◇◇平成12年度日本薬物動態学会学会賞受賞論文◇◇

薬物動態学の臨床応用—動物からヒトへ, 正常から病態へ

伊賀 立二

Clinical Application of Pharmacokinetics/Pharmacodynamics— From Animal to Human, and Normal to Disease

Tatsuji IGA

Department of Pharmacy, The University of Tokyo Hospital, Faculty of Medicine, The University of Tokyo, Tokyo

Summary: Clinical application of pharmacokinetics/pharmacodynamics (PK/PD) from animal to human, and from normal to disease states was examined. First, we tried to elucidate the factors affecting the hepatic transport of sulfobromophthalein and indocyanine green in chronically intoxicated rats and dogs. Also, we examined the clinical implication of hepatic clearance of indocyanine green, chenodeoxycholic acid, antipyrine, and galactose in patients with chronic liver diseases. Second, we examined the PK/PD study on β -blockers in order to establish the rational usage in patients. Third, we examined the drug interaction between new quinolones and non-steroidal antiinflammatory agents, and further, studied electrocardiographically on the adverse effect, QT prolongation in non-arrhythmic agents, terfenadine, ebastine and epinastine. Fourth, the metabolic inhibition of midazolam by itraconazole or ketoconazole was examined in order to evaluate the degree of drug-drug interaction concerning metabolic inhibition in the liver quantitatively, and we succeeded the prediction of increasing ratio in AUC of midazolam in concomitant administration of itraconazole or ketoconazole. Finally, we applied above outcomes to clinical practise using various approaches.

Key words: Pharmacokinetics/pharmacodynamics, Clinical application, Disease state, Drug interaction, Receptor occupancy, QT prolongation

はじめに

1960年代に米国でNelson, Wagnerらを中心に誕生したBiopharmacy (生物薬剤学)は, 新規医薬品の開発において, 医薬品の薬効・副作用発現に薬物体内動態(吸収, 分布, 代謝, 排泄)がきわめて重要な役割を担っていることを明らかにし, さらに, バイオアベイラビリティの概念の提唱によって, 医薬品開発における薬物動態学の役割を一層明確なものとした. このような背景のもとに新しい研究領域としてのpharmacokineticsは飛躍的な発展を遂げ, これまでの薬剤学に大きな変革をもたらした. その後1970年代に入り, Roland, Benetら¹⁾

によって提唱されたクリアランス理論に基づく生理学的モデルによるphysiologicalpharmacokinetics (生理学的薬物速度論)は, 薬物動態学の臨床応用への道をさらに大きく開くこととなった. すなわち, 病態時における薬物体内動態の変動要因を生理・解剖学的に解析し, より適切な用法・用量を設定することにより, 副作用・相互作用を回避することを可能とし, 医薬品の適正使用に大きく貢献している.

本研究は, 薬物動態学の臨床応用を目的とし, 動物からヒトへ, 正常から病態へ種々のアプローチを行った成果をまとめたものである.

——い が たつじ——

伊賀立二: (東京大学医学部教授・同附属病院薬剤部長)

1942年名古屋生まれ. 1967年東京大学薬学部卒業, 1972年東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了(薬学博士), 1980年東京大学薬学部助教授(製剤学教室), 1988年東京大学医学部助教授・同附属病院副薬剤部長併任, 1990年より現職. 日本薬物動態学会理事, 日本薬学会理事, 日本医療薬学会会頭等を歴任, 現在, 日本薬剤師会副会長. 平成12年度日本薬物動態学会賞受賞

東京大学医学部附属病院 薬剤部 〒113-8655 東京都文京区本郷 7-3-1

病態時の薬物体内動態変動要因の解明

病態時における薬物体内動態の変動要因の解明は、臨床における医薬品の適正使用に必須である。このためにはヒト病態時での薬物動態の解明が最も有用であるが、現実には開発段階での臨床試験(治験)第II相での解析が一部あるのみである。さらに詳細な臓器レベルでの薬物動態は現実にはヒトでの検討は不可能である。このため、動物の病態モデルを用いた検討がこれまでも数多くなされてきたが、1970年代において病態モデルを用いて薬物速度論的解明を試みた報告はなされていなかった。我々は薬物体内動態において腎臓とともに重要な役割を担っている肝臓にターゲットを絞り、慢性肝障害時の薬物肝移行動態変動要因の解明を試みることにした。

1. 病態モデル動物における検討

病態モデルは再現性はもとより、目的とするヒトの病態との対応が重要である。これまでの種々の動物病態モデルの中から、病理・解剖学的に最もヒトの慢性肝障害に近い病態が得られるものとして、ラットでは四塩化炭素連続投与を、またイヌではジメチルニトロソアミンの連続投与によって慢性肝障害病態モデル動物を作成した。病態の確認は、病理・生理学的各種パラメータを指標とし、さらに病理切片による顕微鏡所見を判定に用いた。

1) ラットによる検討

慢性肝障害ラットの作成：SD系雄性ラット(Donryu: 120–140 g)に、四塩化炭素とオリーブ油の混液(3:4: v/v)を週2回背部皮下に8–9週間連続投与し病態モデルラットを作成した。対照ラットはオリーブ油のみを連続投与した。Table Iに病態モデルラットの病理・生理学的パラメータを示した。体重当たりの肝重量、肝機能低下の指標であるGOT, GPT値の有意の上昇が認められた。慢性肝障害の確認は、これらのパラメータの他、肝臓の病理切片により肝実質細胞の減少と繊維化を確認した。血漿アルブミン濃度に有意の低下がみられたが、胆汁流量には有意の低下がみられなかった。これらの結果、四塩化炭素連続投与によって作成した慢性肝障害ラットは、薬物移行動態の速度論的解析のモデルとなることがわかった²⁾。

肝血流量測定法の開発：薬物肝移行動態の速度論的解析に肝血流量は必須のパラメータである。しかしながら、病態時におけるラットの肝血流量の報告値はなかったため、その測定法の開発を試みた。このためには肝静脈からの採血が不可欠であり、Fig. 1に示すような中葉と左葉からの肝静脈の合流点にポリエチレンチューブカニューレーションによる採血法を確立した³⁾。肝血流量は肝へ選択的に取り込まれ肝機能検査薬としても用い

Table I Patho-physiological changes after chronic CCl₄-intoxication*²⁾

	Control rats (n=11)	Intoxicated rats (n=24)
Body wt (g)	341±13	278±6*
Liver wet wt (g)	13.1±0.7	14.8±0.5
Liver wet wt/body wt (g)	3.6±0.01	5.0±0.14†
Plasma transaminase activity (Karman's unit)		
GOT	87±10	478±120*
GPT	52±9	220±20*
Plasma albumin concn. (g/dl)	3.51±0.14‡	2.55±0.13*,§
Bile flow rate (10 ⁻³ ml/min)	9.0±1.1	8.5±1.0¶
Hepatic blood flow** (ml/min/g liver)	0.97±0.03††	0.64±0.08*,††

* Results are given as the mean ± S.E. Chronic CCl₄-intoxication was produced by repeated injections of CCl₄ in olive oil (3:4, v/v), 0.1 ml/100 g of body weight, s.c. into the back twice a week for 8–9 weeks. Controls were produced by repeated injections of olive oil by the method described above.

† Significantly different (p<0.05) from the control.

‡ n=8.

§ n=15.

|| n=9.

¶ n=11.

** Data from the previous paper (3).

†† n=3.

られている indocyanine green (ICG) を定速静注し、肝静脈および下肢大動脈から採血し、定常状態における ICG の濃度差から肝抽出率を求め、Bradley ら⁴⁾ の算出式によって肝血流量を得た。Table II に慢性肝障害および対照ラットにおける肝血流量を示したが、慢性肝障害ラットにおいては肝血流量の有意な低下が認められた。

Sulfobromophthalein (BSP) による検討：慢性肝障害時における薬物肝移行動態の変動要因を明らかにするために、モデル薬物として、肝機能検査薬として臨床で繁用されていた BSP を用いて速度論的解析を行った²⁾。BSP 6 μmol を静注後の血漿中濃度推移と胆汁中排泄の累積曲線を Fig. 2 に示したが、慢性肝障害ラットではいずれにおいても対照ラットに比べ有意な消失の遅れがみられた。胆汁中排泄の著しい遅れが肝移行過程のいずれにあるのかを明らかにするために、Fig. 3 に示すような遅れの過程を組み込んだ 4-コンパートメントモデルによる速度論的解析を行った。Table III に算出したパラメータを示したが、慢性肝障害ラットにおいては k_{21} , V_1 , V_2 を除くいずれにおいても有意の低下が認められた。血漿蛋白結合の変動を平衡透析法で検討したが、血漿アルブミン量は有意に低下しているものの (Table I), 結合定数 (K_1) には有意の差はみられなかった。一方、肝上清蛋白への結合動態を 25% 肝ホモジネートを用いて Sephadex 75 column 分画法で検討した。慢性肝

Fig. 1 A, B: Schematic representation of the hepatic vein cannulation for the sampling of hepatic venous blood in the rat. C: magnified illustration for the cannulated point of the hepatic vein junction.³⁾

障害ラットにおいては、Y, Z-fraction への結合の有意の低下が認められた。また、結合サイト数には有意の差はなかったが、両フラクションとも高親和性サイトの結合定数 K_1 に有意の低下が認められた。また、BSP は肝臓でグルタチオン抱合を受け胆汁中へ排泄される事が知られていることから、Y-fraction の有する glutathione S-transferase 活性と肝中の GSH 含量の変動を検討したが、慢性肝障害ラットと対照群間に有意の差はみられなかった。

これらの結果を総合して、BSP の肝移行が血流律速

である事から、慢性肝臓障害時における BSP の血中消失および胆汁中排泄動態の著しい低下の要因として、Table I に示した肝血流量の有意の低下が主に寄与していると考えられた。また、BSP の肝への取り込み速度の低下は、Y-fraction への結合活性の低下に起因すると考えられた。

Indocyanine green (ICG) による検討： ついで非代謝性の肝機能検査薬として臨床で繁用されている indocyanine green (ICG) を用いて BSP と同様の肝移行動態変動要因の速度論的解析を試み、臨床で肝機能の判定に

Table II Hepatic blood flow by a continuous ICG infusion method in normal and chronic CCl₄-intoxicated rats³⁾

		Hepatic Blood Flow, ml/min per 100 g body wt	Hepatic Blood Flow, ml/min per g liver	Hepatic Clearance, ml/min per g liver	Body Wt, g	Liver Wt, g	Hct, %
Intact	Anesthetized*	3.38 ± 0.73	0.90 ± 0.17 [‡]	0.29 ± 0.07 [‡]	308 ± 8	11.7 ± 1.7	41 ± 5
	Unanesthetized [†]	6.05 ± 0.74	1.53 ± 0.06	0.55 ± 0.10	312 ± 8	12.3 ± 1.6	39 ± 4
Intoxication	Anesthetized*	3.10 ± 0.17	0.64 ± 0.11	0.11 ± 0.006	272 ± 7	13.6 ± 2.7	40 ± 4
Control	Anesthetized*	3.68 ± 0.29	0.97 [§]	0.30 [§]	352 ± 33	13.2 [§]	43 ± 2

Values are means ± SD. Hct = hematocrit value. intoxication = chronic CCl₄-intoxicated rat; glutamic-oxalacetic transaminase activity (GOT) : 1,710 ± 638 (SE) Karmen's unit (ref, A. Karmen, *J. Clin. Invest.* 34: 126-130, 1955) ; glutamic-pyruvic transaminase (GPT) : 893 ± 554. Control = control rat; only olive oil was administered instead of CCl₄ in olive oil (3 : 4, vol/vol%), 0.1 ml/100 g of body wt, under the skin of the back twice a week for 8 wk; GOT: 91 ± 10; GPT: 86 ± 11.

* Body temperature: 31-32°C.

[†] Body temperature: 37-38°C.

[‡] n = 5.

[§] n = 2.

n for all other experiments = 4.

Fig. 2 A: Plasma disappearance curves of a 6-μmole dose of BSP after intravenous administration. Each point represents the mean ± S.E. of four rats. Curves were calculated by an iterative least squares method using a digital computer.²⁾ Key: (—) control; and (---) intoxication.

B: Cumulative biliary excretion curves of a 6-μmole dose of BSP after intravenous administration. Each point represents the mean ± S.E. of four rats. Curves were calculated by an iterative least squares method, using a digital computer. Key: (—) control, the ratio (*R*) of the total recovery of BSP from the bile to the administered dose was fixed at 0.90; (---) intoxication, *R* = 0.75; and (····) intoxication, *R* = 0.60.

用いられる *K* 値の生理的な意味の解明を試みた⁵⁾.

血中消失, 胆汁中排泄の何れにおいても慢性肝障害ラットにおいて消失および排泄に有意の遅れがみられた (Fig. 4) が, その程度は BSP に比べ低かった. 先の BSP 同様に Fig. 3 に示した, 4-コンパートメントモデルによる速度論的解析の結果を Table IV に示した. 有意の低下が k_{12} , k_{34} , V_2 に, また有意の上昇が k_{21} にみられたが, V_1 には有意の差はみられなかった. 慢性肝障害, 対照ラットのいずれにおいても $k_{12} \cdot V_1$ の値は肝血流量に比べて有意に小さいことから, ICG の肝取り込みの低下に血流低下は寄与していないと考えられた. 血漿蛋白結合には両群間に有意の差はみられず, さらに

Sephadex 75 column による肝 100,000 g 上清画分への結合動態の比較では, ICG は主として X-fraction に結合しており, 両群間に有意の差はみられなかった. 静脈内投与 5 分後の肝ホモジネートへの結合実験から, 肝臓内で ICG の 90% は 9,000 g 画分に分布していた. これらの結果を合わせ, Fig. 5 に示すモデルによる解析から, 慢性肝障害ラットにおける ICG の肝取り込みの低下は, sinusoidal plasma membrane の透過性の低下に起因すると考えられた.

2) イヌによる検討

慢性肝臓障害モデル犬の作成: 強い肝毒性を有する dimethylnitrosoamine (DMN) の連続投与による慢性肝

Fig. 3 Schematic illustration of a four-compartment open model. The data of BSP kinetics were fitted in the plasma compartment (X_1) and in the bile compartment (X_4).²⁾

Table III Pharmacokinetic parameters calculated with a four-compartment model^{*2)}

Pharmacokinetic parameters	Control rats (n=4)	Intoxicated rats (n=4)
k_{12} (min^{-1})	0.4612 ± 0.0219	$0.1455 \pm 0.0372^\dagger$
k_{21} (min^{-1})	0.0635 ± 0.0216	0.0862 ± 0.0220
k_{23}^* (min^{-1})	0.3270 ± 0.0405	$0.0257 \pm 0.0041^\dagger$ (0.0206 ± 0.0020) [†]
k_{25}^* (min^{-1})	0.0363 ± 0.0045	$0.0086 \pm 0.0021^\dagger$ (0.0137 ± 0.0006) [†]
k_{34}^* (min^{-1})	0.0560 ± 0.0032	$0.0104 \pm 0.0008^\S$ (0.0243 ± 0.0026) [§]
V_1 (ml)	11.35 ± 0.22	13.30 ± 1.50
V_2 (ml)	82.40 ± 28.30	22.45 ± 8.50

* Results are given as the mean $\pm$ S.E. Parameters were calculated by a non-linear iterative least squares method, using a digital computer.

[†] Significantly different ($p < 0.01$) from the control.

^{*} Calculations were carried out under conditions such that the ratios (R) of the total recovery of BSP in the bile to the administered dose were fixed at 0.90 in the control and 0.75 in the intoxicated rats respectively. The values in parentheses were calculated from $R = 0.60$.

[§] Significantly different ($p < 0.05$) from the control.

障害モデル犬を Madden ら (1970) の方法に従い、門脈カニューレを施した成犬 (10–15 kg) に DMN (2 mg/kg) を門脈内に週 1 回 6 週間連続投与して作成した⁶⁾。対照群は無処理犬を用いた。Table V に病理・生理学的パラメータを示したが、GPT 値と総胆汁酸濃度のみ対照群に比べて有意の差がみられた。一方、対照群に比べ 50% の門脈圧の上昇が慢性肝障害ラットにおいて認め

Fig. 4 A: Plasma disappearance curves of a 3- μ mole dose of ICG after intravenous administration. Each point represents the mean $\pm$ S.E. of three to five rats. Curves were calculated by an iterative least squares method using a digital computer. Key: (—) control; and (---) intoxication.⁵⁾

B: Biliary excretion profile of ICG after a 3- μ mole dose administered intravenously. Top panel: cumulative biliary excretion curves. Each point represents the mean $\pm$ S.E. of three to five rats. Curves were calculated by an iterative least squares method, using a digital computer. Key: (—) control [the ratio (R) of the total recovery of ICG from the bile to the administered dose was fixed at 0.70]; (---) intoxication, $R = 0.50$; and (---) intoxication, $R = 0.70$ (see text). Bottom panel: biliary excretion rate. Each data point represents the mean $\pm$ S.E. of three to five rats. Key: (—) control; (---) intoxication. No significant difference was shown between the control and the intoxicated rats.⁵⁾

Table IV Pharmacokinetic parameters calculated with a four-compartment model^{*)}

Pharmacokinetic parameters	Control rats (n=3)	Intoxicated rats (n=5)
k_{12} (min^{-1})	0.1642 ± 0.0051	$0.0987 \pm 0.0096^{\dagger}$
k_{21} (min^{-1})	0.0083 ± 0.0011	$0.0194 \pm 0.0058^{\dagger}$
k_{23} (min^{-1})	0.0062 ± 0.0016	0.0115 ± 0.0028
k_{25} (min^{-1})	0.0027 ± 0.0007	0.0115 ± 0.0028
k_{34} (min^{-1})	0.0472 ± 0.0027	$0.0170 \pm 0.0010^{\dagger}$
V_1 (ml)	11.9 ± 0.3	13.2 ± 0.5
V_2 (ml)	235.0 ± 31.0	$67.2 \pm 21.4^{\dagger}$

* Results are given as the mean $\pm$ S.E. Parameters were calculated by a non-linear iterative least squares method, using a digital computer.

[†] Significantly different ($p < 0.05$) from the control.

Table V Patho-physiological changes in the dog after chronic dimethylnitrosamine intoxication⁶⁾

	Control	Intoxication
Body wt (kg)	11.9 ± 0.8 (3) ^a	11.7 ± 1.1 (3)
Liver wet wt (g)	317 ± 12 (3)	310 ± 31 (3)
Liver wet wt/body wt (%)	2.67 ± 0.09 (3)	2.66 ± 0.24 (3)
Plasma transaminase activity (Karman's unit)		
GOT ^b	26 ± 3 (4)	93 ± 46 (5)
GPT ^c	30 ± 6 (4)	115 ± 28 (5)*
Plasma alkaline phosphatase activity (mU/ml)	58 ± 12 (4)	112 ± 20 (5)
Total plasma protein (g/dl)	5.5 ± 0.2 (4)	5.6 ± 0.3 (5)
Total plasma bilirubin (mg/dl)	0.1 ± 0.03 (4)	0.2 ± 0.1 (5)
Total plasma bile acids ($\mu\text{M/l}$)	4.1 ± 0.7 (4)	18.9 ± 4.6 (5)*

^a The number in parentheses is the number of animal examined.

^b Glutamic-oxaloacetic transaminase.

^c Glutamic-pyruvic transaminase.

* Significantly different ($p < 0.05$) from the control.

られた。さらに、肝組織の病理学的所見では肝繊維化など明確な慢性肝障害の病変が認められ、既報の結果との比較を踏まえ、慢性肝障害病態モデル犬として用いることができると考えた。

Indocyanine green (ICG)による検討：作成した慢性肝障害モデル犬を用いて、ラットと同様に ICG の肝移行動態変動要因の速度論的解析を行った。ICG (0.5 mg/kg) を静注後の血中消失、胆汁中排泄のいずれにも慢性肝障害犬において有意の遅れがみられた。さらに、ラットと同様のモデルによって算出した速度論パラメータにおいて、有意の低下が k_{12} , V_2 , CL_{tot} に、有意の上昇が k_{23} にみられたが、 V_1 には変化がなかった。これらの結果から、慢性肝障害犬における ICG の肝移行の

Fig. 5 A general model for the hepatic transport of ICG.⁵⁾ **Fig. 6** Plasma disappearance curves after intravenous administration of 0.5 mg ICG per kg in normal subjects (●) and in patients with cirrhosis of the liver (○). Curves were calculated with a digital computer by an iterative least squares method.⁸⁾

有意の遅れは、肝取込みクリアランスの低下に起因することが示唆された。

Chenodeoxycholic acid (CDCA)による検討：同じ慢性肝障害犬を用いて、臨床での肝機能評価の指標の一つである、胆汁酸付加テストの検討を、CDCA の肝移行動態の速度論的解析によって試みた⁷⁾。慢性肝障害時における CDCA の肝取込みの低下は、キャリア輸送が関与する取込みクリアランスの低下に起因することが示唆された。また、空腹時の経口胆汁酸負荷テスト時の血漿中胆汁酸濃度が肝機能のよい指標となることが示唆された。

3) 肝硬変患者における速度論的解析

肝硬変のモデル病態としての慢性肝障害犬での速度論的解析を、肝硬変患者に応用し ICG 試験による肝機能検査の臨床指標としての血中消失クリアランスの評価を試みた⁸⁾。肝硬変患者 10 名に ICG (0.5 mg/kg) を静注後の血中消失曲線を **Fig. 6** に示すように健常人に比べ著しい消失の遅れがみられた。算出した速度論パラメー

Table VI Pharmacokinetic parameters of ICG calculated with a three-compartment model^{a,8)}

Dog	k_{12} (min ⁻¹)	k_{21} (min ⁻¹)	k_{el}^b (min ⁻¹)	k_{23} (min ⁻¹)	k_{25} (min ⁻¹)	k_{34} (min ⁻¹)	V_1 (ml/kg)	V_2 (ml/kg)	$k_{12}V_1$ (ml/min/kg)	CL_{tot}^c (ml/min/kg)
Control										
1	0.0956	0.0089	0.0156	0.0121	0.0035	0.0192	47.8	513.5	4.57	2.91
2	0.1160	0.0081	0.0171	0.0157	0.0014	0.0320	42.7	606.9	4.95	3.34
3	0.1580	0.0049	0.0163	0.0156	0.0007	0.3040	40.8	1313.1	6.44	4.95
Mean	0.1230	0.0073	0.0163	0.0145	0.0019	0.1184	43.8	811.2	5.32	3.74
(SE)	(0.0180)	(0.0012)	(0.0004)	(0.0012)	(0.0008)	(0.0929)	(2.1)	(252.4)	(0.57)	(0.62)
Intoxicated										
11	0.0722	0.0618	0.0522	0.0259	0.0263	0.0076	37.1	46.3	2.68	1.31
12	0.0743	0.0461	0.0344	0.0186	0.0158	0.0108	44.3	71.4	3.29	1.41
13	0.0649	0.0168	0.0290	0.0238	0.0052	0.0120	43.7	169.0	2.84	1.80
Mean	0.0705*	0.0416	0.0385*	0.0228*	0.0158	0.0095	41.7	95.6*	2.94*	1.51*
(SE)	(0.005)	(0.0132)	(0.0070)	(0.0022)	(0.0061)	(0.0013)	(2.3)	(37.4)	(0.18)	(0.015)

^a Dose 0.5 mg/kg, iv.^b $k_{el} = k_{23} + k_{25}$.^c Plasma total-body clearance (CL_{tot}) calculated from dose/AUC = dose/($A/\alpha + B/\beta$).* Significantly different from the control at $p = 0.05$. **Fig. 7** A: Correlation between $CL_{B, GL}$ and $CL_{B, AP}$ in normal subjects (○), patients with liver cirrhosis (▲), and patients with extrahepatic portal obstruction or liver fibrosis (■). $y = 0.0388x - 0.258$; $r = 0.790$ ($p < 0.01$). *Extremely deviated data of case C13 was omitted in the statistical analysis.⁹⁾**B:** Correlation between $CL_{int, ICG}$ and $CL_{B, AP}$ in normal subjects (○), patients with liver cirrhosis (▲), and patients with liver fibrosis (■). $y = 0.0067x + 0.168$; $r = 0.857$ ($p < 0.01$).⁹⁾

タを **Table VI** に示したが、血中消失クリアランス ($CL_{tot, B}$) に有意の低下が認められた。この低下は肝血流量の低下以上に、主として ICG の肝への取込み固有クリアランスの低下に起因し、一部肝から血液への排出クリアランスの低下によることが示唆された。

ついで肝機能評価の指標として用いられている antipyrine, ICG, galactose の血液クリアランス (blood clearance) を慢性肝障害患者で比較した⁹⁾。有効肝血流量の指標として用いられている galactose blood clearance は肝障害患者では健常人に比べ 30% の低下が示された。一方、肝代謝固有クリアランスの指標である an-

tipyrine clearance と ICG 肝固有クリアランスは、健常人に比べそれぞれ 61% と 85% の低下が示された。Galactose blood clearance, ICG 肝固有クリアランスと antipyrine blood clearance との相関を **Fig. 7** に示したが、 y 切片の違いは肝臓からの消失が異なったメカニズムによるためと考察され、肝機能の低下の評価に対するこれら指標の感度が異なることが示唆された。

さらに、慢性肝障害患者への治療薬として長年繁用されているグリチルリチンの肝移行動態の解明と、臨床投与量の最適化を試みた¹⁰⁾。**Fig 8** に示すように、グリチルリチンの肝クリアランスは、肝機能の回復とともに大

きくなるために、投与量を増加させる必要があることが示唆された。

以上、これら一連の肝移行動態の変動要因に関する研究は、動物からヒトへ、正常から病態への流れに沿って行われたものであり、病態モデル動物から慢性肝障害患者にいたる肝移行動態の速度論的解析結果は臨床における肝機能の評価へ応用されている。

医薬品の薬効評価のための薬物動態研究

臨床で用いられる数多くの医薬品は受容体(レセプタ)を介して薬効を発現薬効していると考えられている。我々はこれら受容体を介して薬効を発現する医薬品の薬効評価を目的とし、**Fig. 9**に示すように臨床用量と効果との関係の理論的解析を試みた¹¹⁾。このために従来の受容体占有理論を発展させた三元複合体モデルを構築し、

Fig. 8 Serum AST (○) and ALT (●) activity-time profiles in one patient (patient No. 1) with acute hepatitis (A), and plasma concentration-time profiles of glycyrrhizin after IV administration of glycyrrhizin (120 mg) on the 22nd day (first stage, △) and the 63rd day (second stage, ▲) after admission (B). The arrows indicate the day of study of glycyrrhizin administration. ■, normal range of serum AST and ALT activity¹⁰⁾

Fig. 9 Conception of this study¹¹⁾

β 遮断薬をはじめとし、多くの医薬品の薬効と受容体占有率との関係を明確に実証する事に成功した。さらに、薬物動態理論と受容体結合占有理論を基に、血中薬物濃度と受容体解離定数を用いて薬物の受容体占有率を算出する方法を構築し、臨床常用量の評価に受容体結合占有率が有用な指標となることを示した¹²⁾。

β 遮断点眼薬の全身性副作用発現の理論的解析： β 遮断点眼薬の全身性副作用として、心臓の β_1 受容体、肺の気管支の β_2 受容体への結合による副作用発現が知られており、心疾患患者、喘息患者への使用は禁忌となっている。これは β 遮断薬が点眼後に涙管から鼻腔へ入り、ここで吸収されて全身循環に入り、心臓あるいは肺に至り、それぞれの β 受容体に結合することによる副作用が発現するためと考えられているが、その理論的解

析は行われていなかった。我々は報告されている β 遮断点眼薬の血中濃度、血漿蛋白結合率、 β 受容体への結合定数によって、点眼後から薬効・副作用発現までのPK/PD解析を試みた。この解析に用いた三元複合体モデルと理論式をFig. 10に示した。3種の β 遮断点眼薬の運動時心拍数、努力性呼吸肺活量(FEV₁)の減少率と β_1 , β_2 受容体との占有率の関係をFig. 11に示したが、いずれにおいても実測値と理論曲線との良好な関係が得られ、受容体占有率を算出することにより、副作用発現の理論的予測ができることが示された¹³⁾。この結果を臨床に応用し、全身性副作用を回避するためには、点眼後に閉目し、目頭を軽く押さえることによって、鼻腔への点眼液の流入を防止し、大幅に副作用を軽減できることが示された¹⁴⁾。

Fig. 10 The mechanism and analytical model for the pharmacological effects of drug after binding to the metabotropic transmission receptor (illustration of adrenaline β -receptor).¹²⁾

Fig. 11 The relationship between the pharmacological effects and estimated receptor occupancies after oral and ophthalmic administration of beta-blocking agents.¹³⁾

◆ : betaxolol (oral), ◇ : betaxolol (ophthalmic), ● : timolol (oral), ○ : timolol (ophthalmic), ■ : befunolol (oral), □ : befunolol (ophthalmic), ▲ : carteolol (oral), △ : carteolol (ophthalmic), ▼ : other beta-blocking agents (oral). The non-linear line indicated the regression line according to the ternary complex model (Fig. 10).

Fig. 12 Comparison between two different drug dosage regimens for atenolol.¹⁵⁾

A: plasma concentration-time curves, B: receptor occupancy-time curves, C: predicted effect on exercise heart rate-time curves, D: predicted effect on FEV₁-time curves

— : 100 mg once a day, : 50 mg twice a day

受容体占有理論を用いて β 遮断薬 atenolol の内服時における気管支喘息の副作用回避のための用法設定への応用例を Fig. 12 に示した. 同量を 1 日回服用した場合には, 図中の FEV₁ 減少率のグラフ D の斜線部分が大きく, 副作用発現の危険性を高めていることが予測された. さらに, この危険性は 1 日 2 回で服用とすることによって回避できることがわかる¹⁵⁾.

医薬品の副作用評価に関する薬動力学研究

医薬品の副作用を科学的に評価してその危険性を回避するために, 薬動力学を副作用評価に応用する研究を行った.

ニューキノロン系抗菌剤(NQ)と非ステロイド性消炎鎮痛剤(NSAIDs)との併用による中枢性痙攣発現の予測

臨床において極めて重大な副作用として重視されている, ニューキノロン系抗菌剤(NQ)と NSAIDs との併用による中枢性痙攣発現には, Table VII に示した添付文書の記載内容の比較で明らかにように薬剤間で大きな差がある. 臨床において併用頻度が高いこれら薬剤間での中枢性痙攣発現危険度の定量的予測とその回避はきわめて重要な課題である. この相互作用発現機構の有力な仮説として中枢において NQ が有する GABA_A 受容体への GABA の取込阻害の NSAIDs による増強が報告されている. 我々は, 臨床現場のみならず, 新規 NQ の開発にも応用できるこの相互作用の *in vitro* 評価系の確立

を試みた.

遺伝子発現系として広く用いられているアフリカツメガエル卵母細胞にマウス脳から単離した mRNA を注入し, 培養することによって GABA_A 受容体を発現させた卵母細胞を用いて電気生理学的手法によって NSAIDs 単独および NQ 共存下における受容体応答抑制率を測定した (Fig. 13). Fig. 14 に NSAIDs であるフェルビナック共存下における 4 種の NQ の GABA 応答に対する抑制作用を示した. 図中アミかけ部分で示した臨床濃度範囲において, ノルフロキサシン, エノキサシンでは NQ の共存下では 50% 近くまで抑制されており, この結果はこれら薬剤間での併用による中枢性痙攣発現の臨床報告ともよく対応していた. また, ここで得られた IC₅₀ は GABA_A 受容体アゴニストである ³H-ムシモールの脳膜標品への特異的結合に対する IC₅₀ と完全に対応したことから, NQ と NSAIDs による GABA_A 応答の抑制は GABA の受容体結合部位における競合阻害による応答の遮断であることがわかった^{16,17)}.

この実験系によって臨床で繁用されている NQ と NSAIDs を対象とし, 併用による GABA 応答の抑制率の増強比をそれぞれエノキサシンとフェルビナックを併用薬として比較した結果を Fig. 15 に示した. いずれにおいても薬物間での増強比には大きな差がみられ, これらの結果は Table VII に示した添付文書の記載内容を裏付けており, 我々が構築した *in vitro* 実験系の有用性

Table VII ニューキノロン剤と非ステロイド性消炎鎮痛剤の相互作用

薬 物	代表的な商品名	添付文書記載内容
エノキサシン ロメフロキサシン ノルフロキサシン	フルマーク ロメバクト バクシダール	フェンブフェン (ナパノール), フルルビプロフェンアキセチル (ロピオン注) (禁忌) 他の NSAIDs (慎重投与)
シプロフロキサシン	シプロキサン	ケトプロフェン (カピステン) (禁忌) 他の NSAIDs (慎重投与)
レボフロキサシン オフロキサシン	クラビット タリビット	NSAIDs (慎重投与)
フレロキサシン スパルフロキサシン トスフロキサシン	メガロシン スバラ オゼックス	類似化合物で NSAIDs の併用によるけいれんの報告がある。

Fig. 13 脳 mRNA を注入したアフリカツメガエル卵母細胞における受容体応答実験の概略図¹⁶⁾

が確かめられた¹⁸⁾。

心電図上の QT 延長を指標とした不整脈誘発性の予測

近年、多くの非循環系用薬による不整脈の誘発が問題となっており、心電図上でこれらの副作用発現の予測を行うために、小動物であるラットおよびモルモットによる心電図上解析法を確立した (Fig. 16)。ついでこの測定法を用いて、キニジンポジティブコントロールとして、抗アレルギー剤であるテルフェナジン、エピナスチン、エバスチンについて定速静注後の血中濃度と QT 延長の関係を比較した。Fig. 17 に示すように、臨床でも QT 延長が報告されているテルフェナジン、エバスチンでは血中濃度の上昇に伴う QT 延長が明確に示されたが、臨床報告例の無いエピナスチンでは QT 延長はみられなかった。これらの結果は、我々の確立した小動物による心電図上で QT 延長の危険度を定量的に予測できる事を示している。この予測法を用いた非循環系用薬の臨

床における代替薬選択への応用を Tabel VIII に示した¹⁹⁾。

さらにこの評価系によって、臨床で繁用される抗生剤エリスロマイシン、免疫抑制剤タクロリムスなどについての検討をはじめ、QT 延長のリスクファクタとしての低カリウム血症の影響についても検討を行った²⁰⁻²²⁾。

医薬品の相互作用評価に関する薬動学研究

医薬品の相互作用において、ソリブジン事件に代表されるような重大な結果をもたらす薬物代謝における相互作用の予測とその回避法は臨床的にも重視されている。我々は、肝臓における薬物代謝における相互作用の定量的予測法の確立を試みた。薬物代謝酵素 CYP3A4 で主として代謝され相互作用評価のモデル薬物ミダゾラムを、阻害剤(併用薬)として同一酵素で代謝を受けるイトラコナゾール、ケトコナゾールを用いた。Fig. 18 に単

Fig. 14 Comparison between the concentration-response curves of each NQ for inhibition of 10 μ M GABA-induced current response in *Xenopus* oocytes injected with mouse-brain mRNA in the presence (solid line) or absence (broken line) of 10 μ M felbinac and the normal range of CSF concentration in the human after repeated administrations of therapeutic dose (dotted area). A, CPFX (ciprofloxacin); B, ENX (enoxacin); C, NFLX (norfloxacin); and D, OFLX (ofloxacin). CSF concentration in the human after repeated administrations of therapeutic dose was reported by Kawahara *et al.* (1991).¹⁷⁾

Fig. 15 A: マウス脳 mRNA を注入したアフリカツメガエル卵母細胞における GABA 応答 (10 μ M) に対する各種キノロン剤のフェルビナク非共存下での IC_{50} とフェルビナク (10 μ M) による増強比. 増強比はフェルビナク非共存下での IC_{50} をフェルビナク共存下でのそれと除して算出した. (n=3, mean $\pm$ S.D.)¹⁸⁾ B: 各種非ステロイド性抗炎症剤の共存・非共存下におけるエノキサシンによる GABA (10 μ M) 応答抑制の濃度作用曲線と, エノキサシンの GABA (10 μ M) 応答抑制に対する各種非ステロイド性抗炎症剤の増強比. 増強比はフェルビナク非共存下での IC_{50} をフェルビナク共存下でのそれと除して算出した. (n=3, mean $\pm$ S.D.)¹⁸⁾

Fig. 16 Schematic illustration for electrocardiographic study in small animals¹⁹⁾Table VIII 代替薬の選択のための薬物群内での不整脈誘発能の比較¹⁹⁾

非鎮静型抗アレルギー薬			
薬物 (代表的な商品名)	不整脈誘発能	症例	
テルフェナジン (トリルダン) *	++	+	
アステミゾール (ヒスマナール)	++	+	
エバスチン (エバステル)	+~±	-	
フェキソフェナジン (アレグラ)	-	-	
エビナスチン (アレジオン)	-	-	

* トリルダンは2000年11月発売中止

マクロライド系抗生物質			
薬物 (代表的な商品名)	不整脈誘発能	症例	
エリスロマイシン (エリスロシン)	++	+	
クラリスロマイシン (クラリス)	+	±	
ロキシスロマイシン (ルリッド)	±~-	-	
ジョサマイシン (ジョサマイシン)	±~-	-	
アジスロマイシン (ジスロマック)	±~-	-	
スピラマイシン (現在発売されていない)	±~-	±	

症例の±は因果関係が不確実または他の要因を含むもの

消化管運動賦活調整剤			
薬物 (代表的な商品名)	不整脈誘発能	症例	
シサブリド (リサモール)	++	+	
モサブリド (ガスモチン)	-	+	
イトブリド (ガナトン)	-	-	

独および併用時のミダゾラム静注後の血漿中濃度推移を示した。いずれにおいても、併用時に有意のAUCの増大がみられた^{23,24)}。

肝臓での代謝阻害による式(1)で表わしたAUCの上昇率($R = AUC'/AUC$)を定量的に予測するためには、

通常、血漿中非結合形薬物濃度(C_{pf})と肝臓内非結合形薬物濃度(C_{hf})が等しいと仮定しているが、取込過程に濃縮がある場合にはこの仮定は成り立たない。したがって正確に予測するためには、肝臓内での代謝酵素近傍の阻害剤濃度(C_i)を正確に見積もる必要がある。この予測に用いた肝移行動態モデルをFig. 19に示した。肝臓内の阻害剤濃度 C_i を C_{pf} とした式(2)、 C_{hf} とした式(3)を用いて予測した R_p 、 R_H をTable IXに示したが、 R_H と実測値 R との間により一致が認められた。また、肝臓内の非結合形薬物(阻害剤)濃度を見積もるためには、血漿・肝臓内分配率(K_p)が必要であり、我々は遊離肝細胞を用いて K_p 値の見積もりを行った。Fig. 20に、遊離肝細胞への取込の C/M (細胞内/細胞外培養液中濃度比)と定常状態における各種薬物の肝臓内濃度と血中濃度の比の相関を示したが、ここに示した9種の薬物間できわめてよい相関が得られていることから、現在、実用化されているヒト培養肝細胞を用いることによって、 C/M 比から K_p 値を求めることが可能であり、この K_p 値を用いてヒトにおける肝臓内非結合形薬物(阻害剤)濃度を求め、先の式(3)から臨床における肝臓での代謝阻害によるAUCの増加率を予測することが可能となる。しかしながら、臨床においては経口投与時の予測が必要であり、このためには、今後さらに併用時における腸管における薬物代謝酵素阻害の定量的予測法を確立する必要がある。

研究成果の臨床実務への反映

以上紹介してきた動物およびヒトにおける薬物動態学・薬動力学による研究成果は、臨床の場に応用されて初めてその研究目的を達成したことになる。その一例としてFig. 21に臨床症例・基礎・臨床データの収集に始

Fig. 17-1 Time profiles of (A) terfenadine-induced QT prolongation and (B) plasma terfenadine concentration²⁰⁾

Fig. 17-2 Time profiles of QT prolongation (A: ebastine, C: epinastine) and plasma concentration of (B: ebastine, D: epinastine)²⁰⁾

Fig. 18 Effect of itraconazole (ITZ) (A) and ketoconazole (KTZ) (B) on plasma concentration of midazolam (MDZ)²³⁾
 A: ITZ was administered through the femoral vein a dose of 20 mg/kg. MDZ was administered through the portal vein at a dose of 10 mg/kg at 60 min after administration of ITZ. B: KTZ was administered through the femoral vein a dose of 5 mg/kg and then infused at constant rate of 0.33 mg/g/body. MDZ was administered through the portal vein at a dose of 10 mg/kg at 120 min after the start of infusion. Each point represents the mean $\pm$ S.D. (n = 4). ■, plasma concentration of MDZ alone; ●, plasma concentration in the presence of ITZ or KTZ; ▲, plasma concentration of ITZ or KTZ

$$AUC' / AUC = R = 1 + C_i / K_i \quad (1)$$

$$1. C_i = C_{pf} \quad (C_{pf} = C_{hf})$$

$$2. C_i = C_{hf} \quad (C_{pf} \neq C_{hf})$$

Fig. 19 Hepatic transport model for drug-drug interaction²³⁾

Fig. 20 Correlation between C/M ratios on uptake by isolated rat hepatocytes and liver/unbound blood concentration ratios²⁴⁾

ITZ: itraconazole, KTZ: ketoconazole, VER: verapamil, CAM: clarithromycin, DLZ: diltiazem, CPFX: ciprofloxacin, ENX: enoxacin, CIM: cimetidine, NIZ: nizatidine

まり、薬物動態・薬動力学に基づいたデータの評価および解析、さらに薬剤部・薬剤師からの提言を加えて再構築し、医師あるいは患者へ情報提供する流れを示した²⁵⁾。このようにして構築された情報は、医師向けの冊子やニュースレター、また服薬指導時の患者向けのリーフレットなどにまとめられ臨床実務に反映し、医薬品の適正使用、有効かつ安全な薬物療法に活用されている。

Table IX Comparison between predicted value and observed value of increase in ratio of plasma concentration of midazolam

Inhibitor	R_p $1 + C_{pf} / K_i$	R_H $1 + C_{hf} / K_i$	R AUC' / AUC
ITZ	1.03~1.05	1.73~1.97	2.14
KTZ	1.39	1.51	1.67

The increase ratios, R_p and R_H were calculated from C_{pf} and C_{hf} , AUC' / AUC is observed value calculated.

ITZ: itraconazole; KTZ: ketoconazole

おわりに

ゲノム時代を迎えた 21 世紀の医療において薬学の果たす役割も、大きな転機に立たされているといっても過言ではない。遺伝子診断においては薬物代謝酵素の遺伝子多型解析による薬物療法の適正化、さらに薬効・副作用発現過程における受容体の遺伝子解析に基づく薬物療法の個別化へ向けて、ゲノム薬学を基盤とした薬物動態の個別評価、病態・薬効・副作用発現の個別評価によって、患者個別の医薬品の開発(テラーメイド医療)、患者個別の薬物投与計画の設定へ貢献しなければならないであろう。

謝 辞：本研究の受賞にあたりまして終始ご指導賜りました東京大学名誉教授 花野 学先生、東京薬科大学名誉教授 栗津莊司先生に深甚より厚く御礼申し上げます。また、共同研究者として多大のお力添えをいただきました東京大学大学院薬学系研究科教授 杉山雄一先生、九州大学大学院薬学研究科教授 澤田康文先生、信州大学医学部教授 川崎誠治先生、昭和大学薬学

Fig. 21 医師向け情報冊子「臨床医のためのくすりの時間」における情報の再構築の例²⁵⁾

部教授 佐藤 均先生、東京大学医学部附属病院薬剤部助教授 山田安彦先生に心より御礼申し上げます。さらに、ここにまとめられました多くの研究成果は、昭和47年から平成元年に東京大学薬学部製剤学教室で、また平成2年から平成12年までに東京大学医学部附属病院薬剤部の方々によって行われたものであり、これらの方々に感謝申し上げます。

文 献

- 1) Rowland, M., Bent, L. Z. and Graham, G. G. Clearance concepts in Pharmacokinetics. *J. Pharmacokin. Biopharm.* 1: 123-136 (1973).
- 2) Iga, T., Sugiyama, Y., Yokota, M., Tomono, Y., Awazu, S., and Hanano, M.: Pharmacokinetic aspects of sulfobromophthalein transport in chronically carbon tetrachloride-intoxicated rats. *Biochem. Pharmacol.* 26: 1867-1875 (1977).
- 3) Yokota, M., Iga, T., Awazu, S., and Hanano, M.: Simple method of hepatic venous blood sampling in the rat. *J. appl. Physiol.*, 41: 439-441 (1976).
- 4) Bradley, S. E., Ingelfinger, F. J., Bhadley, G. P., and Curry, J. J. The estimation of hepatic blood flow in man. *J. Clin. Invest.* 24: 890-897 (1945).
- 5) Iga, T., Yokota, M., Sugiyama, Y., Awazu, S., and Hanano, M.: Hepatic transport of indocyanine green in rats chronically intoxicated with carbon tetrachloride. *Biochem. Pharmacol.* 29: 1291-1297 (1980).
- 6) Kawasaki, S., Umekita, N., Beppu, T., Wada, T., Sugiyama, Y., Iga, T., and Hanano, M.: Hepatic transport of indocyanine green in dogs chronically intoxicated with dimethylnitrosamine. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 75: 309-317 (1984).
- 7) Kawasaki, S., Umekita, N., Beppu, T., Wada, T., Sugiyama, Y., Iga, T., and Hanano, M.: Hepatic extraction of chenodeoxycholic acid in dogs chronically intoxicated with dimethylnitrosamine. *Biochem. Pharmacol.* 33: 3219-3224 (1984).
- 8) Kawasaki, S., Sugiyama, Y., Iga, T., Hanano, M., Sanjo, K., Beppu, T., and Idezuki, Y.: Pharmacokinetic study on the hepatic uptake of indocyanine green in cirrhotic patients. *Am. J. Gastroenterol.* 80: 801-806 (1985).
- 9) Kawasaki, S., Sugiyama, Y., Iga, T., Hanano, M., Beppu, T., Sugiura, M., Sanjo K., and Idezuki, Y.: Hepatic clearances of antipyrine, indocyanine green, and galactose in normal subjects and in patients with chronic liver diseases. *Clin. Pharmacol. Ther.* 44: 217-224 (1988).
- 10) Yamamura, Y., Kotaki, H., Tanaka, N., Aikawa, T., Sawada, Y., and Iga, T.: The pharmacokinetics of glycyrrhizin and its restorative effect on hepatic function in patients with chronic hepatitis and in chronically carbon-tetrachloride-intoxicated rats. *Biopharm. Drug Dispos.* 18: 717-725 (1997).
- 11) Yamada, Y., Sawada, Y., Ito, K., Nakamura, K., and Iga, T.: Prediction of therapeutic doses of beta-adrenergic receptor blocking agents based on quantitative structure-pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship. *Biol. Pharm. Bull.* 16 (12): 1251-1259 (1993).
- 12) Yamada, Y., Shibuya, F., Hamada, J., Sawada, Y. and Iga, T.: Prediction of sleep disorders induced by β-adrenergic receptor blocking agents based on receptor occupancy. *J. Pharmacokin. Biopharm.* 23 (2), 131-145, (1995).
- 13) 澤田康文, 山田安彦, 伊賀立二: レセプター結合占有理論に基づいた薬効・薬理作用と副作用・毒性作用の定量的評価. *薬学雑誌*, 117: 65-90 (1997).
- 14) Yamada, Y., Takayanagi, R., Tsuchiya, K., Ito, K., Sawada, Y., and Iga, T.: Assessment of systemic adverse reac-

- tions induced by ophthalmic β -adrenergic receptor antagonists based on receptor occupancy. *J. Ocular. Pharmacol.*, (in press)
- 15) Yamada, Y., Matsuyama, K., Ito, K., Sawada, Y., and Iga, T.: Risk assesment of adverse pulmonary effects induced by adrenaline beta-receptor antagonists and rational drug dosage regimen based on receptor occupancy. *J. Pharmacokin. Biopharm.* **23**: 463-478 (1995).
 - 16) Kawakami, J., Yamamoto, K., Shimokawa, M., Sawada, Y., Asanuma, A., Yanagisawa, K., and Iga, T.: Neurotoxic study of H2 antagonists using xenopus oocytes injected with mouse-brain mRNA. *Biol. Pharm. Bull.* **20**: 1030-1032 (1997).
 - 17) Kawakami, J., Yamamoto, K., Asanuma, A., Yanagisawa, K., Sawada, Y., and Iga, T.: Inhibitory effect of new quinolones on GABA(A) receptor-mediated response and its potentiation with felbinac in xenopus oocytes injected with mouse-brain mRNA: Correlaton with convulsive potency *in vivo*. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **145**: 246-254 (1997).
 - 18) Kita, H., Matsuo, H., Takanaga, H., Kawakami, J., Yamamoto, K., Iga, T., Naito, M., Tsuruo, T., Asanuma, A., Yanagisawa, K., and Sawada, Y.: *In vivo* and *in vitro* toxicodynamic analyses of new quinolone and non steroidal anti-inflammatory drug-induced effects on the central nervous system. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **43**: 1091-1097 (1999).
 - 19) Ohtani, H., Hanada, E., Yamamoto, K., Sawada, Y., and Iga, T.: Pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis of the electrocardiographic effects of terfenadine and quinidine in rats. *Biol. Pharm. Bull.* **19**: 1189-1196 (1996).
 - 20) Ohtani, H., Kotaki, H., Sawada, Y., and Iga, T.: A comparative pahrmacokinetic-pharmacodynamic study of the electrocardiographic effects of epinastine and terfenadine in rats. *J. Pharm. Pharmacol.* **49**: 458-462 (1997).
 - 21) Hirota, M., Ohtani, H., Hanada, E., Sato, H., Kotaki, H., Uemura, H., Nakaya, H., and Iga, T.: Influences of extracellular K^+ concentration on quinidine-induced K^+ current inhibition in rat ventricular myocytes. *J. Pharm. Pharmacol.*, **52**(1): 99-105 (2000).
 - 22) Hanada, E., Ohtani, H., Kotaki, H., Sawada, Y., and Iga, T.: Pharmacodynamic analysis of the electrocardiographic interaction between disopyramide and erythromycin in rats. *J. Pharm. Sci.* **88**: 234-240 (1999).
 - 23) Yamano, K., Yamamoto, K., Kotaki, H., Sawaada, Y., and Iga, T.: Quantitative prediction of metabolic inhibition of midazolam by itraconazole and ketoconazole in rats: Implication of concentrative uptake inhibitors into liver. *Drug Met. Dispos.* **27**: 395-402 (1999).
 - 24) Yamano, K., Yamamoto, K., Kotaki, H., Takedomi, S., Matsuo, H., Sawada, Y., and Iga, T.: Quantitative prediction of metabolic inhibition of midazolam by erythromycin, diltiazem, and verapamil in rats: Implication of concentrative uptake of inhibitors into liver. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **292**: 1118-1126 (2000).
 - 25) 山田安彦, 高柳理早, 伊賀立二: 薬物間相互作用の回避法 1: 医師への薬物間相互作用情報提供のあり方. *治療学* **32**: 379-384 (1998).