2):51-8.

[26] 小児気管支喘息治療・管理ガイドライン. 日本小児アレルギー学会 2005.

[27] 高増哲也, 栗原和幸, 五藤和子. 小児気管支喘息発作に対する dl 体イソプロテレノール持続吸入療法(II) アスプールの少量持続吸入療法-大量療法との比較. アレルギー. 1998;47(6):573-81.

[28] Speizer FE, Doll R, Heaf P. Observations on recent increase in mortality from asthma. British medical journal. 1968 Feb 10;1(5588):335-9.

[29] Crane J, Pearce N, Flatt A, Burgess C, Jackson R, Kwong T, et al. Prescribed fenoterol and death from asthma in New Zealand, 1981-83: case-control study. Lancet. 1989 Apr 29;1(8644):917-22.

[30] Pearce N, Crane J, Burgess C, Beasley R. Beta-agonist use and death from asthma. Jama. 1994 Mar 16;271(11):822-3.

[31] Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Global Initiative for

Asthma (GINA) 2006.

[32] Wood DW, Downes JJ, Lecks HI. A clinical scoring system for the diagnosis of respiratory failure. Preliminary report on childhood status asthmaticus. *Am J Dis Child.* 1972 Mar;123(3):227-8.

[33] Angelilli ML, Thomas R. Inter-rater evaluation of a clinical scoring system in children with asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2002 Feb;88(2):209-14.

[34] Kim IK, Phrampus E, Venkataraman S, Pitetti R, Saville A, Corcoran T, et al. Helium/oxygen-driven albuterol nebulization in the treatment of children with moderate to severe asthma exacerbations: a randomized, controlled trial. *Pediatrics.* 2005 Nov;116(5):1127-33.

[35] Scarfone RJ, Loielle JM, Joffe MD, Mull CC, Stiller S, Thompson K, et al. A randomized trial of magnesium in the emergency department treatment of children with asthma. *Annals of emergency medicine.* 2000 Dec;36(6):572-8.

[36] Hanania NA, Moore RH, Zimmerman JL, Miller CT, Bag R, Sharafkhaneh A, et al. The role of intrinsic efficacy in determining response to a beta2-agonist in acute severe asthma. *Respir Med.* 2007 May;101(5):1007-14.

[37] Product Information: VENTOLIN(R) HFA inhalation aerosol, albuterol inhalation aerosol. NC: GlaxoSmithKline; 2005.

[38] 野々村和男, 松分久美子, 藤戸敬士, 小西廣己. イソプロテレノール持続吸入療法中の吸入残液濃度に関する検討. *日本小児科学会雑誌.* 2006;110(9):1304.

[39] Parameswaran K, Belda J, Rowe BH. Addition of intravenous aminophylline to beta2-agonists in adults with acute asthma. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000(4):CD002742.

[40] Maguire JF, O'Rourke PP, Colan SD, Geha RS, Crone R. Cardiotoxicity during treatment of severe childhood asthma. *Pediatrics.* 1991 Dec;88(6):1180-6.

[41] Travers AH, Rowe BH, Barker S, Jones A, Camargo CA, Jr. The effectiveness of IV beta-agonists in treating patients with acute asthma in the emergency department: a meta-analysis. *Chest.* 2002 Oct;122(4):1200-7.

[42] Rodrigo GJ, Castro-Rodriguez JA. Anticholinergics in the treatment of children and adults with acute asthma: a systematic review with meta-analysis. *Thorax.* 2005 Sep;60(9):740-6.

[43] Rijnbeek PR, Witsenburg M, Schrama E, Hess J, Kors JA. New normal limits for the paediatric electrocardiogram. *European heart journal.* 2001 Apr;22(8):702-11.

[44] Wald A. Sequential tests of statistical Hypotheses. *The annals of Mathematical Statistics* 1945;16(2):117-86.

[45] Whitehead J. *The Design and Analysis of Sequential Clinical Trials.* 2nd ed. West Sussex. 1997.

23 付録

23.1 年齢別の血圧 95 パーセンタイル (mmHg)

(身長 50 パーセンタイル相当)

男児			女児		
年齢	収縮期血圧 (mmHg)	拡張期血圧 (mmHg)	年齢	収縮期血圧 (mmHg)	拡張期血圧 (mmHg)
1	103	56	1	104	58
2	106	61	2	105	63
3	109	65	3	107	67
4	111	69	4	108	70
5	112	72	5	110	72
6	114	74	6	111	74
7	115	76	7	113	75
8	116	78	8	115	76
9	118	79	9	117	77
10	119	80	10	119	78
11	121	80	11	121	79
12	123	81	12	123	80
13	126	81	13	124	81
14	128	82	14	126	82
15	131	83	15	127	83
16	134	84	16	128	84
17	136	87	17	129	84

米国高血圧教育プログラムワーキンググループ報告

Pediatrics 2004;114(2 suppl 4th report):555-76

23.2 小児血清クレアチニンキナーゼ (CK) 基準値

男性			女性		
年齢	CK(U/l) LLN	CK(U/l) ULN	年齢	CK(U/l) LLN	CK(U/l) ULN
1ヶ月	55	304	1ヶ月	13	252
2ヶ月	66	345	2ヶ月	26	283
3ヶ月	76	384	3ヶ月	34	302
4ヶ月	86	419	4ヶ月	51	345
5ヶ月	94	448	5ヶ月	67	386
6ヶ月	98	465	6ヶ月	78	415
7ヶ月	95	453	7ヶ月	83	427
8ヶ月	89	431	8ヶ月	80	420
9ヶ月	85	415	9ヶ月	71	397
10ヶ月	82	404	10ヶ月	61	372
11ヶ月	79	392	11ヶ月	51	347
1歳	66	389	1歳	61	316
2歳	62	359	2歳	59	302
3歳	59	332	3歳	57	289
4歳	56	307	4歳	56	277
5歳	54	287	5歳	55	268
6歳	53	277	6歳	53	256
7歳	52	274	7歳	52	249
8歳	52	273	8歳	51	241
9歳	53	283	9歳	50	234
10歳	54	284	10歳	49	226
11歳	55	292	11歳	48	218
12歳	56	305	12歳	47	212
13歳	57	197	13歳	32	180
14歳	57	197	14歳	32	180
15歳～	57	197	15歳～	32	180
20歳～	57	197	20歳～	32	180

(国立成育医療センター小児臨床検査基準値より引用)

患者さんの保護者の方へのご協力をお願い

研究課題:

『小児気管支喘息重症発作に対するインプロテレンール持続吸入療法の検討:サルブタモール持続吸入療法を対照とした多施設共同二重盲検ランダム化比較試験』

今回、ご協力をお願いしたいのは小児気管支喘息の発作治療に関する臨床研究です。

1. 本研究の目的・方法

1) 目的

日本においては、重症喘息発作の治療に対して以前より、「インプロテレンール持続吸入療法」が行なわれており、この治療法は『小児気管支喘息治療ガイドライン(JPGL2005)』でも推奨されています。一方で、日本以外の国では、重症発作時の持続吸入治療として『サルブタモール持続吸入療法』が推奨され、アメリカのガイドライン等に記載されています。サルブタモールは、商品名を「ベネトリン」といいます。日本でも、喘息発作時に救急外来において第一に行なう代表的吸入薬であり(ただし単回吸入であって持続吸入ではありません)、非常に良く使われております。しかしながら、サルブタモールは重症発作に対する持続吸入としては使用されません。

インプロテレンール持続吸入療法のように、日本国内でよく用いられ、ガイドラインにも掲載されている治療法が世界的には認められず、一方、サルブタモール持続吸入療法のように、世界的にはよく知られていても、日本では一部の医療機関でしか使われていないという食い違いは好ましくありません。より効果的な良い治療法を日本の喘息児にも、外国の喘息児にも受けて頂きたいからです。そこで私たちは、厚生労働省の補助を得て、複数の病院において両者を比較して、より優れた発作治療方法を見出す研究を計画しました。

2) 方法

現在お子さんの喘息発作は、外来治療では十分な改善が得られなかったため、入院しての追加治療が必要です。

入院後、以下のいずれかの治療を開始し、12時間続けさせて頂きたいと思います。

A. インプロテレンール持続吸入療法+ステロイド(点滴)静注 (日本の標準治療)

B. サルブタモール持続吸入療法+ステロイド(点滴)静注 (世界の標準治療)

喘息が改善したかどうかの判断には主観が入り込むため、担当医師はA・Bいずれに割り振られるか、分からない状態で治療を開始します。

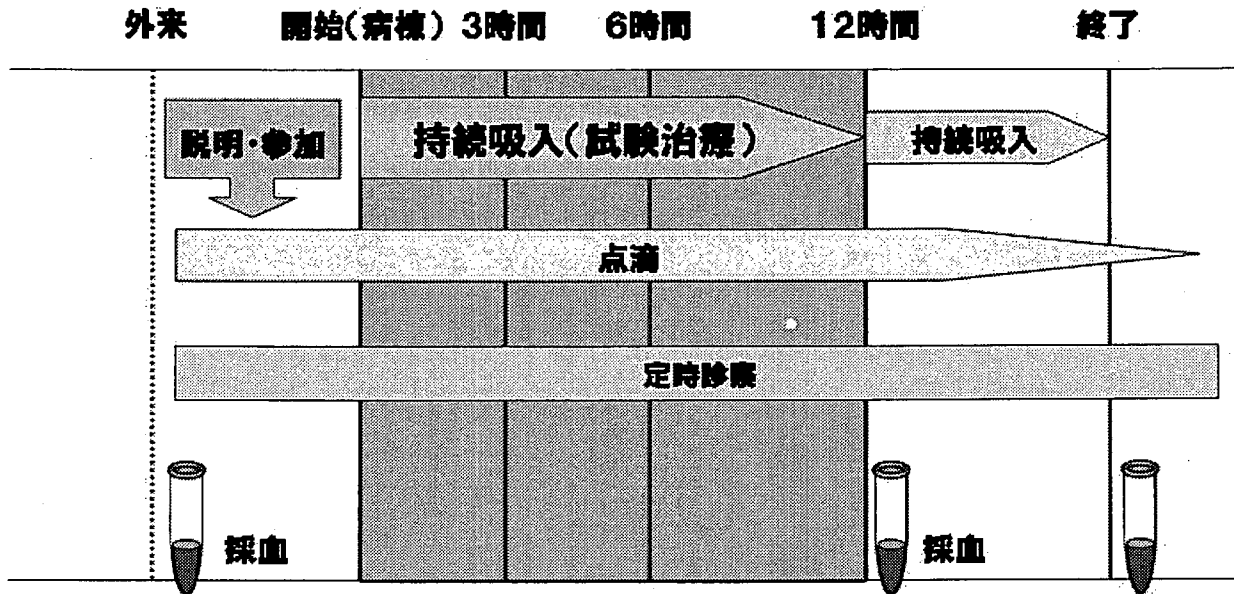
つまり、今から登録後、直ちに薬の入った箱①か②を割り振られます。その2種類の箱には、以下の組み合わせのいずれかになります。

● **インプロテレンール + ニセのサルブタモール(生理食塩水)**

● **ニセのインプロテレンール(生理食塩水) + サルブタモール**

ただし先ほども申し上げた通り、①、②のいずれなのかは、担当医も、そしてご本人・ご家族も分かることができません。こうした方法で、私たちの喘息診察に先入観が入ることを避けたいのです。

この試験の流れ



2. 予想される効果、副作用、危険性

イソプロテレンール持続吸入療法、サルブタモール持続吸入療法、いずれも効果に優れ安全な治療法であるという評価が、国内・世界レベルで確立しています。通常、本吸入療法開始1時間後には、有意な喘息症状の改善が認められます。

イソプロテレンールに関しては、3.1%に副作用が報告され、主なものは心悸亢進(心臓のドキドキ感: 1.4%)でした。

ベネトリンに関しては、2.8%に副作用が報告され、主なものは頭痛(1.0%)、心悸亢進(0.9%)、手指振戦(指のふるえ: 0.6%)でした。

その他、極めて稀れですが、心筋傷害作用や低カリウム血症が報告されています(当施設(両治療ともに数千~数万例の経験があります)での経験はありません)。

本研究においては、万全を期し、全症例に経皮酸素モニターを装着し、酸素の状態や心拍数を観察します。また、心筋傷害の検査(血清心筋トロポニンT)の測定も実施します。

3. 本研究への自由意思による参加

この試験に参加するかどうかは、あなたの自由意思です。この臨床研究への参加を断っても、当院での診療において、あなたのお子様が不利益をこうむることはありません。従来通り、あなたのお子様の症状にあった適切な治療(イソプロテレンール持続吸入療法になる可能性が高いです)を行いますのでご安心下さい。

4. 緊急時の連絡先

同意を撤回したい場合、疑問がある場合には小児科医局を通し、勝沼俊雄、飯倉克人へご連絡下さい。

☎ 電話:03-3433-1111(内線 3321-2)

またあなたの個人情報の開示等の請求、苦情および問い合わせ先は、上記の研究責任者に加えて次の通りです。

- 附属病院個人情報保護相談窓口(直通電話:03-5400-1272)
- 午前9時～午後5時/休診日を除く)

5. 人権・プライバシーの保護について

当院における患者さんの個人情報保護についての一般的な考え方は、病院内掲示「患者さんの個人情報について」および配布文書「患者さんの個人情報の保護に関するお知らせ」に示した通りです。

この研究で使用させていただくあなたの個人情報については、「学校法人慈恵大学 個人情報保護に関する規程」および「臨床研究に関する倫理指針」を遵守して保護につとめ、細心の注意をもって取り扱います。

この研究ではあなたの個人情報を外部の機関等に提供することはありません。この研究結果は論文として発表されたり、学会で報告される場合がありますが、あなたの氏名・イニシャルなど個人が特定できるものは公表いたしません。

いただいた検体は、個人が特定できないように、別に番号をふって処理いたします。また研究終了後は試料を破棄し、本研究以外にデータは用いません。

6. 費用

今回の喘息診療費はすべて通常の保険により支払われます。ただし、イソプロテレノールおよびサルブタモールのダブルダミーに要する費用は研究費から支払われます。試験終了後のイソプロテレノールまたはサルブタモール持続吸入療法継続分は保険より支払われます。また、血清心筋トロポニンT検査費用は当方から支出いたします。

7. 利益・不利益

本試験に参加する場合に受ける治療は、国内外で標準化され、治療経験蓄積のある治療であることから、研究に参加しない場合に受ける従来の治療と実質上は異なるものではなく、参加者に対する診療上の不利益はないと考えております。

同意書

殿

私は、『小児気管支喘息重症発作に対するイソプロテロール持続吸入療法の検討：サルブタモール持続吸入療法を対照とした多施設共同二重盲検ランダム化比較試験』について、説明文書により下記の説明を受け、その目的・内容・注意事項等、十分理解しましたので、この研究に参加することを同意いたします。

1. 本研究の目的・方法
2. 副作用、危険性等及び経済的負担
3. 本研究への自由意思による参加
4. 本研究への参加をいつでも撤回できること
5. プライバシーの保護
6. その他()

同意日 平成 年 月 日

同意者 _____ (印)

代諾者 _____ (印)

私は、『小児気管支喘息重症発作に対するイソプロテロール持続吸入療法の検討：サルブタモール持続吸入療法を対照とした多施設共同二重盲検ランダム化比較試験』について、目的・内容・注意事項等を十分説明し、上記のとおり同意を得ました。

説明日 平成 年 月 日

説明医師 _____ (印)

アドレナリン作動薬 イソプロテレンールおよびサルブタモールの特性について

国立成育医療センター成育医療臨床研究センター 米子 真記

今回、「小児気管支喘息重症発作に対するイソプロテレンール持続吸入療法の検討:サルブタモール持続吸入を対象とした多施設共同盲検ランダム化比較試験」実施に向け、使用する医薬品の特性について、薬理学および薬物動態学的要素を中心に情報を収集、解析したので報告する。

調査方法

- ・ 国内外のイソプロテレンールおよびサルブタモール医薬品製剤の添付文書、インタビューフォームおよび審査報告書等
- ・ 喘息に関する各ガイドライン
- ・ Pub Med による文献調査
- ・ 薬理学書 (Goodman & Gilman's The Pharmacological basis of therapeutics, Martindale, NEW 薬理学等)

上記のソースを用いて、情報検索を行った。

項目

1. 物性および製剤の安定性について
2. 薬物動態について
3. 薬理(活性)について
4. β_2 -受容体の遺伝子多型について
5. 副作用、毒性について

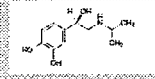
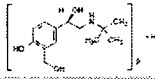
【物性および製剤の安定性について】

イソプロテレンールおよびサルブタモールの物性について、表 1 にまとめた。両化合物は、不斉炭素をもつエナンチオマー(鏡像異性体)であり、共に R-体に強い薬理活性が認められている。本邦においては、イソプロテレンールに関しては R-体および RS-体が、サルブタモールに関しては、RS-体のみが医薬品として市販されている。

米国においては、サルブタモールの S-体に気道過敏性を高める作用や気管支収縮作用を有するとの報告があることから[1, 2], R-体だけの医薬品

Xopenex[®]が市販されている。

表 1 イソプロテレンールおよびサルブタモールの物性

	イソプロテレンール Isoproterenol	サルブタモール Salbutamol
化学名 (IUPAC)	(RS)-1-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-isopropylaminoethanol	(RS)-2-tert-Butylamino-1-(4-hydroxy-3-hydroxymethylphenyl)ethanol
化学式	C ₁₁ H ₁₇ NO ₃ (211.3)	C ₁₃ H ₂₁ NO ₃ (239.3)
活性	R-体 >> S-体 (90倍活性が強力) (R-体 = R-配置, S-体 = S-配置)	R-配置 >> S-配置 (90-100倍活性が強力)
	白鳥 イソプロレナリン 錠剤	白鳥 サルブタモール 錠剤
化学式	C ₁₁ H ₁₇ NO ₃ · HCl (247.72)	[C ₁₃ H ₂₁ NO ₃ · H ₂ SO ₄] (576.70)
構造式		
性状	白色の結晶性の粉末ではない	白色の粉末
溶解性	水に溶けやすい(1g/1-10ml) 1g/水にやや溶けにくい(1g/30-100ml)	水に溶けやすい(1g/1-10ml) 1g/水に溶けにくい(1g/100-1000ml)

本邦における RS-イソプロテレンール製剤であるアスプールの液の安定性は、空気又は光によって徐々に着色することがインタビューフォームに記載されており、バイアルは窒素で充填されている。また、R-イソプロテレンール製剤であるプロタノール[®]L 注においても、窒素ガス充填が施されている。

本邦における RS-サルブタモール製剤であるベネトリン[®]吸入液は、生理食塩液による希釈(5-20 倍希釈時)後の安定性は、室温および冷暗所で 4 週間放置しても 97 %の含有率を示し、比較的安定な製剤である[3]。

【薬物動態について】

イソプロテレンール

非経口経路およびエアゾールにて投与を行った場

合、速やかに吸収される。吸収された後、肝臓および他の臓器にて、カテコール-*O*-メチルトランスフェラーゼ (catechol-*O*-methyltransferase, COMT)によって、カテコール核 *m*-位の水酸基が、*O*-メチル化される(図 1)。カテコラミンのエピネフリンおよびノルエピネフリンなどと比べ、モノアミンオキシダーゼ (monoamine oxidase, MAO)による酸化的脱アミノ化を受けにくい[4]。

6歳から16歳の小児患者(人工呼吸器装置で維持されている広範囲脳損傷)に、イソプロテレノールを静脈内投与したとき、消失半減期は2.5-5分である。投与後6時間までに投与量の約60%が、24時間までに約90%が尿中に排泄された[5]。排泄物の約7割は、COMTによって代謝された後に硫酸抱合を受けた代謝物であり、未変化体は1割程度である[5]。

小児(生後2日~14歳)への投与では、消失半減期が 4.2 ± 1.5 分、分布容積が 216 ± 57 mL/kg、全身クリアランスは 42.5 ± 5.0 mL/kg/minである[6]。心疾患術後小児患者の全身クリアランスは呼吸器疾患小児患者よりも低下することが認められ、この原因として心拍出量が影響しているものと考えられている[6]。

サルブタモール

サルブタモールは、イソプロテレノールのカテコール核 *m*-位の水酸基およびアミノ基に結合する置換基に改変を加えた薬剤である。この改変により、COMTによる代謝を受けにくく、また β_2 -受容体に対する選択性を増加させている。

吸入により投与を行った場合、15分以内に気管支拡張作用を示し、この効果は3-4時間持続する[7]。健常成人にRS-体(2.5 mg)を吸入により投与したとき、消失半減期はR体で1.52時間、S体で5.29時間であり、全身クリアランスはR体で1000 L/hr、S体で123 L/hrである[7, 8]。吸入による肺への薬剤の到達率は、一般的に投与量の約20%であるとの報告がある[9, 10]。主要代謝物は、サルブタモールの4-*O*-硫酸抱合体であり、投与量の約80%が未変化体または硫

酸抱合体の形で腎より排泄される[11](図 1)。硫酸抱合体を形成する酵素は、硫酸転移酵素 (Sulfotransferase)であり、その中でもサルブタモールはSULT1A3で代謝される[11]。ヒト組織を用いた硫酸抱合体生成速度は、サルブタモールのR-体の K_m 値はS-体と比較し、約10倍低く、 V_{max} 値に差は認められなかったとの報告がある[12]。つまり、ラセミ体を投与した際、R/S体それぞれの挙動が異なる原因として、エナンチオマーによる硫酸抱合反応速度が異なることが大きく影響しているものと考えられる。このように、エナンチオマーによる硫酸抱合反応速度が異なる β -作動薬として、イソプロテレノールおよびテルブタリンが報告されているが、どちらも気管支拡張作用を持たないS-体が優先して抱合を受ける[12]。

R-体のみをヒトに投与した場合、生体内でS-体に変換するInterconversionはサルブタモールでは認められない[8]。

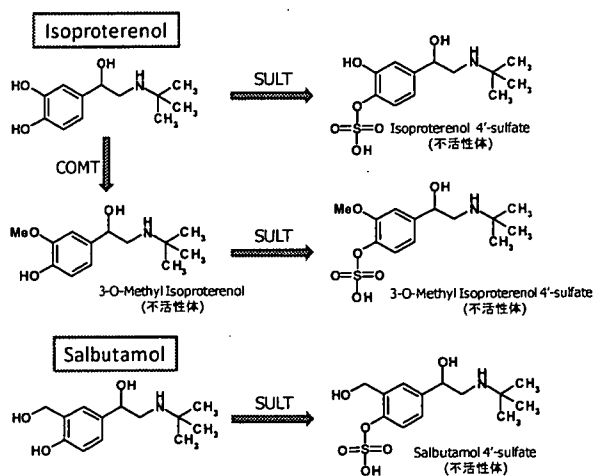


図 1 各薬物の代謝経路

【薬理(活性)について】

イソプロテレノールおよびサルブタモールはアドレナリン作動薬であり、アドレナリン作用性神経刺激の効果に類似した作用を表す薬である。本邦では、気管支拡張薬としてイソプロテレノールおよびサルブタモールがともに使用されている。

両薬剤の気管支拡張作用は、気管支平滑筋が交感神経刺激によって、アドレナリン受容体(AR, β_2 -受容体)を介して拡張することを利用している。アドレナリン作動薬が β_2 -受容体に結合すると、アデニル酸シクラーゼ(AC)を活性化し、細胞内 cAMP 濃度を増大する。cAMP により活性化されたプロテインキナーゼ A (PKA)は Ca^{2+} -ATP アーゼをリン酸化して Ca^{2+} ポンプを活性化し、細胞内 Ca^{2+} 濃度を低下させる。また、PKA によるミオシン軽鎖キナーゼ(MLCK)の不活化により平滑筋は拡張する[13] (図 2)。

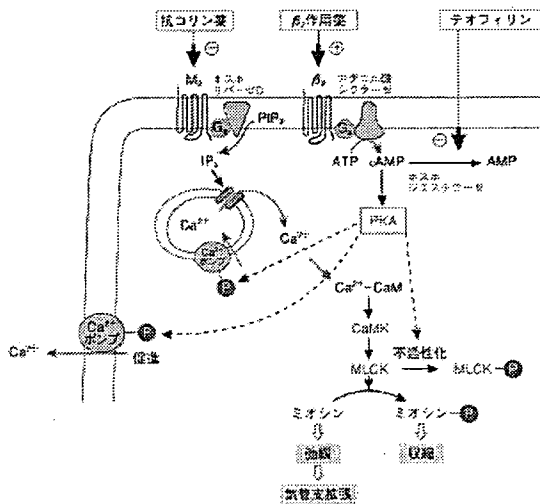
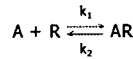


図 2 気管支拡張薬の作用機序(文献 13 より)

一般的に、受容体を介する薬物の作用は、①受容体に結合した薬物量、②薬物-受容体間の親和性、③受容体に結合した薬物(agonist)の固有活性、の 3 要素によって規定される(図 3)。

《薬の作用の受容体理論(Receptor theory): Clark, 1933》



A: 薬物
R: 受容体
AR: 薬物-受容体複合体
 k_1, k_2 : 反応速度定数

$$\frac{[A][R]}{[AR]} = \frac{k_2}{k_1} = K_D$$

[A],[R],[AR]: 各濃度
 K_D : 結合の解離定数

$$? = K_D [AR]$$

? : 薬理反応の大きさ

《アゴニストの固有活性: Ariens, 1964》

$$S = a_A [AR]$$

S: 薬物-受容体複合体が形成された後に生ずる刺激の大きさ

a_A : アゴニストの固有活性 (intrinsic activity)

図 3 受容体活性を規定する 3 要素

表 2 より、インプロテレノールは、 AR_{β_1} -および β_2 -受容体に親和性を持つが($K_D = 41.7, 20.1$), β_2 -受容体への選択性は低い[14]。一方、アルブテロール(サルブタモール)に関しては、S-体が最も β_2 -受容体が高い親和性を持つが($K_D = 33600$), β_2 -受容体への選択性は R-体が最も高いことがわかる。

次に、固有活性[15]から、インプロテレノールは完全アゴニスト(Full agonist)、アルブテロールは部分アゴニスト(Partial agonist)に分類ができる。Partial agonist は agonist 存在下では antagonist として作用する。そのため、緊急を要する臨床の場合では、Partial agonist を用いるよりも、確実に反応が得られる Full agonist を用いた方が論理的であろう[15]。

表 2 親和性(解離定数)および固有活性の比較

(文献 14, 15 より)

Comparison of Ligand Affinities for Human β_1 AR and β_2 AR

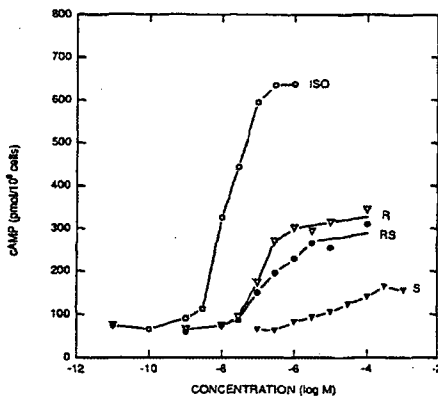
Compound	n	K_D for β_1 AR (nM)	K_D for β_2 AR (nM)	Fold selectivity, β_1 AR: β_2 AR
(-)-isoproterenol	1	41.7	20.1	0.48
R-albuterol	2	236	1540	6.5
RS-albuterol	2	668	2980	4.5
S-albuterol	3	33600	111000	3.3

Intrinsic efficacies of some Commonly Used β -Agonists

Drug	Intrinsic Efficacy (%)
Epinephrine	100.0
Isoproterenol	100.0
Albuterol	4.9

β_2 -受容体が高発現している前立腺由来のヒトPC3細胞を用いて、cAMPの産生と用量相関を評価した報告では、EC₅₀値がイソプロテレノールでは12 nM、R-アルブテロールでは100 nMであり約10倍もの差が認められている[14] (図4)。

イソプロテレノールは、非選択性の β 受容体作動薬であるため、心筋および脂肪細胞膜に多く存在する β_1 -受容体を介する心機能および脂肪分解促進作用を持つ。気管支喘息に対しては、心臓刺激作用が少なく、比較的選択的に β_2 -受容体に作用する薬物が用いられている。一方、サルブタモールと比較して低用量のイソプロテレノールにヒスタミン遊離抑制作用が認められる報告[16, 17]がある。 β_2 -作動薬の基本的な作用は、気管支拡張作用であるが、抗炎症作用など今後の新たな知見が期待されると同時に、臨床的意義の検証が必要と考えられる。



Dose-response curves for cAMP production in human prostate PC3 cells.

図4 イソプロテレノール (Full agonist) およびアルブテロール (Partial agonist) の用量-反応曲線 (文献 14より)

【 β_2 -受容体の遺伝子多型について】

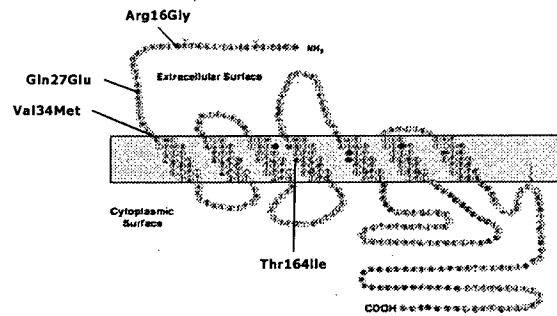
ヒト β_2 -受容体は、413個のアミノ酸より形成される細胞膜受容体であり、一本鎖ペプチドが形質膜を7回貫通するG蛋白質共役型受容体の一つである[18] (図5)。 β_2 -受容体は主に気管支平滑筋に多く存在し、喘息治療のターゲットとなっている。

現在までに、 β_2 -受容体の遺伝子多型として20カ所

(5'側プロモータ領域に11、構造遺伝子領域に9)の一塩基変異多型 (SNPs) が報告されており、そのうちアミノ酸の変異を伴うものは5カ所である[19] (図5)。

第4膜貫通部位に位置しているThr164Ileの変異に関しては、遺伝子導入細胞を用いた試験において[20]、イソプロテレノールの受容体に対する親和性が野生型 (WT) に比べ変異型では約1/4低下することが報告されている。また、エピネフリン刺激によるAC活性を測定したところ、受容体の機能低下がみとめられた (図6-A)。

Arg16Gly および Gln27Glu の変異は、細胞外N-末端に存在する変異であることから、薬物との結合親和



塩基変化	アミノ酸変化	機能変化
47 (T? C)	-19 (Arg? Cys)	受容体発現増強
46 (A? G)	16 (Arg? Gly)	脱感作亢進
79 (C? G)	27 (Gln? Glu)	脱感作抑制
100 (G? A)	34 (Val? Met)	変化なし
491 (C? T)	164 (Thr? Ile)	結合親和性の低下 共役能低下

図5 ヒト β_2 -受容体の構造、変異位置および機能変化

(文献 18, 19より)

性およびAC活性に大きく影響を与えないものと考えられる。遺伝子導入細胞およびヒト気管支平滑筋初代培養細胞を用いた試験において、Arg16Gly および Gln27Glu の変異に対する薬物の親和性は変化しないことが明らかとなった[21, 22]。しかしながら、イソプロテレノールによる24時間の暴露によって、Arg16Gly では著しいdown-regulationが認められたが、Gln27GluについてはWTと比較してup-regulationが認められた。この反応性の違いは、受容体が内在化した後の分解速度が異なるためと考

えられている(図 6-B)。

一般に、炎症細胞に対する β_2 -作動薬の作用は、平滑筋に比べ脱感作をされやすいとの報告がある[23]。このメカニズムとして、気管支平滑筋には余剰受容体が多いためと考えられている。

小児において16Glyの変異がアルブテロールに対する初期の反応性の低下に関係しているとの報告がある[24]。また、成人においても16Glyの変異がアルブテロールに対する反応性が低下していたとの報告があり、そのときの血中薬物濃度に差は認められなかった[25] (図 6-C)。一方、上記の作用に対する否定的な報告[26]もある。他に16Glyの変異と β_2 -作動薬の反応性について関係があるとの報告があるが、27Gluの関与はほとんどないと報告されている[27, 28]。遺伝子多型の臨床への関与は否定的な報告もあり、今後ハプロタイプを解析するなど課題が残されていると考える。

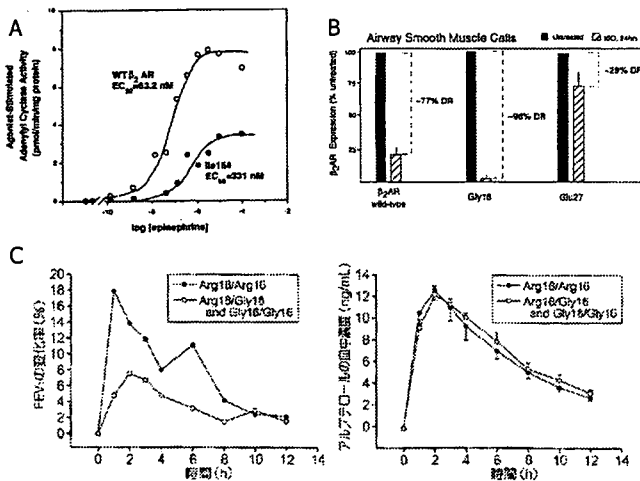


図 6 ヒト β_2 -受容体の機能変化

(A: 文献 20, B: 文献 22, C: 文献 25 より)

【副作用, 毒性について】

海外においては、インプロテレンールが非選択的 β -作動薬であり心機能亢進作用を持つことから、喘息発作時における使用がほとんどされておらず、選択的 β_2 -作動薬を用いられている[29]。ここでは、血中薬

物濃度と副作用(主に心拍数増加)の関連性について述べる。

Lipworthらは、デバイスの違いによるサルブタモールの肺への到達率について8名の健常成人でクロスオーバー試験を行った[30] (図 7)。投与量は 1.2 mg/body の単回投与であり、投与終了後 5, 10, 15, 20 分の血中薬物濃度及び心拍数の増加を検討したところ、平均血中濃度は 2.65, 3.73 ng/mL であり、平均心拍数増加は 10.5, 18.6 bpm であった。

またLipworthらは、喘息患者の気管内径へのサルブタモールの効果について、患者の呼吸機能を指標に3群に分けた試験を行った[31](図 8)。

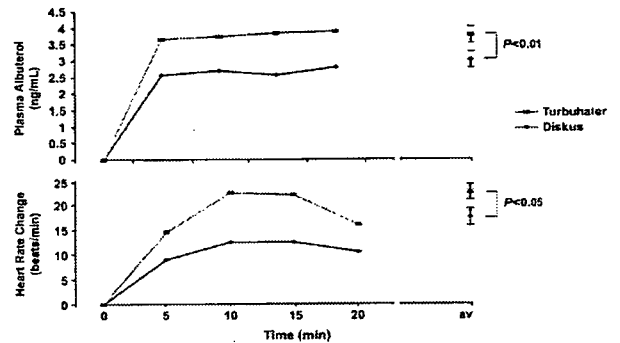


図 7 血漿中サルブタモール濃度と心拍数の変化 (文献 30 より)

投与量は 40 μ g/kg (2.4 mg/body) の単回投与であり、投与終了後 5, 10, 30 分の血中薬物濃度及び心拍数の増加を検討したところ、健常成人同様、心拍数の増加が認められた。

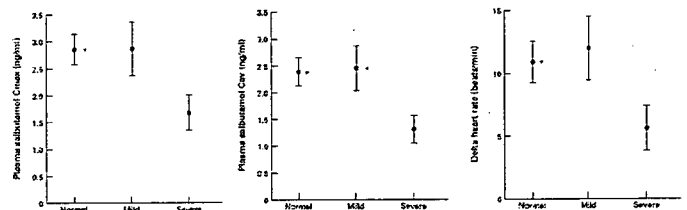


図 8 呼吸機能別による血漿中サルブタモール濃度と心拍数の変化(文献 31 より)

Schuhらは、5歳から17歳の小児喘息患者へのサルブタモールの効果について、2用量群で試験を行った[32]。投与量は低用量群で0.05 mg/kg、高用量群で0.15 mg/kgを6回、1回の吸入時間は約15分として、20分の間隔をあけて行った。総投与量は低用量群で0.42 ± 0.07 mg/kg、高用量群で0.79 ± 0.23 mg/kgであった。投与終了後の平均血中薬物濃度は、低用量群で12.4 ± 6.5 ng/mL、高用量群で19.8 ± 10.7 ng/mLを示した。投与終了後の平均血中薬物濃度と心拍数の増加との間に相関は認められなかったが、15.0 ng/mLを超えた被験者の心拍数の増加は19.0%であり、15.0 ng/mL未満では16.5%であった。また、そのほかの症状について表に示した。呼吸機能の改善(FEV₁)は、低用量群で15名中7名が、高用量群で16名中15名が20%以上の改善を認めた。

表3 サルブタモールによる小児喘息患者の副作用
(文献32より)

Group	Dose mg/kg (Every 20 min 6 doses)	Age (mean yr ± SD)	Pretreatment albuterol level (ng/mL)	Posttreatment albuterol level (ng/mL)
High-dose	0.15	9.4 ± 3.8	1.01 ± 2.4	19.8 ± 10.7 (0.9 - 43.6)
Low-dose	0.05	8.6 ± 2.1	2.50 ± 4.6	12.4 ± 6.5 (6.0 - 30.4)

症状	あり	なし
Heart Rate (mean increase)	< 15.0 ng/mL: 16.5 % > 15.0 ng/mL: 19.0%	
Tremor (ふるえ)	19.6 ng/mL (mean)	13.0 ng/mL (mean)
Vomiting (吐気)	17.2 ng/mL (mean)	14.0 ng/mL (mean)

イソプロテレンールについては、非選択的β-作動薬であることから、吸入時の血中薬物濃度や心拍数の変化を詳細に検討した報告は少なく、Craneらの報告[33]を紹介する。

Craneらは、3種のβ-作動薬の吸入による心血管の影響について、健常成人8名で試験を行った。試験に用いたβ-作動薬は、イソプロテレンール、サルブタモールおよびフェノテロール(β₂-作動薬)であり、用量は400、600および800 μg/bodyで、15分間隔で吸入を行った。その結果(表4)、吸入後5分の心拍数の変化量は、サルブタモールに比べイソプロテレンール

で大きいものの、吸入後15分ではイソプロテレンール投与群で回復傾向が認められている。また繰り返しの投与のため、半減期の長いサルブタモールでは、800 μg/body吸入後15分で最も大きな変化が認められた。

表4 β-作動薬吸入時の心拍数の変化(文献33より)

投与量 (μg)	投与後 (min)	Heart Rate (beats/min)		
		Placebo	Isop	Salb
400	5	-2.2 (1.4)	5.0 (2.9)	3.4 (1.3)
	15	-2.2 (1.5)	0.6 (2.6)	1.5 (1.0)
600	5	-2.2 (1.6)	7.3 (3.2)	3.9 (1.5)
	15	-4.1 (1.9)	2.8 (2.8)	2.9 (1.9)
800	5	-3.0 (2.5)	6.9 (2.5)	4.1 (1.7)
	15	-5.6 (2.5)	0.3 (3.0)	8.2 (2.4)

結果および考察

今回、「小児気管支喘息重症発作に対するイソプロテレンール持続吸入療法の検討:サルブタモール持続吸入を対象とした多施設共同盲検ランダム化比較試験」実施に向け、使用する医薬品の特性について、薬理学および薬物動態学的要素を中心に情報を収集したところ、両薬剤の個々の作用(特に非臨床試験)については多くの情報が得られたが、臨床において直接二薬剤を比較したコントロールスタディは殆どなかった。臨床での効果および現場において安心して使用できる治療法の確立に、今回の臨床試験は重要であると考えられた。

引用文献

- [1] Handley D. The asthma-like pharmacology and toxicology of (S)-isomers of beta agonists. The Journal of allergy and clinical immunology. 1999 Aug;104(2 Pt 2):S69-76.
- [2] Schmekel B, Rydberg I, Norlander B, Sjosward KN, Ahlner J, Andersson RG. Stereoselective pharmacokinetics of S-salbutamol after administration of the racemate in healthy volunteers. Eur Respir J. 1999

Jun;13(6):1230-5.

- [3] 医薬品インタビューフォーム 気管支拡張剤 ベネトリン®吸入液 2007年3月改訂 新様式第1版 (製剤に関する項目) グラクソ・スミスクライン株式会社
- [4] Westfall TCWaDP. Adrenergic agonists and antagonists. In: Brunton LL, ed. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*: McGRAW-HILL 2006:237-95.
- [5] Kadar D, Tang HY, Conn AW. Isoproterenol metabolism in children after intravenous administration. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 1974 Nov;16(5 Part 1):789-95.
- [6] Reyes G, Schwartz PH, Newth CJ, Eldadah MK. The pharmacokinetics of isoproterenol in critically ill pediatric patients. *Journal of clinical pharmacology*. 1993 Jan;33(1):29-34.
- [7] Gumbhir-Shah K, Kellerman DJ, DeGraw S, Koch P, Jusko WJ. Pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics and safety of inhaled albuterol enantiomers in healthy volunteers. *Journal of clinical pharmacology*. 1998 Dec;38(12):1096-106.
- [8] Approval Review XOPENEX™ (levalbuterol). 1999
http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm?fuseaction=Search.Label_Approval
History#apphist
- [9] Clay MM, Clarke SW. Wastage of drug from nebulisers: a review. *Journal of the Royal Society of Medicine*. 1987 Jan;80(1):38-9.
- [10] Hardy JG, Newman SP, Knoch M. Lung deposition from four nebulizers. *Respiratory medicine*. 1993 Aug;87(6):461-5.
- [11] NAD 20-837 XOPENEX™ (levalbuterol). SEPRACOR Inc.2002
http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm?fuseaction=Search.Label_Approval
- [12] Walle T, Eaton EA, Walle UK, Pesola GR. Stereoselective metabolism of RS-albuterol in humans. *Clinical reviews in allergy & immunology*. 1996 Spring;14(1):101-13.
- [13] 谷山紘太郎. 呼吸器作用薬.: 田中千賀子, 加藤隆一編. NEW 薬理学:南江堂 2007:414.
- [14] Penn RB, Frielle T, McCullough JR, Aberg G, Benovic JL. Comparison of R-, S-, and RS-albuterol interaction with human beta 1- and beta 2-adrenergic receptors. *Clinical reviews in allergy & immunology*. 1996 Spring;14(1):37-45.
- [15] Hanania NA, Sharafkhaneh A, Barber R, Dickey BF. Beta-agonist intrinsic efficacy: measurement and clinical significance. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2002 May 15;165(10):1353-8.
- [16] Chong LK, Peachell PT. Beta-adrenoceptor reserve in human lung: a comparison between airway smooth muscle and mast cells. *European journal of pharmacology*. 1999 Jul 28;378(1):115-22.
- [17] Tsuji T, Kato T, Kimata M, Miura T, Serizawa I, Inagaki N, et al. Differential effects of beta2-adrenoceptor desensitization on the IgE-dependent release of chemical mediators from cultured human mast cells. *Biological & pharmaceutical bulletin*. 2004 Oct;27(10):1549-54.
- [18] Johnson M. Molecular mechanisms of beta(2)-adrenergic receptor function, response, and regulation. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2006 Jan;117(1):18-24; quiz 5.
- [19] 棟方充. 「β2 刺激薬の喘息治療における使用と問題点」 β2 受容体遺伝子多型. アレルギー・免疫.

- 2005 ;12(3):428-33.
- [20] Green SA, Cole G, Jacinto M, Innis M, Liggett SB. A polymorphism of the human beta 2-adrenergic receptor within the fourth transmembrane domain alters ligand binding and functional properties of the receptor. *The Journal of biological chemistry*. 1993 Nov 5;268(31):23116-21.
- [21] Green SA, Turki J, Innis M, Liggett SB. Amino-terminal polymorphisms of the human beta 2-adrenergic receptor impart distinct agonist-promoted regulatory properties. *Biochemistry*. 1994 Aug 16;33(32):9414-9.
- [22] Liggett SB. beta(2)-adrenergic receptor pharmacogenetics. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2000 Mar;161(3 Pt 2):S197-201.
- [23] Barnes PJ. Effect of beta-agonists on inflammatory cells. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 1999 Aug;104(2 Pt 2):S10-7.
- [24] Martinez FD, Graves PE, Baldini M, Solomon S, Erickson R. Association between genetic polymorphisms of the beta2-adrenoceptor and response to albuterol in children with and without a history of wheezing. *The Journal of clinical investigation*. 1997 Dec 15;100(12):3184-8.
- [25] Lima JJ, Thomason DB, Mohamed MH, Eberle LV, Self TH, Johnson JA. Impact of genetic polymorphisms of the beta2-adrenergic receptor on albuterol bronchodilator pharmacodynamics. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 1999 May;65(5):519-25.
- [26] Lipworth BJ, Hall IP, Tan S, Aziz I, Coutie W. Effects of genetic polymorphism on ex vivo and in vivo function of beta2-adrenoceptors in asthmatic patients. *Chest*. 1999 Feb;115(2):324-8.
- [27] Hancox RJ, Sears MR, Taylor DR. Polymorphism of the beta2-adrenoceptor and the response to long-term beta2-agonist therapy in asthma. *Eur Respir J*. 1998 Mar;11(3):589-93.
- [28] Tan S, Hall IP, Dewar J, Dow E, Lipworth B. Association between beta 2-adrenoceptor polymorphism and susceptibility to bronchodilator desensitisation in moderately severe stable asthmatics. *Lancet*. 1997 Oct 4;350(9083):995-9.
- [29] 山口公一. 「気管支喘息 コンセンサスが得られている治療法を中心に」急性発作の治療 β2 刺激薬 エピネフリンの使用、イソプロテレノール持続吸入を含めて. *小児内科*. 2006;38(11):1882-7.
- [30] Lipworth BJ, Clark DJ. Comparative lung delivery of salbutamol given via Turbuhaler and Diskus dry powder inhaler devices. *European journal of clinical pharmacology*. 1997;53(1):47-9.
- [31] Lipworth BJ, Clark DJ. Effects of airway calibre on lung delivery of nebulised salbutamol. *Thorax*. 1997 Dec;52(12):1036-9.
- [32] Schuh S, Parkin P, Rajan A, Canny G, Healy R, Rieder M, et al. High-versus low-dose, frequently administered, nebulized albuterol in children with severe, acute asthma. *Pediatrics*. 1989 Apr;83(4):513-8.
- [33] Crane J, Burgess C, Beasley R. Cardiovascular and hypokalaemic effects of inhaled salbutamol, fenoterol, and isoprenaline. *Thorax*. 1989 Feb;44(2):136-40.

研究実績報告書 (外国への日本人研究者派遣)

1. 派遣研究者

所属・職名：東京慈恵会医科大学小児科

氏 名：赤司 賢一

2. 派遣先および研究指導者

国 名：英国

所 在 地：ロンドン市

名 称：英国国立心肺研究所呼吸器疾患部

職 名：教授

氏 名：ピーター・バーンズ Peter J Barnes

伊藤 一洋 Kazuhiro Ito

3. 主任研究者

所属・職名：東京慈恵会医科大学小児科 准教授

氏 名：勝沼 俊雄

4. 派遣期間

平成 19 年 10 月 1 日～平成 20 年 3 月 31 日 (183 日間)

5. 研究課題

イソプロテレノールおよびサルブタモール持続投与が β_2 受容体発現とシグナル伝達に与える影響

6. 研究活動の概要

Peter J Barnes 教授および Kazuhiro Ito 教授の下において β_2 受容体のシグナル伝達に関する研究を行った。

β_2 受容体の発現が確認されている細胞株の中から、今回の研究目的に適合する株を選択するため情報収集を行った。細胞株の安定性、入手し易さ、過去の研究論文での評価などを検討し、ホルボールミリスレートアセテート (PMA) 刺激による β_2 受容体発現が確認されている U937 細胞 (ヒト単球系細胞) を用いて細胞内シグナルの検討を行うことを計画した。また PMA 刺激により、U937 細胞は心臓や肺などに固着するタイプのマクロファージ (大食細胞) に分化することが知られている。研究の内容は以下の通りである。

【材料と方法】

細胞培養

U937 細胞 (ECACC コード 85011440) は、CO₂ インキュベーター内で 10% FCS および 2mmol/l L-グルタミンを添加した RPMI 1640 培養液 (Sigma) を用いて培養し、 $5-15 \times 10^5$ 細胞/ml で維持した。実験の前段階において、PMA 刺激 48 時間、その後 24 時間通常培養液で培養した。

β_2 刺激薬

イソプロテレノール (Sigma) およびサルブタモール (Sigma) は明記したもの以外は 10^{-6} mol/l で投与した。

ウエスタンブロット法

U937 細胞からの全細胞蛋白抽出は Activ Motif の Nuclear Extract Kit を用いて行った。細胞溶解液より得られた溶解蛋白 20-40 μ g を再懸濁し、4-12% NuPAGE Novex Bis-Tris ゲル (invitrogen) に転写した。膜は 5% セミスキムミルクで 30 分間ブロッキングし、1 : 1000 抗ヒト p38 分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼキナーゼ (Mitogen-Activated Protein Kinase, MAPK) 抗体もしくは抗ヒトリン酸化 p38 MAPK 抗体 (Cell Signaling Technology) で 4°C、一晚インキュベートした。洗浄 (3x, 5 分, TBS-Tween) の後、1 : 2000 抗ウサギ イムノグロブリン・ヤギポリクローナル抗体 (Dako) により西洋わさびペルオキシダーゼと結合させ、ECL (Amersham-Pharmacia) により複合体を検出した。

cAMP

Applied Biosystems の cAMP-Screen® Assay キットを用いて競合 ELISA アッセイ法により測定された。測定は β_2 刺激薬最終投与 10 分後に行った。

【結果】

β_2 刺激薬単回投与後の細胞内 cAMP 濃度の変化 (図 1)

イソプロテレノールは投与後 1 分、サルブタモールは投与後 5 分がピークであった。また、開始時濃度まで低下したのは、イソプロテレノールが投与後 5 分、サルブタモールが投与後 10 分であった。

β_2 刺激薬連続投与時の細胞内 cAMP 濃度の変化 (図 2)

10 分毎に 1-4 回 β_2 刺激薬を投与し、cAMP 濃度の変化率を示した。イソプロテレノールはほぼ低下を認めなかったが、サルブタモールにおいては複数回投与時における cAMP 濃度の低下が認められた。

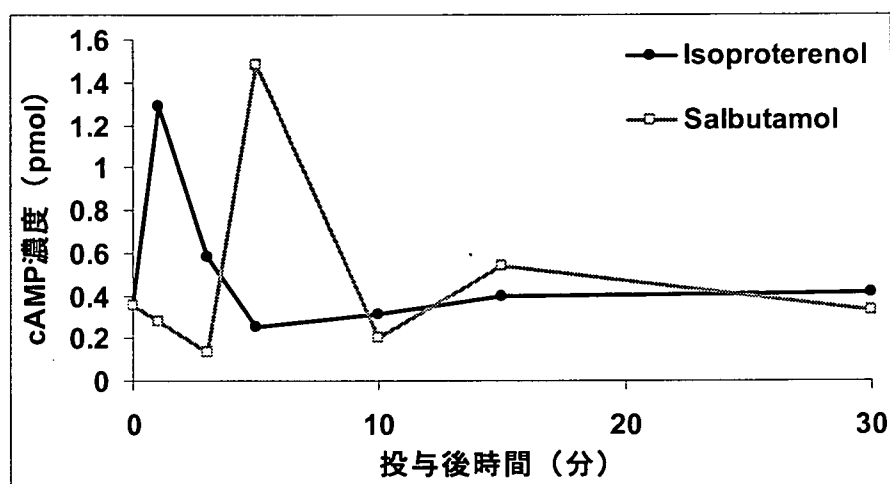


図 1 β_2 刺激薬単回投与後の細胞内 cAMP 濃度

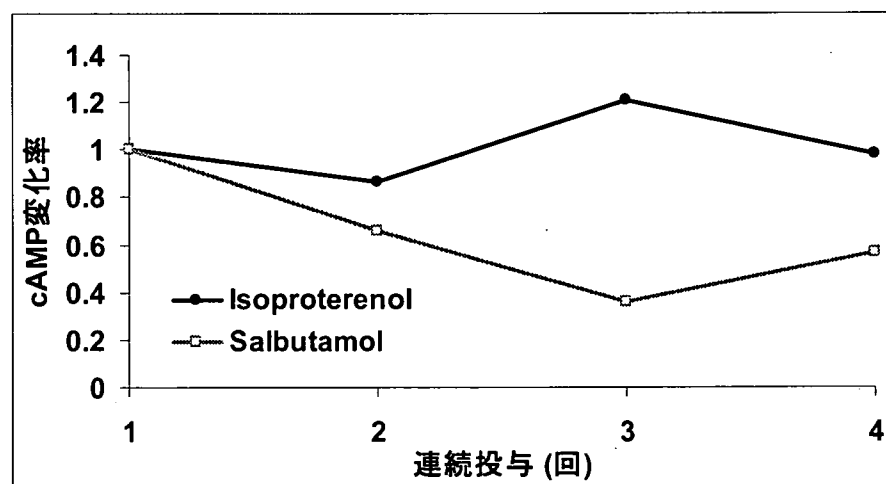


図 2 β_2 刺激薬連続投与 10 分後の細胞内 cAMP 濃度の変化
単回投与時の cAMP 細胞内濃度を 1 とした