

テオフィリン体内動態における変動要因の解明と  
臨床応用に関する研究

1993

矢野育子

テオフィリン体内動態における変動要因の解明と  
臨床応用に関する研究

1993

矢野育子

# 目次

|   |    |
|---|----|
| 総論の部                                      | 1  |
| 緒言  | 1  |
| 第I章 閉塞性呼吸器障害時における体内動態の変動要因の解明             | 2  |
| 第1節 低酸素血症の体内動態への影響                        | 4  |
| 1-a 低酸素血症モデル動物の作製                         | 4  |
| 1-b 静脈内急速投与時の体内動態解析                       | 6  |
| 1-c 静脈内定速注入時の体内動態解析                       | 10 |
| 1-d 考察                                    | 12 |
| 第2節 ロイコトリエンC <sub>4</sub> 誘発喘息発作の体内動態への影響 | 15 |
| 2-a ロイコトリエンC <sub>4</sub> による気管支収縮の誘発     | 15 |
| 2-b ロイコトリエンC <sub>4</sub> による病態生理学的変化     | 17 |
| 2-c 体内動態解析                                | 17 |
| 2-d 考察                                    | 22 |
| 第II章 臨床データを用いた体内動態解析                      | 27 |
| 第1節 喘息発作時の小児患者における体内動態解析                  | 27 |
| 1-a 患者データの特徴                              | 29 |
| 1-b 解析法                                   | 31 |
| 1-c 結果と考察                                 | 32 |
| 第2節 慢性閉塞性呼吸器障害患者の安定期における体内動態解析            | 37 |
| 2-a 患者の特徴と試験方法                            | 37 |
| 2-b 薬物速度論モデルと統計モデル                        | 41 |
| 2-c データ解析                                 | 42 |
| 2-d 考察                                    | 47 |
| 第III章 血中薬物濃度に基づく個別化投与設計                   | 50 |
| 第1節 1点ベイジアン法による予測精度の評価                    | 50 |
| 1-a パラメータの推定誤差に関する理論                      | 51 |
| 1-b シミュレーションによる評価                         | 55 |
| 1-c 臨床データによる評価                            | 66 |
| 1-d 考察                                    | 75 |

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| 第2節 個別化投与設計への応用.....              | 78 |
| 2-a 個別化により喘息のコントロールが可能となった一例..... | 78 |
| 2-b 薬剤性肝障害により体内動態が急変した一例.....     | 80 |
| 第3節 テオフィリン血中濃度モニタリング指針.....       | 82 |
| 結論.....                           | 83 |
| 謝辞.....                           | 86 |
| <br>                              |    |
| 実験の部.....                         | 87 |
| 第I章 実験の部.....                     | 87 |
| 第II章 実験の部.....                    | 91 |
| 第III章 実験の部.....                   | 92 |
| <br>                              |    |
| 引用文献.....                         | 93 |

## 総論の部

### 緒言

薬物動態理論は、1960年代後半まで基礎研究における薬物動態解析においてのみ用いられていたが、その後薬物投与設計への応用が試みられるようになった。また、1970年代における薬物濃度測定技術の進歩は、血中薬物濃度と薬効の関係を明確にすることに役立ち、薬物ごとの有効血中濃度域の概念を導入することになった。TDM(Therapeutic Drug Monitoring)は、こうした科学的根拠を背景に、個々の患者に有効かつ安全な薬物療法を行うことを目的として発展してきた。<sup>1)</sup> またTDMは、薬剤師の職能という面からも個々の患者への投与設計を柱に薬物治療に参画することを可能とし、医師をはじめとした他の医療従事者、患者とのコミュニケーションを深め、病棟活動といった新しい業務への展開の基礎とする、あるいは臨床で経験した問題を基礎的アプローチにより解明し、再び臨床にフィードバックすることにより医療に貢献する等、多くの可能性を秘めている。

本研究において取り扱ったテオフィリンは、気管支拡張剤として、臨床上気管支喘息をはじめとした閉塞性呼吸器障害の急性期あるいは慢性期の治療に繁用されるが、有効血中濃度域が狭くかつ体内動態の個体差が大きいことから、TDMを必要とする薬物の一つとされている。<sup>2)</sup> 近年、体内動態の個体差に加え、同一患者内でも病状の変化に伴い比較的短期間の内に血中動態が変化することが報告されており、テオフィリンの使用をさらに難しいものとしている。<sup>3-5)</sup> そこで著者は、このようなテオフィリン体内動態における変動要因を解明することが信頼し得る薬物療法の確立に必要であると考え、病態モデル動物を用いた基礎的検討を行い、得られた知見を臨床データの解析に応用することにより臨床的妥当性を検証した。さらに、これらの知見に基づく個別投与設計法を確立し、その臨床的有用性につき検討を行うことにより、テオフィリン治療を行う上で有益な知見を得ることができた。

以下、これらの結果について三章にわたり論述する。

## 第 I 章 閉塞性呼吸器障害時における 体内動態の変動要因の解明

テオフィリンが喘息治療薬として初めて臨床適用されたのは1937年のことであるが、当初は死亡を含む重篤な副作用の出現とそれを避けるために低用量が用いられたことによる治療効果の低下のため使用頻度は高くなかった。<sup>6)</sup>その後、1970年代の臨床薬理学の発展により安全かつ有効な薬剤として再び脚光を浴び喘息の主たる治療薬として繁用されるようになった。1973年に Mitenkoらはテオフィリン血清中濃度 5~20  $\mu\text{g/ml}$ の範囲で肺活量や一秒率の連続的な改善が見られることから、血清中濃度測定の妥当性を示している。<sup>7)</sup>一般に、喘息をはじめとした閉塞性呼吸器障害に対し気管支拡張作用を目的として用いる場合、テオフィリンの血清中治療濃度範囲は10~20  $\mu\text{g/ml}$ といわれており、20  $\mu\text{g/ml}$ を越えるに伴い軽度~重篤な副作用が出現することが報告されている。<sup>8)</sup>そうした副作用はテオフィリンがキサンチン誘導体であることに基づく中枢神経興奮作用、利尿作用、あるいは強心作用によるものとされている。<sup>2)</sup>

テオフィリン体内動態に関しては、その分布容積が比較的変動を受けにくいのに対し、クリアランスは年齢、疾病といった患者の生理的因子や、喫煙、併用薬剤といった種々の外的因子により影響を受けやすいため、<sup>2), 9)</sup>投与設計に際して個別化が必要とされている。さらに近年、同一患者内であっても急性疾患時には病状の変化に並行して体内動態値が2から3倍にも変化することや、<sup>3-5)</sup>喘息の発作時と非発作時では体内動態に相違のあることが報告されており、<sup>10, 11)</sup>症状の安定した寛解期に設定した投与量を急性期において使用した場合、副作用をもたらすことが懸念される。

呼吸器障害時の病因と病態は多様であるが、多くの場合これらの発症時にはガス交換機能に異常をきたすことから、動脈血ガス分圧の変化（動脈血酸素ガス分圧( $\text{PaO}_2$ )の低下と炭酸ガス分圧( $\text{PaCO}_2$ )の上昇) 並びに動脈血pHの変化が認められ、同時に肺の血管抵抗の変化が示される。<sup>12)</sup>しかし、こうした病態生理学的変化とテオフィリン体内動態の関係については、未だ統一した見解を得るには至っていない。そこで、こうした体内動態の変動因子を解明することが病態時におけるテオフィリン動態の予測とその後の投与量の調整に重要な役割を果たすと考え、本章では低酸素血症、喘息の二種の病態モデル動物を用い

た検討を行った。

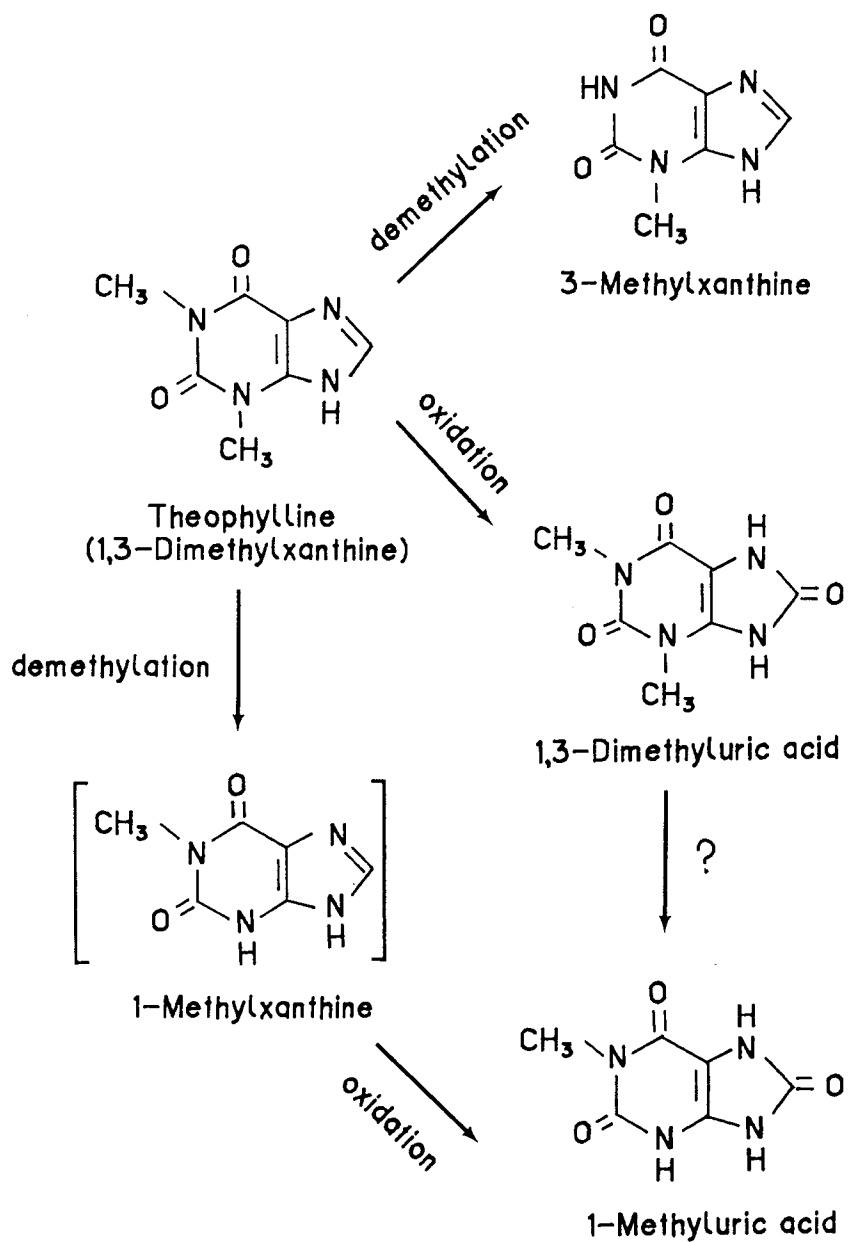


Fig.1 Pathway of theophylline metabolism

## 第1節 低酸素血症の体内動態への影響

低酸素血症は換気障害時にはしばしば見られる病態であり、しかも低酸素血症は薬物の代謝過程において酸素依存性の酸化反応だけでなく、酸化還元依存性あるいはエネルギー依存性の反応に対しても影響を与えることが知られている。<sup>13)</sup> テオフィリンは肝ミクロゾームの酸化的薬物代謝酵素P-450系により、側鎖の脱メチル化と水酸化を受けるが(Fig.1)、これらの反応はいずれも酸素の供給を必要とする。そこで本節では、患者におけるテオフィリン体内動態の個体内変動因子のメカニズムの一つとして低酸素血症を考え、低酸素血症モデル動物におけるテオフィリン体内動態について検討した。

### 1-a 低酸素血症モデル動物の作製

動物はWistar系雄性ラット(240-275g)を覚醒下、ボールマンゲージにより固定して用いた。吸入ガスを制御するため、動物の上半身は気密性のビニール袋で覆い、袋の先端にゴム製チューブを差込んだ。8%酸素ガスと92%窒素ガスからなる低酸素ガスを流量計(Kofloc model RK1200, Kojima Flow Instruments)により、400~500ml/minに調整しながらチューブを通して動物に送り込んだ。この低酸素ガス成分は文献を参考に選択し、<sup>14,15)</sup> 実験的低酸素血症の病態の確認は、動脈血ガス分圧並びにpHを37°Cで測定(ABL-3, Radiometer)することにより行った。対照群は上半身をビニール袋で覆うことなく、室内の空気を吸入させた。実験期間を通じて動物の体温は37°Cを保つよう調節し、実験途中で死亡に至った例はみられなかった。

Fig.2には動脈血pH、動脈血炭酸ガス分圧(PaCO<sub>2</sub>)、酸素ガス分圧(PaO<sub>2</sub>)、並びにヘモグロビン酸素飽和度の百分率を示した。低酸素ガス吸入前のPaO<sub>2</sub>は77.9 ± 2.6 mmHg(n=10)であり、その後の対照群における値と差はみられなかった。低酸素ガスの吸入開始後PaO<sub>2</sub>は速やかに低下し、30分後には34.2 ± 2.9 mmHgとなり、低酸素ガスの連続吸入下 8時間まで一定の値を保った。また処置群の吸入ガスを低酸素ガスから室内の空気に変更することにより、低下していたPaO<sub>2</sub>は30分後には79.4 ± 5.5 mmHg(n=5)となり、対照群における値まで回復した。したがって血液ガス分圧は、吸入ガスの変更後30分以内に平衡に達す



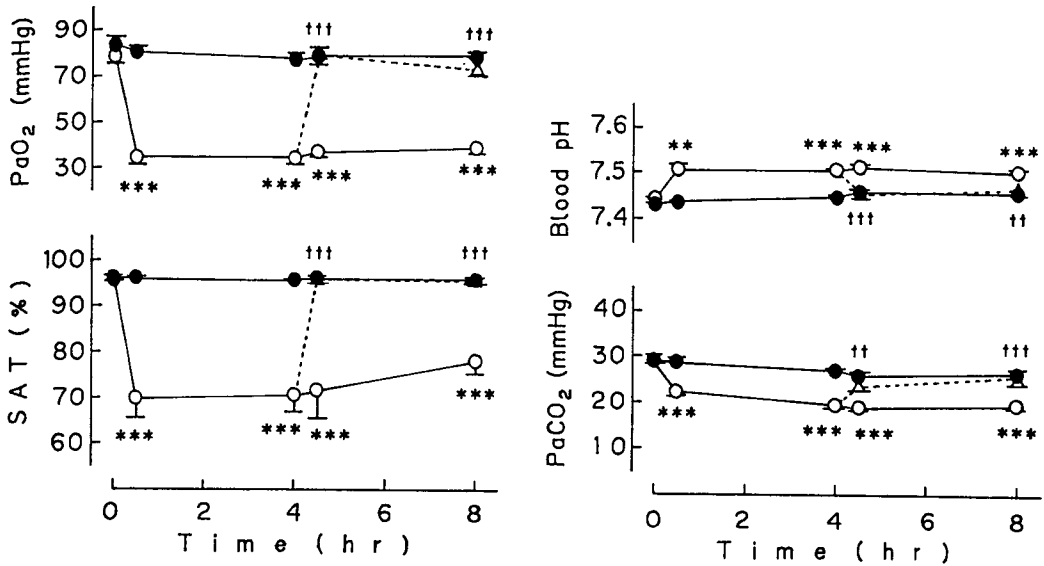


Fig.2 Blood pH, PaCO<sub>2</sub>, PaO<sub>2</sub> and percent of saturated hemoglobin with oxygen (SAT) in control (●, n=6) and treated (○, n=10) rats. The treated group started to inspire hypoxic gas composed of 8% O<sub>2</sub> and 92% N<sub>2</sub> at time zero, and 4 hr later the half (Δ, n=5) of the treated group returned to inspire room air. Control group inspired room air throughout the experiment. Results are means ± S.E. Values of hypoxemic group were significantly different from those of control group, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001. Values of returning group were significantly different from those of hypoxemic group, ††p<0.01, †††p<0.001.

ることが明らかとなった。また、低酸素ガスによる処理期間中ヘモグロビン酸素飽和度はPaO<sub>2</sub>と同様に有意に低下を示した。PaCO<sub>2</sub>は低酸素処理30分後には29.0 ± 0.7 mmHgから22.2 ± 0.8 mmHgに若干減少し、動脈血pHはこのPaCO<sub>2</sub>の変化に関連して7.44 ± 0.01から7.51 ± 0.01へと上昇を示した。

このように、今回作製した低酸素血症モデルは、酸素ガス-窒素ガスの過呼吸のため軽度の低炭酸ガス血症となり、呼吸性アルカロシスを伴った<sup>16)</sup> 低酸素吸入による低酸素血症であり、こうした血液ガスの異常は臨床でみられる喘息発作の第二段階と類似したものであった。<sup>17)</sup>

### 1-b 静脈内急速投与時の体内動態解析

まず、低酸素血症ラットにおけるテオフィリン静脈内急速投与時の体内動態について検討した。低酸素ガス吸入開始30分で低酸素血症とした後、テオフィリンとして 5 mg/kgに相当するアミノフィリンを静脈カテーテルより急速投与し、経時的な採血と採尿を行った。この投与量では、ラットにおいて線形の体内動態が仮定できる<sup>18)</sup>と考えられる。Fig.3 にはテオフィリン静脈内急速投与後の血漿中テオフィリン濃度-時間曲線を示すが、低酸素血症群での血漿中濃度の減衰は対照群に比較し有意に遅延していた。投与初期には両群での血漿中濃度に有意差はないもののその後の濃度は有意に異なり、6 時間での値は対照群で $1.59 \pm 0.33 \mu\text{g/ml}$ (n=4)であるのに対し、低酸素血症群で $4.51 \pm 0.37 \mu\text{g/ml}$ (n=5)であった(p<0.001)。

こうした両群でのテオフィリン血漿中濃度推移の変化の原因を明らかにするため、2-compartment model に基づく体内動態パラメータをeq.1~5 に従い算出した。<sup>19, 20, 21)</sup>

$$C_p = A \cdot \exp(-\alpha t) + B \cdot \exp(-\beta t) \quad (\text{eq.1})$$

$$V_{d_{ss}} = \text{Dose} / (A/\alpha + B/\beta) \quad (\text{eq.2})$$

$$CL_t = \text{Dose} / (A/\alpha + B/\beta) \quad (\text{eq.3})$$

$$CL_r = X_{u^{0-6}} / AUC^{0-6} \quad (\text{eq.4})$$

$$CL_h = CL_t - CL_r \quad (\text{eq.5})$$

ここで、 $C_p$ は時間 $t$ における血漿中テオフィリン濃度であり、 $A, \alpha, B, \beta$ は推定すべきパラメータである。Eq.4における $X_{u^{0-6}}$ は0~6時間に尿中に排泄された未変化テオフィリン量、 $AUC^{0-6}$ は0~6時間における血漿中テオフィリン濃度-時間曲線下面積、 $CL_r$ は6時間での平均腎クリアランスである。またテオフィリ

ンの胆汁中への排泄は5%以下であり、<sup>22)</sup> 主たる排泄臓器は肝臓と腎臓であるので、腎外クリアランスは肝クリアランスを示すものと仮定した。

また従来より、急性呼吸器疾患時のテオフィリン体内動態の変化の機構の一つとして、高炭酸ガス血症は血液pHを下げるため、テオフィリンの血漿蛋白への結合率に変化を与えることが考えられている。<sup>4,5,23,24)</sup> そこで、低酸素血症のテオフィリン血漿蛋白結合率並びにヘマトクリット値への影響についても考慮した。

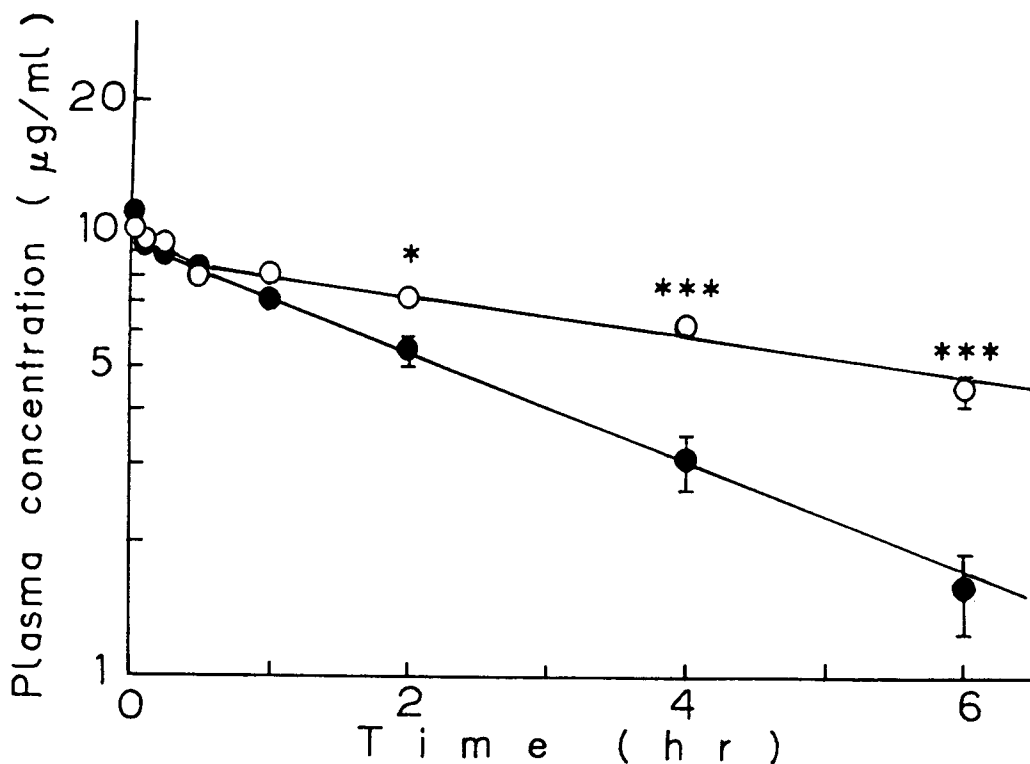


Fig.3 Plasma concentrations of theophylline in control (●, n=5) and hypoxemic (○, n=4) rats after i.v. bolus injection of 5 mg/kg theophylline. Results are means  $\pm$  S.E. Significantly different from values of control group, \* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$ .

結果は、Table 1 に示すように、平衡分布容積( $Vd_{ss}$ )には両群で差はなく、血漿中蛋白非結合型分率( $f_u$ )並びにヘマトクリット値(Hct)にも差は認められなかった。したがって、低酸素血症時の体内動態の変化は組織分布の変化によるものではないことが明らかとなった。一方、全身クリアランス ( $CL_t$ )、腎クリアランス( $CL_r$ )、肝クリアランス( $CL_h$ )はいずれも有意に低下していた。 $CL_h$ の $CL_t$ への寄与は $CL_r$ の場合の約3倍であることを考慮すると、 $CL_h$ と $CL_r$ の低下は同程度であるものの、 $CL_h$ の低下が低酸素血症群における体内動態変化の主な原因であると推察される。

Table 1 Kinetic parameters of theophylline, hematocrit and urine flow rates in the i.v. bolus injection study

|                          | Control<br>(n=5) | Hypoxemia<br>(n=4) |
|--------------------------|------------------|--------------------|
| $T_{1/2,\alpha}$ (hr)    | 0.0244 ± 0.0127  | 0.143 ± 0.057      |
| $T_{1/2,\beta}$ (hr)     | 2.44 ± 0.22      | 7.71 ± 1.52**      |
| $Vd_{ss}$ (L/kg)         | 0.524 ± 0.016    | 0.572 ± 0.022      |
| $CL_t$ (L/hr/kg)         | 0.156 ± 0.020    | 0.0556 ± 0.0067**  |
| $CL_r$ (L/hr/kg)         | 0.0429 ± 0.0072  | 0.0162 ± 0.0021*   |
| $CL_h$ (L/hr/kg)         | 0.113 ± 0.015    | 0.0394 ± 0.0068**  |
| $f_u$ <sup>a)</sup>      | 0.449 ± 0.065    | 0.452 ± 0.057      |
| Hematocrit <sup>a)</sup> | 0.482 ± 0.006    | 0.456 ± 0.019      |
| Urine flow (ml/hr)       | 1.00 ± 0.13      | 0.838 ± 0.187      |

a) These values were obtained from 4 other rats because the plasma unbound fraction ( $f_u$ ) measurement required a large volume of blood samples. Results are means ± S.E. Significantly different from the values of the control group, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ .

6時間での尿中排泄率は、対照群において投与量の65.1%であり、その内訳は未変化テオフィリンが 22.5%、1-MUが21.2%、1,3-DMUが 21.4%であった。低酸素群の場合には尿中排泄率は投与量の28.5% に低下しており、その内訳はテオフィリンが13.0%、1-MUが8.1%、1,3-DMUが7.4%であった。また、Fig.4 に示すように、全尿中排泄量に対する未変化テオフィリンの百分率は対照群の 35.8 ± 4.4%に対し、低酸素血症群で 47.8 ± 4.7%と増加しており、代謝物である

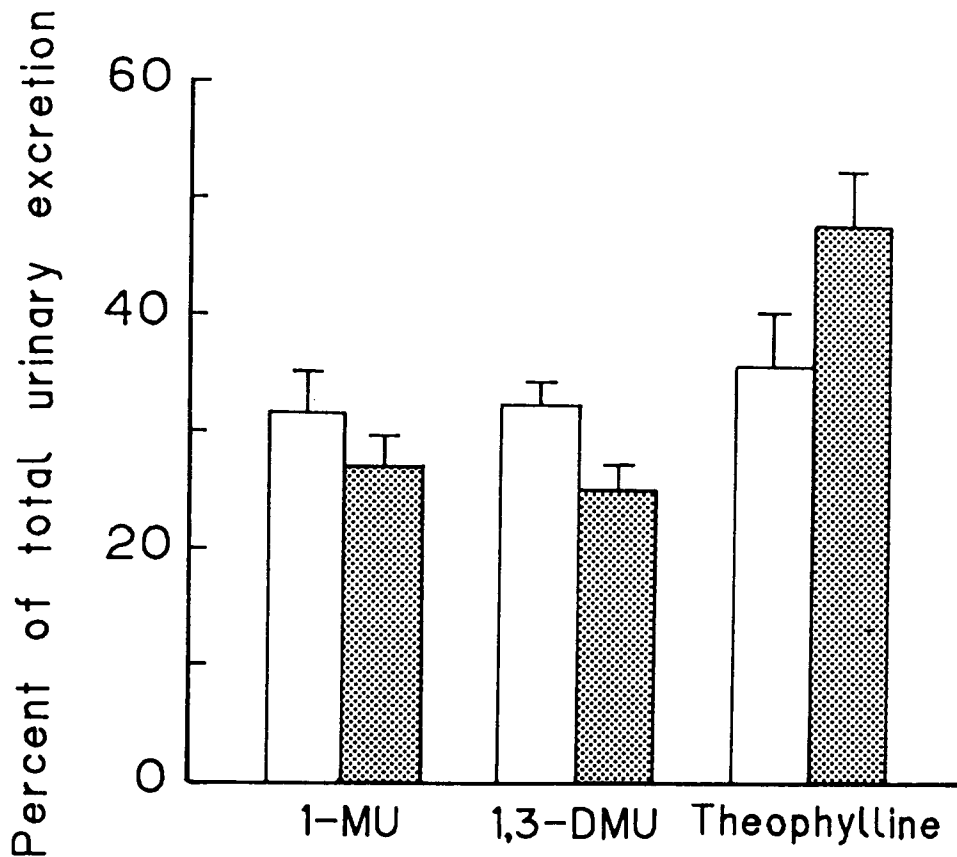
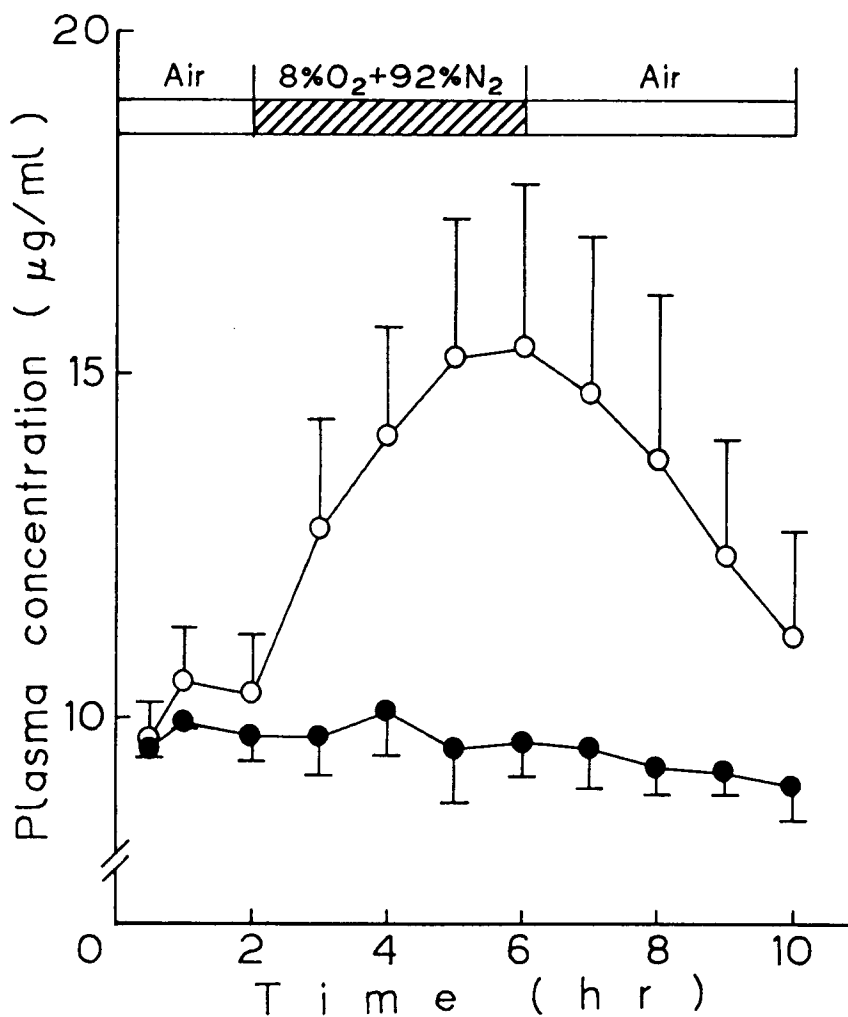


Fig.4 Percent of total urinary excretion of theophylline and its major metabolites in control (□, n=5) and hypoxemic (▨, n=4) rats. Urine was collected for 6 hr after i.v. bolus injection of theophylline. Results are means ± S.E.

1-MUと1,3-DMUの百分率はそれぞれ対照群での  $31.7 \pm 3.2\%$ 、 $32.5 \pm 1.6\%$ から、低酸素血症群の  $27.0 \pm 2.7\%$ と $25.2 \pm 2.1\%$ に低下しており、 $CL_r$ よりも $CL_h$ の寄与の方が大きいことが示された。

### 1-c 静脈内定速注入時の体内動態解析

これまでの臨床報告によると、急性疾患時の患者のクリアランスは、日ごとあるいは時間ごとに急速に変動することが報告されている。<sup>3,4,10,11)</sup>そこで、低酸素血症ラットで観察されるクリアランスの変化が血液酸素ガス分圧の変化に急速に反応した結果であるかを検討するため、テオフィリンを静脈内に定速注入下、動物の吸入ガス成分を急速に交換する実験を行った。テオフィリンの負荷量並びに維持量は、定常状態での血漿中テオフィリン濃度が $10 \mu\text{g/ml}$ となるように、静脈内急速投与の実験で得られた体内動態パラメータを用いて設定した。全ての動物は最初の2時間室内の空気を吸入させ、その後、処理群では低酸素ガスを次の4時間にわたり吸入させ、その後再び空気に戻した。対照群では実験期間を通じて空気を吸入させた状態を保った。Fig.5に示すように、両群において、テオフィリン血漿中濃度は定速注入開始後約2時間で定常状態に達するが、その後処理群では動物に低酸素ガスを吸入させることにより直ちに血漿中濃度の上昇が観察された。4時間の低酸素ガス処理により、処理群での血漿中濃度は $15.38 \pm 2.40 \mu\text{g/ml}$  ( $n=4$ )まで上昇し、この上昇の程度は、静脈内急速投与時の低酸素血症群での体内動態パラメータに基づいて予測されるよりも大きなものであった。さらに吸入ガスを空気に戻すことにより、上昇していた処理群での血漿中濃度は時間と共に減少し、対照群における濃度に近づくといった可逆性が観察された。



**Fig.5** Effect of oxygen concentration in inspired gas on plateau plasma concentrations of theophylline in control (●, n=4) and treated (○, n=4) groups. Results are means ± S.E.

## 1-d 考察

テオフィリンは気管支拡張剤として喘息の予防だけでなく、発作時の救急処置にも必須の薬剤である。喘息発作時には、しばしば低酸素血症を伴いその程度は発作の重症度に応じて変動する。したがって、低酸素血症のテオフィリン体内動態への影響を評価することは臨床的に興味深いと考えられる。実験的低酸素血症は低酸素ガスの吸入により作製したが、低酸素血症と同時に呼吸性アルカローシスを伴っていた。動脈血ガス分圧並びに動脈血pHは少なくとも7.5時間一定レベルを保ち、安定した病態が作製できたと考えられる。ヒトあるいはウサギにおいて、 $\text{PaCO}_2$  がクリアランスと逆相関するといった報告がある。<sup>25, 26)</sup> ラットを用いた本実験では、 $\text{PaCO}_2$  と $\text{PaO}_2$  が同時に低下した状況下で、クリアランスの低下が観察された。ラットにおいても $\text{PaCO}_2$  の低下と $\text{PaO}_2$  の低下は、クリアランスに対して反対の影響をもたらすと推察されるが、本実験で観測された $\text{PaCO}_2$  の低下はわずかでありクリアランスの変化の原因となるとは考え難く、クリアランス低下の原因としては低酸素血症の効果が主たるものと考えられる。

また定速注入実験の結果によれば、クリアランスは $\text{PaO}_2$  に強く依存し迅速な可逆的变化が認められた。同様の効果は単離灌流肝を用いた研究においても報告されている。<sup>27, 28)</sup> こうした結果を考慮すれば、低酸素血症によるクリアランスの変化は肝細胞機能への非可逆的障害ではなく、例えば血流分布の変化や薬物代謝系への酸素供給の制限等の血液ガス分圧の変化に迅速に関連した反応によることが示唆された。

テオフィリン定速注入時の吸入ガスの変化に伴う血漿中濃度の上昇は、静脈内急速投与時に求めた体内動態速度パラメータに基づく予測よりも大きくなることが観察された。テオフィリンは、ヒト並びにラットにおいて投与量依存的に体内より消失することが知られており、<sup>2, 18, 29)</sup> このような定速注入-低酸素血症実験時に認められた予想外に高い血漿中濃度の上昇は、低酸素血症と飽和のある消失のためのクリアランス低下といった二つの効果が相乗された結果と解釈される。この推測は低酸素血症動物にみられた血漿中濃度の個体差が、急速投与時よりも定速注入時の方が大きいという事実によっても支持される。すなわち、低酸素血症により引き起こされた血漿中濃度の上昇は、非線形性が現れるかどうかに関しての境界線上にあると考えられ、低酸素血症の効果に関



する個体差は、その後の非線形効果により増幅されていると考えられる。

静脈内急速投与実験の結果、 $CL_t$ 、 $CL_h$ 、 $CL_r$  に有意な低下が認められた。テオフィリンは腎尿細管で再吸収を受けるため、 $CL_r$  は尿流速に依存することがヒトで報告されている。<sup>30,31)</sup> 本節に示した実験結果によれば、テオフィリンのみかけの $CL_r$  は尿量と相関し (相関係数  $r = 0.676$ ,  $p < 0.05$ )、低酸素血症群の尿量は対照群の85%に低下しているものの、個体差が大きいためこの差は有意ではなかった。低酸素血症は、尿量を減少させると同時に、クリアランスを低下させ、血漿中テオフィリン濃度を相対的に高い状態に長時間保つことによりテオフィリンの利尿効果を高める、といった相反する作用のため腎排泄への影響は複雑である。しかしヒトの場合には、 $CL_r$  の $CL_t$  への寄与については以下に述べるようにほとんど考慮しなくても良いと考えられる。

テオフィリンは主に肝臓で代謝され、ヒトの場合には投与量の約10%が、<sup>2)</sup> またラットの場合には10-46%が<sup>22,18,32)</sup> 未変化体として尿中に排泄される。このことから、低酸素血症時には $CL_h$  と $CL_r$  両方の低下が認められるものの、臨床 $CL_h$  の低下がより重要である。また代謝物の腎クリアランスはそれらの生成クリアランスよりも大きく、<sup>33)</sup> 尿中排泄された代謝物の量と未変化テオフィリンの量の比は、テオフィリンの代謝クリアランスと腎クリアランスとの比を表すといえる。この比は、低酸素ガス処理により低下している (Fig. 4) ことから、腎クリアランスの低下よりも代謝クリアランスの低下の寄与が大きいと考えられる。ヒトでの研究においても、喘息発作時には尿中代謝物の割合が減少するといった同様の傾向が報告されている。<sup>34)</sup>

テオフィリンはラットにおいては肝ミクロゾームの酸化的代謝酵素により、3位の脱メチル化と8位の水酸化を受け、<sup>35)</sup> さらにヒトでは1位の脱メチル化も受ける。<sup>2)</sup> これらの反応はヒトにおいて異なったチトクローム P-450アイソザイムにより行われ、<sup>36)</sup> 併用薬あるいは喫煙のこれらアイソザイムへの影響の程度に相違のあることが報告されている。<sup>37,38)</sup> ヒトの肝ミクロゾームを用いた実験では1-脱メチル化、3-脱メチル化、8-水酸化の $K_m$ 値はほとんど同じであるが、8-水酸化の $V_{max}$ 値は1-あるいは3-脱メチル化のその約5倍である。<sup>36)</sup> このことからラットの場合においても、3-脱メチル化と8-水酸化に対する低酸素血症の影響の程度に違いがある可能性も考えられるが、1-MUと1,3-DMUの尿中回収量は同程度に低下しており (Fig. 4)、二種の代謝系に対する影響には顕著な相違は認められなかった。その理由としてTeunissenらの報告にみられる

ように、<sup>18, 32)</sup>ラットにおいてはこれらの代謝物は互いに依存的に生成されているか、あるいは同じ代謝系で生成されていることが考えられる。また本実験モデルにおける低酸素血症は比較的軽度であるために( $\text{PaO}_2 \sim 35 \text{ mmHg}$ )、両代謝系がともに強く制限されていることも原因と考えられる。イヌを用いた比較的穏和な低酸素血症の実験では( $\text{PaO}_2 48.5 \pm 0.3 \text{ mmHg}$ )、テオフィリンの体内動態にその影響はみられないと報告されている。<sup>16)</sup>ラットを用いた実験では、ヘキソバルビタールの代謝速度は $\text{PaO}_2$ が $45 \text{ mmHg}$ 以下で急激に低下することが報告されており、<sup>14)</sup>テオフィリンの代謝速度もまたこの $\text{PaO}_2$ の値を境界に急激に低下するのかもしれない。しかし、ウサギを用いた中等度の低酸素血症(平均 $\text{PaO}_2 55 \text{ mmHg}$ )において、<sup>26)</sup>テオフィリンの腎外クリアランスは有意に低下するとの報告もある。またCummingら<sup>39)</sup>は、 $\text{PaO}_2$ が $55 \text{ mmHg}$ 以下の肺疾患患者におけるアンチピリンの平均半減期は、 $\text{PaCO}_2$ が $55 \text{ mmHg}$ より大きな患者の半減期よりも長くなることを報告している。Cusackら<sup>24)</sup>はCOPD患者において酸素療法前の $\text{PaO}_2$ とテオフィリンクリアランスとの間に相関があることを報告しており、同様な $\text{PaO}_2$ とクリアランスとの関係がVozehらの症例報告にも見受けられる。<sup>3)</sup>一方、酸素療法中では $\text{PaO}_2$ の上昇はテオフィリンクリアランスの増大にはつながらないと臨床報告されている。<sup>24, 25)</sup>このような相反する結果は、テオフィリンの生体内変化に関与するアイソザイムの相違といった種差に起因するとも考えられる。さらに慢性低酸素血症の薬物代謝への影響は、急性低酸素血症時の場合とは異なることが知られており、<sup>13)</sup>慢性低酸素血症によるテオフィリン代謝の障害は、酸素の供給によっても回復しないことが推察されている。<sup>24)</sup>臨床の症例では種々の要因が複雑に絡み合っており、本研究で行ったような実験的動物モデルは、テオフィリンによる過治療と副作用を引き起こす危険因子について明確にするための有用な手段となり得る。

以上、本節で得られた動物モデルの結果をヒトに適用することができるならテオフィリンクリアランスは急性低酸素血症の $\text{PaO}_2$ に関連して変化し、低酸素血症は換気障害患者の急性期にみられる、テオフィリン体内動態の迅速かつ大きな個体内変動を説明するのに十分な因子の一つとなると考える。

## 第2節 ロイコトリエンC<sub>4</sub>誘発喘息発作の体内動態への影響

前節では、急性時の個体内変動の原因の一つとして低酸素血症を考え、急性低酸素血症モデルラットを用いた検討の結果、PaO<sub>2</sub>に関連してテオフィリンの代謝速度が変化する可能性を示した。しかし、患者において報告された個体内変動はPaO<sub>2</sub>の影響だけでは十分説明できない。例えば、血液ガス分析値と体内動態パラメータとの関係では、PaO<sub>2</sub>ではなくPaCO<sub>2</sub>がテオフィリンのクリアランスと逆相関することや動脈血pHがテオフィリン分布容積と逆相関することが報告されている。<sup>5, 24, 25, 48)</sup>ところが、これらの機構については未だ十分に明らかにされていない。そこで臨床での病態をより反映するモデルとして動物に喘息発作を誘発し、その時のテオフィリンの体内動態について検討した。

ロイコトリエンC<sub>4</sub>(LTC<sub>4</sub>)と、その代謝物であるロイコトリエンD<sub>4</sub>、E<sub>4</sub>(LTD<sub>4</sub>、LTE<sub>4</sub>)は、以前は“slow reacting substance of anaphylaxis, SRS-A”とも呼ばれ、気管支喘息を含む即時性過敏反応の病態に関与する化学伝達物質として知られている。<sup>41-43)</sup>LTD<sub>4</sub>やLTE<sub>4</sub>と同様、LTC<sub>4</sub>の投与は喘息発作と同様の状態をつくりだすとされており、<sup>43)</sup>喘息治療薬の開発時の薬理的探求の際にしばしば用いられている。<sup>44, 45)</sup>LTC<sub>4</sub>誘発による病態時の薬物体内動態に関する研究は現在までのところ行われておらず、また、LTC<sub>4</sub>の作用には種差があり、気管支の収縮はヒト、モルモット、サルでのみ起こるとされている。そこで本節では、モルモットを用いて、LTC<sub>4</sub>誘発による病態生理学的変化がテオフィリン体内動態に及ぼす影響について検討し、また呼吸器疾患の急性時の患者におけるテオフィリン体内動態の個体内変動への寄与について考察した。

### 2-a ロイコトリエンC<sub>4</sub>による気管支収縮の誘発

動物はHartley系雄性モルモット(260-390 g)をウレタン軽麻酔下で(0.3 g/kg i.p.)用いた。Fig.6 に、テオフィリンとアンチピリンを前投与した後LTC<sub>4</sub> 5μg/kgを静脈内に急速投与した直後の典型的な呼吸曲線を示した。LTC<sub>4</sub>投与後呼吸数は若干増大するが、その後呼吸がほとんど停止することが観察された。回復後も呼吸機能は損なわれ、吸期時間に対する呼期時間の比率はLTC<sub>4</sub>処理前の120~150%に増大した。このような喘息発作時に特徴的な呼期の延長は、そ

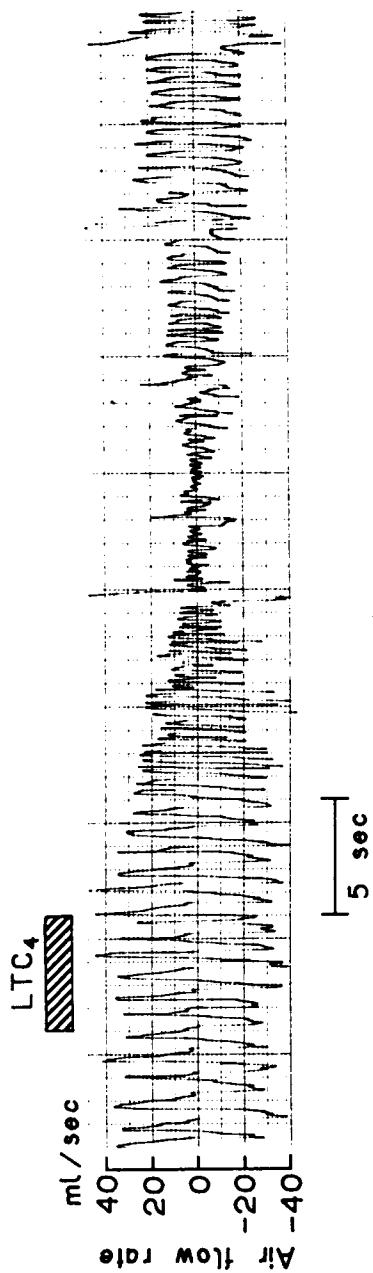


Fig.6 Typical example of the airflow curve immediately after an i.v. injection of 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  LTC<sub>4</sub> into a lightly anesthetized guinea pig in the presence of theophylline and antipyrine. Leukotriene C<sub>4</sub> was injected 1 hr after the simultaneous i.v. administration of 5 mg/kg theophylline and 12.5 mg/kg antipyrine.

の後約90分間にわたって観察された。ここでのLTC<sub>4</sub>の投与量は、あらかじめモルモットを用いた気管支収縮作用を目安に決定したが、喘息発作時の患者で報告されている血中LTC<sub>4</sub>濃度 (73.8±18.2 ng/ml)<sup>44)</sup>と比較して、妥当な投与量であると考えられる。

## 2-b ロイコトリエンC<sub>4</sub>による病態生理学的変化

Fig.7 にヘマトクリット値(Hct)、ヘモグロビン(Hb)濃度、動脈血pH、動脈血酸素ガス、炭酸ガス分圧(PaO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>)の変化を示した。処理群において、LTC<sub>4</sub>静脈内投与30分後の血液中Hb濃度は 13.4 ± 0.6 g%(n=6)であり、対照群の 10.4 ± 0.4 g%(n=7)に比べ有意に増加した(p<0.01)。Hct は対照群の37.8 ± 1.1%から処理群の 50.3 ± 1.8 %へと有意に増加した(p<0.001)。動脈血pHは対照群7.450 ± 0.016に対し処理群7.173 ± 0.075であり有意に(p<0.01)アシドーシスとなっていた。PaCO<sub>2</sub>は処理群でやや減少傾向を示し、PaO<sub>2</sub>に関しては両群で変化はなかった。Hb濃度、Hct、pHの変化はLTC<sub>4</sub>処理4.5時間後でも認められるものの、対照群の値に近づく傾向が認められた。

## 2-c 体内動態解析

動物にテオフィリンとアンチピリンを前投与した状態で、LTC<sub>4</sub>を投与することにより喘息を誘発した際の血漿中濃度曲線への影響を観察した。アミノフィリン(テオフィリンとして 5 mg/kg)とアンチピリン(12.5 mg/kg)を同時に静脈カテーテルより急速投与した。アンチピリンはテオフィリンと同じ肝の薬物代謝系により代謝を受けるが、その蛋白結合率はテオフィリンと相違のあることが知られているためテオフィリン体内動態の対照物質として投与した。また、実験に用いた濃度範囲において、これら両薬物投与時の体内動態は個別投与時の場合と相違のないことが報告されている。<sup>32)</sup>

また、モルモットではテオフィリンの血液と組織間の分布平衡は、静脈内急速投与後60分以内に達することから、<sup>46)</sup>テオフィリン投与60分後にLTC<sub>4</sub> 5 μg/kgを静脈カテーテルより約5秒かけて投与した。

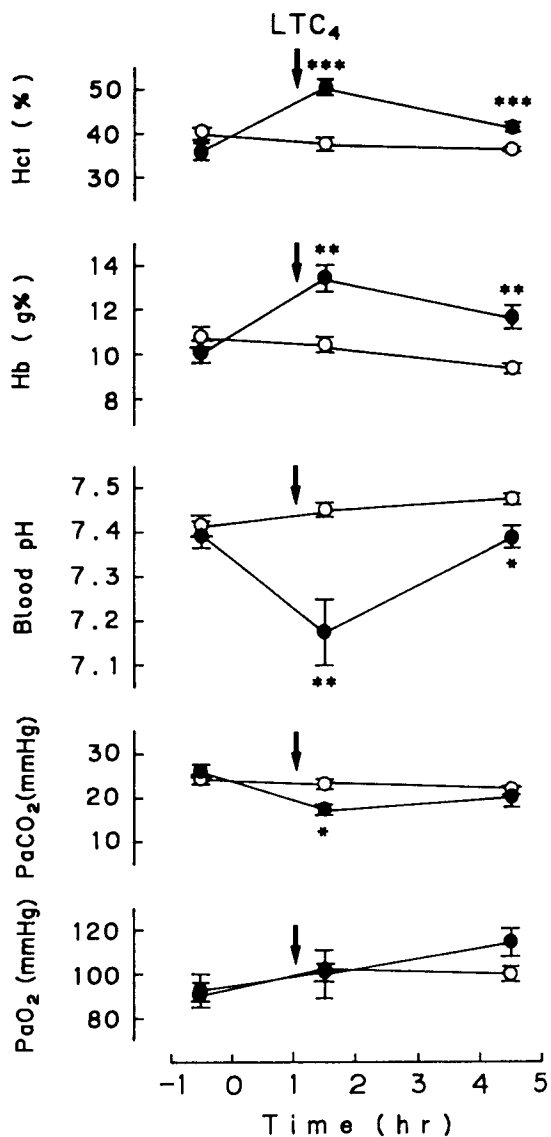


Fig.7 Hematocrit, blood Hb concentration, blood p PaCO<sub>2</sub> and PaO<sub>2</sub> in control (o, n=7) and treated (●, n= guinea pigs. The treated animals were given 5 µg/kg LT 1 hr after theophylline and antipyrene administratio Results are means ± S.E. Significantly different fr values in the control group, \*p<0.05, \*\*p<0.0 \*\*\*p<0.001.

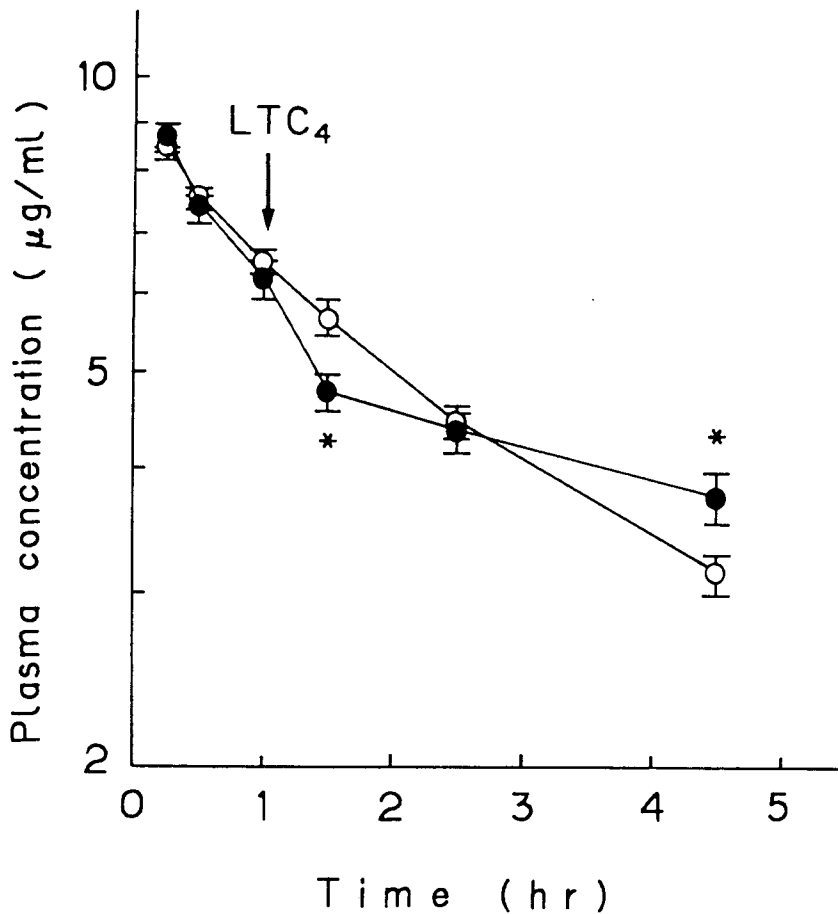


Fig.8 Plasma concentration profiles of theophylline in control (o, n=7) and treated (●, n=6) guinea pigs after i.v. bolus injections of 5 mg/kg theophylline. The treated animals were given 5 µg/kg LTC<sub>4</sub> 1 hr after the injection of theophylline. Results are means ± S.E. significantly different from concentrations in the control group, \*p<0.05.

Fig.8 にテオフィリンを静脈内急速投与後の血漿中濃度-時間曲線に及ぼす LTC<sub>4</sub>の影響を示した。LTC<sub>4</sub>投与前のテオフィリン血漿中濃度に関しては、両群で有意差は認められないが、LTC<sub>4</sub>投与30分後の血漿中濃度は 4.78 ± 0.21 µg

/ml(n=6)であり、対照群の $5.71 \pm 0.22 \mu\text{g/ml}$ (n=7)に比べ有意に低下した( $p < 0.05$ )。Table 2に示すように、LTC<sub>4</sub>処理後のテオフィリン血漿中濃度曲線の傾き(Slope)は対照群の半分以下となり、投与後4.5時間の血漿中濃度は対照群に比べ有意に高かった( $p < 0.05$ )。

Table 2 Slope of the terminal log-linear portion of theophylline and antipyrine plasma concentration profiles, plasma protein binding of the drugs, and concentration of total serum protein 30 min after LTC<sub>4</sub> injection in guinea pigs

|                                    | Control<br>(n=7) | LTC <sub>4</sub> -treatment<br>(n=6) |
|------------------------------------|------------------|--------------------------------------|
| Slope (hr <sup>-1</sup> )          |                  |                                      |
| Theophylline                       | 0.197 ± 0.010    | 0.0805 ± 0.0199 <sup>***</sup>       |
| Antipyrine                         | 0.439 ± 0.028    | 0.291 ± 0.020 <sup>**</sup>          |
| f <sub>u</sub> (%) <sup>a)</sup>   |                  |                                      |
| Theophylline                       | 58.2 ± 4.4       | 94.4 ± 3.3 <sup>***</sup>            |
| Antipyrine                         | 92.1 ± 0.9       | 94.9 ± 3.0                           |
| Serum protein (g/dl) <sup>a)</sup> | 5.09 ± 0.19      | 4.31 ± 0.16 <sup>*</sup>             |

a) Four repetitions for the determination of plasma unbound fraction (f<sub>u</sub>) and serum protein concentration. Results are means ± S.E. Significantly different from the values of the control group, \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001.



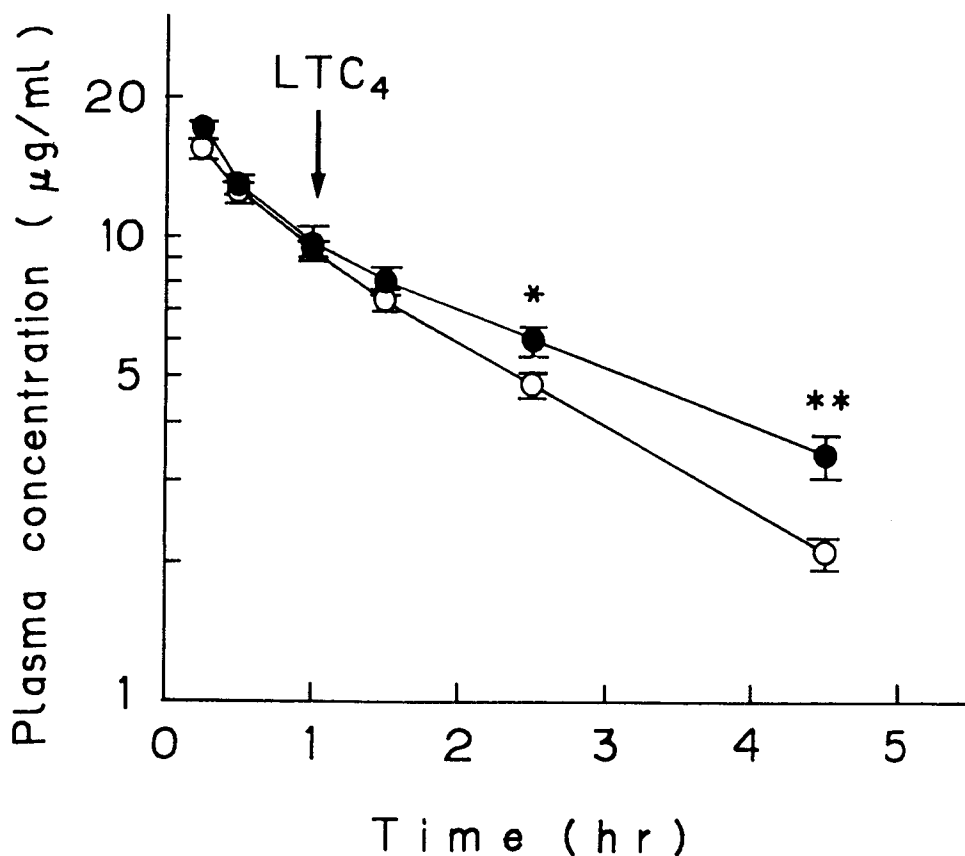


Fig.9 Plasma concentration profiles of antipyrine in control (o, n=7) and treated (●, n=6) guinea pigs after i.v. bolus injections of 12.5 mg/kg antipyrine.

The treated animals were given 5 µg/kg LTC<sub>4</sub> 1 hr after the injection of antipyrine. Results are means ± S.E. Significantly different from concentrations in the control group, \*p<0.05, \*\*p<0.01.

Fig.9 にテオフィリンと同時に投与したアンチピリンの血漿中濃度-時間曲線を示した。アンチピリンの場合には、テオフィリンの場合とは異なりLTC<sub>4</sub>投与30分後における処理群での有意な血漿中濃度の低下は認められなかったが、血漿中濃度曲線の傾きは対照群に比べ処理群で有意に低下した(Table 2)。処

理群でみられた消失の遅延の結果、投与後2.5、4.5時間のアンチピリンの血漿中濃度は、対照群と比較して有意に高くなった(2.5時間において、 $5.96 \pm 0.46 \mu\text{g/ml}$ と $4.79 \pm 0.27 \mu\text{g/ml}$ 、4.5時間において、 $3.40 \pm 0.36 \mu\text{g/ml}$ と $2.11 \pm 0.16 \mu\text{g/ml}$ )。

Table 2に LTC<sub>4</sub>処理30分後のテオフィリンとアンチピリンの血漿中非結合型分率(fu)並びに血清中蛋白総濃度を示した。テオフィリンのfuはLTC<sub>4</sub>処理により有意な増大を示すものの(p<0.001)、アンチピリンの場合には影響を受けなかった。血清中総蛋白濃度はLTC<sub>4</sub>処理により有意に低下した(p<0.05)。またin vitro 蛋白結合実験によると、対照群の fuは $42.2 \pm 1.4\%$  (n=3)であったのに対し、LTC<sub>4</sub>を添加した群では  $43.9 \pm 2.6\%$ (n=3)であり、血漿蛋白へのテオフィリンの結合に対してLTC<sub>4</sub>は直接的作用を持たないことを確認した。

## 2-d 考察

LTC<sub>4</sub>は気管支収縮、血管透過性の亢進、血管収縮あるいは血管透過性亢進に基づく二次的な心機能の低下といった種々の生理学的作用を示す。<sup>41)</sup> モルモットにおいて、ロイコトリエンは直接的にあるいはシクロオキシゲナーゼ産物を介して間接的に気管支収縮を引き起こすことが知られている。<sup>47)</sup> 本実験結果によると、Fig.6に示すように LTC<sub>4</sub> 5 $\mu\text{g/kg}$ 急速投与は適度の気管支収縮をもたらした。またFig.7に示すように、LTC<sub>4</sub>の投与30分後にはHb濃度及びHctの著しい上昇が認められ、血漿成分の漏出が起こっていることが示唆された。<sup>41,48,49)</sup> 血液ガス分析結果によると、LTC<sub>4</sub>投与30分後、PaCO<sub>2</sub>はやや減少しているにもかかわらずpHが7.17となったことから、代謝性アシドーシスが起きていることが示唆された。こうした効果はモルモットを用いてLTD<sub>4</sub>を投与した際にも観察されている。<sup>50)</sup> また、このような代謝性アシドーシスは重症の喘息発作時において28~38%の患者にみられることが報告されている。<sup>51,52)</sup> サルあるいはモルモットを用いた研究では、PaO<sub>2</sub>はロイコトリエン類を静脈内投与5分後には低下するが、その後正常値に戻る傾向のあることが報告されている。<sup>48,50)</sup> 今回作製した実験的喘息モデルにおいては、LTC<sub>4</sub>処理後、30~210分にわたり低酸素血症は認められず、このモデル系においては前節で取り扱った低酸素血症のテオフィリン体内動態への影響について考慮する必要はないと

考えられる。

LTC<sub>4</sub>のテオフィリン体内動態への影響に関して最も注目すべき点は、LTC<sub>4</sub>の静脈内投与30分後にテオフィリンの血漿中濃度が急激に減少し、続いて循環血液からの消失が対照群に比べ遅延していることである(Fig.8)。一方、アンチピリンの場合は、消失の遅延は認められるもののやや緩やかであった(Fig.9)。テオフィリンのfuはLTC<sub>4</sub>処理により有意な増大を示したが、アンチピリンでは、正常時においても蛋白結合率が低いことからLTC<sub>4</sub>処理の影響は受けなかった(Table 2)。健常成人でのテオフィリンの蛋白結合率はpH7.4において37.6 ± 4.5%であり、<sup>53)</sup> この値は対照群のモルモットで得られた値とほぼ同じであった。

テオフィリンの蛋白結合率は、実験で用いた濃度域ではテオフィリン濃度には依存しないが、一般にアルブミン濃度やアルブミン-薬物結合体の解離定数と関連がある。<sup>53-55)</sup> テオフィリンのpKaは8.77であり、アニオン型の方が非イオン型よりも蛋白結合力が強いことを考慮すると、pHが7.450から7.173に変化したことにより蛋白非結合型分率が増大すると推察される。<sup>53,56-58)</sup> しかし実験で得られたfuの大きな増大は、こうした血液pHの変化だけでは十分説明できない。例えば、ウサギに0.3規定の塩酸を投与することにより作製した代謝性アシドーシスはテオフィリンの体内動態に影響を与えないことが報告されている。<sup>26)</sup> テオフィリンの蛋白結合率を変化させる因子としては、他に血管透過性の亢進によりもたらされた血清蛋白濃度の変化が考えられる(Table 2)。モルモットにおける血清全蛋白濃度の正常値は、4.80-5.94 g/dlであり、そのうちの54.5%をアルブミンが占める。<sup>59)</sup> 対照群での血清蛋白濃度はこの正常範囲内にあるが、LTC<sub>4</sub>処理群では4.31 ± 0.19 g/dl(n=4)に減少していた。血清中総蛋白のうち、グロブリンは分子量が大きいため減少することは希であり、こうした変化はアルブミン濃度の減少を示唆するものである。臨床的にも、血清中アルブミン濃度の低下に関連してテオフィリンのfuが増加することが急性増悪患者あるいは妊産婦において報告されている。<sup>23,60)</sup> テオフィリンの血清蛋白への結合の性質がヒトとモルモット間で類似していると仮定した場合、本節で認められたモルモットにおける結果から、血中のLTC<sub>4</sub>濃度が上昇した患者の場合にもテオフィリンのfuが上昇していることが考えられる。

テオフィリンのfuの増加は分布容積の増大につながり、その結果としてテオフィリンの血漿中総濃度を低下させることになる。血漿と組織間に分布の平衡

が成立すると仮定すると、血漿中薬物濃度( $C_p$ )は体内にある全薬物量( $Ab$ )と分布容積( $V_d$ )を用いて、 $C_p = Ab/V_d$ 、と表される。<sup>21)</sup> LTC<sub>4</sub>のこのような効果が瞬時に起こりしかも一定の効果を保つと仮定すれば、テオフィリン投与後 1時間での測定血漿中濃度 ( $C_{p1}$ : LTC<sub>4</sub>投与直前の濃度)と最後の対数線形を示す部分のデータを 1時間に外挿した値 ( $C_{p1,extrap}$ : LTC<sub>4</sub>投与直後の濃度)とを比較することにより、 $V_d$ の見かけの変化率は次式により推定可能となる。

$$\Delta V_d/V_d = (C_{p1} - C_{p1,extrap})/C_{p1,extrap} \quad (\text{eq. 6})$$

ここで、 $\Delta V_d/V_d$ はLTC<sub>4</sub>処理による $V_d$ の見かけの変化率を示し、実験の結果、 $26.1 \pm 5.6\%$ ( $n=7$ )の増加を示した。一方、対照群では、 $5.1 \pm 2.1\%$ と算出された。

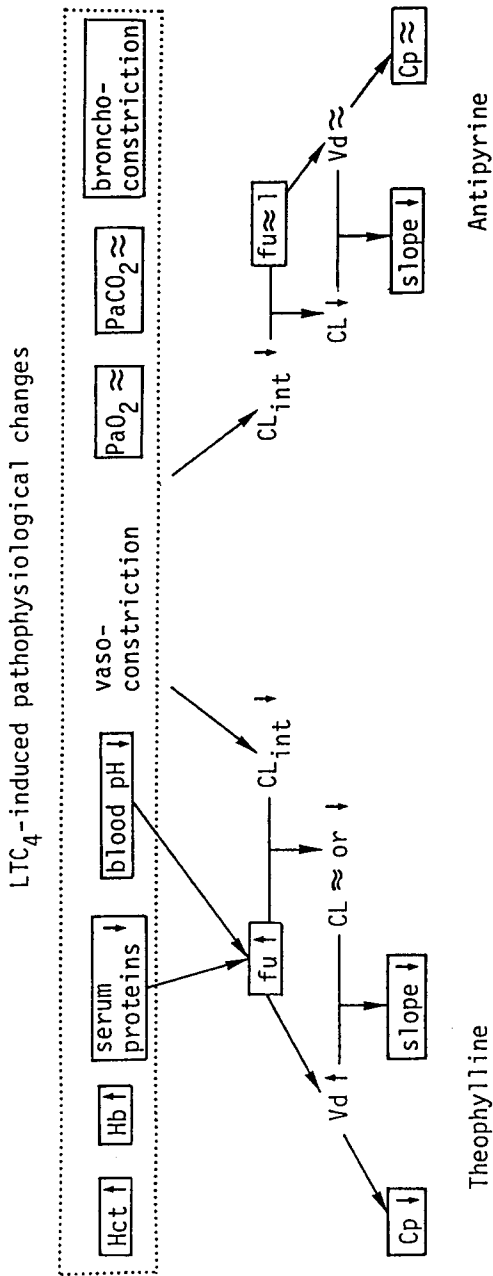
対照群の動物におけるテオフィリンの体内動態パラメータを1-compartment model<sup>21)</sup>に基づき計算すると、全身クリアランス(CL)は  $133 \pm 8$  ml/hr/kg、 $V_d$ は  $0.610 \pm 0.018$  L/kgとなり、 $V_d$ は健康人における値にほぼ同じであったが、CLはヒトの場合の約 2倍の値となった。<sup>2)</sup> AUC、CLを正確に評価するためには、通常薬物の半減期の2~3倍の時間範囲での採血を必要とする。しかし、LTC<sub>4</sub>の効果は可逆的でCLを計算するのに十分長時間の持続は期待できない。このため本実験ではLTC<sub>4</sub>前処理により体内動態パラメータを求めず、静脈内急速投与後の血漿濃度推移における不連続的な変化に注目することを目的とした。なお、LTC<sub>4</sub>処理群における見かけの薬物動態パラメータを対照群の $V_d$ 、個々の動物の $\Delta V_d/V_d$ 、Table 2に示したSlopeを用いて求めることが可能であるならば、 $V_d$ は $0.769 \pm 0.034$  L/kg、CLは $59.6 \pm 13.6$  ml/kg/hrと算出できる。

テオフィリンやアンチピリン等の肝での抽出比の小さい薬物では、 $f_u$ が増加し、肝固有クリアランス( $CL_{int}$ )に変化がない場合、CLは $f_u$ に比例して増大する。さらに、これらの薬物においては分布容積も同様に増大を示すので、その比として求められる消失速度定数( $CL/V_d$ )はほとんど影響を受けないことになる。しかし本節における結果からは、Table 2に示すようにテオフィリンとアンチピリンのSlopeは LTC<sub>4</sub>処理により有意に低下した。ロイコトリエン類は虚血やショックに関連した障害を起こす化学伝達物質としても知られており、<sup>61)</sup> Fig.7に示した結果はショックあるいは循環不全の状態と一致するものであった。テオフィリンやアンチピリンは肝での抽出比がともに小さいため肝血流の変化の影響を受けにくいものの、ショックや循環不全は肝のうっ血や低灌流をもたらすため、二次的に肝細胞の障害を引き起こし肝の代謝活性を低下させ

ること<sup>3)</sup>が考えられる。すなわち、Slope の低下はショックあるいは循環不全の結果として、 $CL_{int}$  が低下したことを示唆する。代謝クリアランスが障害を受けているという仮説は、アンチピリンのCLが $f_u$ の変化しないにもかかわらず、 $LTC_4$ 処理により同様に低下していることから支持される。 $LTC_4$ 処理により、 $f_u$ の増大と  $CL_{int}$ の低下といった、CLに対して相反して作用する因子が働いた結果、テオフィリンの場合には CLが低下したものと考えられ、 $LTC_4$ 処理3.5時間後に認められたテオフィリン血漿中濃度の上昇が説明できる。

以上、 $LTC_4$ が誘発した病態生理学的変化とテオフィリン並びにアンチピリンの体内動態への影響について検討し、その結果をFig. 10に示した。ここに示した仮想機序は、臨床上報告されているテオフィリンVdと動脈血pHが逆相関するという関係<sup>5, 24)</sup>もまた説明しており、動脈血pHと Vdの変化は共に $LTC_4$ の反応の結果でもあることが示された。

これら動物モデル実験の結果をヒトに適用できるならば、 $LTC_4$ の反応に関連した病態生理学的変化は、呼吸器疾患の急性増悪患者におけるテオフィリン体内動態の個体内変動因子となり得ることが示された。小児喘息発作時のテオフィリン体内動態を検討した研究では、喘息発作時には非発作時に比較し分布容積、半減期は増大し、クリアランスは低下する、といった本節で得られた結果と同様の結果が報告されており、<sup>62)</sup> 変動の機序の一つとして、 $LTC_4$ を介した作用が考えられる。臨床的には急性の喘息発作時には、従来いわれてきているよりも初回負荷量は多くし、維持量は少なくするという投与法が望まれることが示唆された。さらに、患者における変動因子を解明するために、血漿中の非結合型テオフィリン濃度や血液ガス測定値をはじめとした臨床検査値を指標としてモニターすることが重要であることが示された。



**Fig.10** A proposed mechanism for the effects of LTC<sub>4</sub> on the pharmacokinetics of theophylline and antipyrine. The factors observed in this experiment are depicted in solid frames. The up and down arrows reveal increases and decreases, respectively, and the approximately equal sign ( $\approx$ ) indicates the factor is nearly unchanged. Cp represents plasma concentration 30 min after LTC<sub>4</sub> injection.

## 第II章 臨床データを用いた体内動態解析

前章では、テオフィリン体内動態の変動要因を明らかにする目的で、病態モデル動物を用いた検討を行った。急性低酸素血症モデル動物では、血液酸素ガス分圧の変化に伴い、迅速なテオフィリンクリアランスの変化が認められることを示した。また、LTC<sub>4</sub>誘発喘息モデル動物においては、血液pH、ヘマトクリット、ヘモグロビンあるいは血清アルブミン濃度の変化等のLTC<sub>4</sub>を介した病態生理学的変化が認められ、これらの要因がテオフィリンの分布並びに消失過程に影響することを示した。

一方、患者におけるテオフィリン動態の把握のためには、実際の臨床データの解析が不可欠であると考え、本章ではカリフォルニア大学の Sheinerらにより臨床領域に導入されたpopulation pharmacokineticsの手法<sup>63-65)</sup>を用いた解析を行った。Population pharmacokineticsとは各患者の動態を個別に解析することなく患者集団としての薬物動態特性を扱う方法論であり、平均的な薬物動態値とそれに影響を及ぼす諸要因の寄与、並びに個体間変動と個体内変動を定量的に評価するものである。薬物動態に影響を及ぼす諸要因としては、動物実験で明らかとなった臨床検査値について考慮し、これらが実際にテオフィリン体内動態の変動の指標となり得るかどうかが検討した。

### 第1節 喘息発作時の小児患者における体内動態解析

テオフィリンの静脈内持続投与は、小児、成人を問わず喘息発作をはじめとした急性の呼吸器障害時の治療に必須とされている。しかし、こうした急性悪化時の個体内変動は、病状の安定した慢性時に比較し大きいことが報告されており、テオフィリン治療をさらに困難なものとしている。<sup>66)</sup> また、現状ではこのような大きな個体内変動について明確な説明はなされていない。本節での目的は、まず第一に、こうした喘息発作時の小児患者におけるテオフィリン体内動態の個体間変動と個体内変動を定量的に分離評価することであり、第二に、動物実験で明らかにした要因が臨床における変動要因となり得るか否か検討す

**Table 3 Description of patient data used in the population analysis of theophylline kinetics in the acute episode**

---

|   |               |               |
|---|---------------|---------------|
| Number of patients                              |               | 66            |
| Number of females                               |               | 33            |
| Number of patients with hepatic dysfunction     |               | 5             |
| Age (years)                                     | 8.7 ± 4.7     | (0.25-18.3)   |
| Weight (kg)                                     | 26.0 ± 12.8   | (4.7-63.0)    |
|   |               |               |
| Total number of measurements                    |               | 112           |
| Number of patients with 1 measurement           |               | 39            |
| Number of patients with 2 measurements          |               | 16            |
| Number of patients with 3 measurements          |               | 5             |
| Number of patients with 4 measurements          |               | 4             |
| Number of patients with 5 measurements          |               | 2             |
|   |               |               |
| Sampling time after start of infusion (days)    | 3.1 ± 3.1     | (0.3- 20)     |
| Aminophylline infusion rate (mg/hr/kg)          | 1.035 ± 0.174 | (0.625-1.70)  |
| Theophylline concentration in the serum (µg/ml) | 13.9 ± 4.8    | (5.2-29.1)    |
|   |               |               |
| Number of blood gas analyses                    | 12            | (11 Patients) |
| PaO <sub>2</sub> (mmHg)                         | 66.6 ± 13.9   | (52.7-96.0)   |
| PaCO <sub>2</sub> (mmHg)                        | 37.8 ± 8.1    | (27.3-50.0)   |
| Blood pH  | 7.415 ± 0.061 | (7.294-7.470) |
|   |               |               |
| Number of clinical analyses                     | 77            | (62 Patients) |
| Total protein (g/100 ml)                        | 7.5 ± 0.7     | (5.2-8.9)     |
| Albumin (g/100 ml)                              | 4.6 ± 0.4     | (3.3-5.4)     |
| Hemoglobin (g/100 ml)                           | 13.4 ± 1.6    | (8.5-16.6)    |
| Hematocrit                                      | 40.2 ± 4.6    | (26.4-49.7)   |

---

Mean ± S.D. (minimum value - maximum value)



ることである。発作時においては、体内動態解析のための計画した実験を行うことは倫理的に不可能である。非線形混合効果モデルを用いたPopulation解析は、研究したい母集団の各患者については、採血点が1、2点といった少数の場合にも解析を可能とし、ルーチンで得られたデータの利用を可能にするという点で、最も適した方法論と考えられる。<sup>67)</sup>

### 1-a 患者データの特徴

1984年から1990年の間に京都大学医学部附属病院 ICUあるいは小児科に緊急入院となり、急性の閉塞性呼吸器障害の治療のためアミノフィリン静脈内定速注入の適用となった小児患者66名のデータを回顧的に収集した。64名の患者は気管支喘息の診断がされており、残りの2名は肺炎の診断がされていた。

Table 3 にこれらの患者背景を示した。グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)あるいはグルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)が、本院における年齢別正常値の上限から外れている患者が5名おり、これらは肝障害のある患者と判定した。66名の患者より血清中テオフィリン濃度測定112点が得られた。ほとんどの患者は入院前に経口テオフィリン製剤を服用しているか、あるいは静脈内定速注入直前に負荷量のアミノフィリンの静脈内投与を受けていた。採血の多くは静脈内定速注入開始後、あるいは注入速度の変更後24時間以上経過した時点に行っており、各測定点は定速注入下における定常状態の血中濃度とみなした。採血は定速注入開始後6.5時間~20日の間で行われており、アミノフィリン(ネオフィリン、エーザイ)の平均注入速度は $1.035 \pm 0.174$  mg/hr/kgであり、輸液(成分:  $\text{Na}^+$  35 mEq/L,  $\text{Cl}^-$  35 mEq/L,  $\text{K}^+$  20 mEq/L, lactate 20 mEq/L, glucose 4.3%, 注入速度 50~100 ml/hr)と共に投与された。血清中テオフィリン濃度の測定値が高値を示す患者では、その後、注入速度の減少が行われている。Fig.11は解析に用いた全ての血清テオフィリン濃度を注入開始後の経過日数に対してプロットし、同一患者間の測定値間を実線で結んだものである。全測定点の平均血清中テオフィリン濃度は $13.9 \pm 4.8$   $\mu\text{g/ml}$ であった。さらに、血清中テオフィリン濃度の測定と同一日に動脈血ガス分析が行われている場合にはその検査値を利用した。11名の患者より12点の血液ガス分析値が得られた。また臨床生化学検査値については、検査が血

清中テオフィリン濃度の測定の 2日以内に行われている場合にのみその値を用いることとし、62名の患者より77点の検査値が得られた。

血清中テオフィリン濃度の測定は、fluorescence polarization immunoassay (FPIA法、TDx、Abbott) あるいは substrate-labelled fluorescence immunoassay (SLFIA法、OPTIMATE、Miles) により行なった。両法での測定限界は $1\mu\text{g/ml}$ 以下であり、測定内・測定間変動の分散は 5%以下であった。また両法の測定間には系統的な相違のないことを確認した。

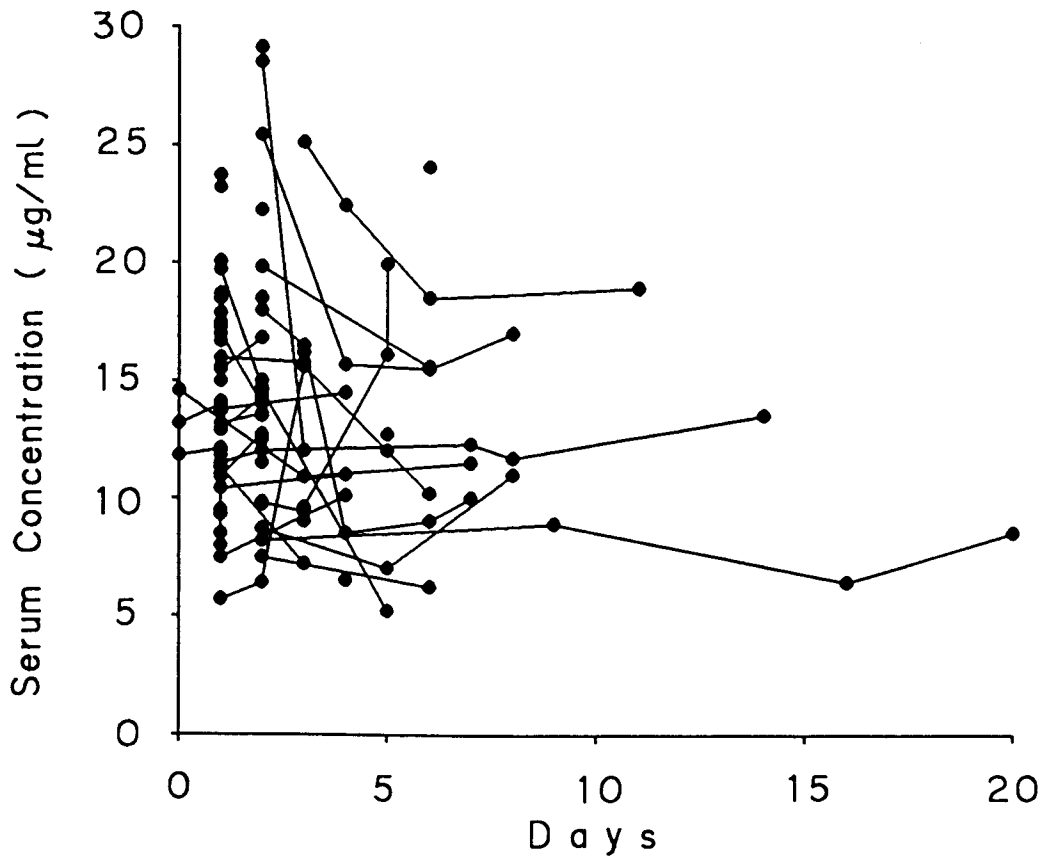


Fig.11 Serum concentrations of theophylline during constant-rate intravenous infusion in 66 asthmatic children.

## 1-b 解析法

各々の測定点におけるテオフィリンの全身クリアランス(CL, L/hr/kg)は次式により計算した。

$$CL = Ro/Css \quad (\text{eq.7})$$

ここで、Ro はテオフィリン量で表した注入速度(mg/hr/kg)であり、Cssは定常状態の血清中テオフィリン濃度( $\mu\text{g/ml}$ )を表す。このモデルを用いて非線形混合効果モデル<sup>63,65)</sup>を用い、個体間・個体内変動を分離評価するとともに、病態生理学的効果がテオフィリンのCLに影響を与えるかどうかについて検討を加えた。計算はプログラムNONMEM<sup>64)</sup>を用い、富士通FACOM M-780により行った。

まず、データの統計的分布に関して適切な誤差分布を決定するための検討を行った。CLの個体間変動に関して、単純な絶対誤差モデルと相対誤差モデル間のあてはめの良さは同程度であったが、通常薬物速度論パラメータの分布は右に歪んでいることを考慮し、相対誤差モデルを仮定した。残差の個体内変動は、相対誤差モデルにおける対数尤度の-2倍(すなわち目的関数の値)は絶対誤差モデルの場合よりも17.882小さく、残差プロットもまた前者モデルの場合に偏りが小さかったため、個体内変動については絶対誤差モデルを選択した。以上の結果、j番目の患者のi番目の血中濃度( $Css_{i,j}$ )は次式で表される。

$$\widetilde{C}ss_{i,j} = Ro_{i,j} / CL_j \quad (\text{eq. 8})$$

$$CL_j = \widetilde{CL}_j \cdot (1 + \eta_j) \quad (\text{eq. 9})$$

$$C_{ss_{i,j}} = \widetilde{C}ss_{i,j} + \varepsilon_{i,j} \quad (\text{eq.10})$$

ここで、 $\widetilde{C}ss_{i,j}$ はj番目の患者における注入速度  $Ro_{i,j}$ と真の値 $CL_j$ から計算される平均的な値であり、 $C_{ss_{i,j}}$ は実測値を、 $\widetilde{CL}_j$ は要因効果モデルより予測される平均的クリアランス値を表わす。 $\eta$ は個体間変動を表わす変数で、その平均は零、分散は $\omega^2$ 、また $\varepsilon$ は個体内変動を表わす変数であり、平均は零、分散は $\sigma^2$ と仮定した。

病態生理学的因子とCLの量的関係について、NONMEM<sup>64)</sup>により計算される目的関数の最小値を用いた尤度比検定により検索した。66名全ての患者データを用いて肝障害、年齢、性別、入院後の日数の寄与について検討を加えた。さらに、血液ガスデータあるいは臨床生化学検査データの得られた患者集団を用いて、動脈血酸素ガス分圧( $\text{PaO}_2$ )、炭酸ガス分圧( $\text{PaCO}_2$ )、血液pH、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血清中総蛋白・アルブミン濃度のCLへの影響につ

いて検討を加えた(Table 3)。このとき各々の因子の寄与は次式に示す一般式で表されると仮定した。

$$\text{LNCL} = P_1 + P_2 \cdot \text{FC}(X) \quad (\text{eq.11})$$

$$\widetilde{\text{CL}}_j = \exp(\text{LNCL}) \quad (\text{eq.12})$$

ここで、 $P_1$ 、 $P_2$  は推定すべきパラメータであり、 $\text{FC}(X)$ は検定すべき因子の一つを表す。カテゴリー変数の場合、例えば患者に肝障害がある場合には、 $\text{FC}(\text{HF})=1$ とおき、それ以外の場合には $\text{FC}(\text{HF})=0$ とする。また、患者が男性の場合には $\text{FC}(\text{GEN})=1$ とし、女性の場合 $\text{FC}(\text{GEN})=0$ とした。連続変数の場合には  $\text{FC}(X)$  は年齢、入院後の日数、 $\text{PaO}_2$ 、 $\text{PaCO}_2$  等各々の測定値を直接代入した。各々の因子の統計的有意差の評価法としては、独立に 2種のモデル間の目的関数の値の差を用いることにより行った。すなわち、一方のモデルにおいては $P_2$ の値を自由に推定し、他方のモデルにおいては $P_2$ の値を零に固定して推定を行った。<sup>63,64)</sup> このことは、各因子についてその因子を基本モデルに加えることにより、あてはめ結果が改善されるかどうかを評価したことになる。多重回帰のため、<sup>68)</sup> 目的関数の値の差が7.879以上ならば、統計的に有意( $P<0.005$ )であると判断した。

### 1-c 結果と考察

前章での病態モデル動物を用いた検討により、クリアランスが血液酸素ガス分圧に関連し変化すること、 $\text{LTC}_4$ により誘発される血液pH、ヘマトクリット、ヘモグロビンあるいは血清アルブミン濃度の変化といった病態生理学的変化が、テオフィリンの分布並びに消失過程に影響を与えることが明らかとなった。したがって、これらは急性喘息発作時の患者におけるテオフィリン体内動態の変動因子となり得ることを示唆するものと考えられる。本節では、急性喘息発作時のテオフィリン体内動態について、回顧的に集めたアミノフィリン静脈内定速注入中の66名の小児喘息患者のデータを用いた検討を行った。

最初に、データ入手が比較的容易である年齢、性別、入院後の日数、肝疾患の有無といった生理学的因子がクリアランスに影響を与えるかどうかを検討し、仮説検定の結果を Table 4に示した。従来より肝硬変の患者においてはクリアランスが顕著に低下することが報告されているが、<sup>69,70)</sup> 本研究での急性喘息

**Table 4 Hypothesis testing for fixed effects on theophylline total body clearance**

| Effect            | -2 l.l.d. <sup>a)</sup> | p value |
|-------------------|-------------------------|---------|
| Hepatic function  | 16.88                   | p<0.001 |
| Age               | 0.346                   | n.s.    |
| Gender            | 0.107                   | n.s.    |
| Sampling day      | 1.518                   | n.s.    |
| PaO <sub>2</sub>  | 1.076                   | n.s.    |
| PaCO <sub>2</sub> | 0.076                   | n.s.    |
| Blood pH          | 0.013                   | n.s.    |
| Total protein     | 0.639                   | n.s.    |
| Albumin           | 1.950                   | n.s.    |
| Hemoglobin        | 3.065                   | n.s.    |
| Hematocrit        | 2.058                   | n.s.    |

a) -2 log likelihood difference between two models allowing the parameter of interest freely estimated versus fixed to a hypothesized value.

発作時の小児患者においても肝障害によりクリアランスが低下することが示された(Table 4)。肝障害患者での平均クリアランスは肝機能正常患者に比べ、35.7%低下していた(Table 5)。肝障害のある患者 5名の年齢は各々 0.3、0.3、4.7、12.8、18.3歳であり、年齢並びにその他の生理的因子に肝障害の有無で分類した両群間で有意差は認められず、ここで観察されたクリアランスの低下は肝障害に起因すると考えられる。この肝障害によるクリアランス低下は、次節で述べる成人の閉塞性呼吸器障害患者の安定期に観察されたものと同程度であった。通常、喘息発作の治療のため緊急入院した小児患者は1 mg/hr/kgのアミノフィリンの持続注入を受けることが多いが、本節での解析結果によると、

この投与速度は肝障害のある患者においてテオフィリンの治療濃度範囲を越えることが予測され、副作用の出現する可能性が示唆された。

Table 5 Final estimate of population pharmacokinetic parameters of theophylline during constant-rate intravenous infusion to children in the acute episode of asthma

| Parameters   | Estimate<br>(95 % CI <sup>a</sup> ) |
|--|-------------------------------------|
| CL (ml/hr/kg)  | 58.6<br>(54.3-63.0)                 |
| Decreasing factor in CL associated with hepatic dysfunction <sup>b</sup> ) | 0.357<br>(0.559-0.155)              |
| Inter-individual variability in CL (%)                                     | 25.9<br>(20.0-30.7)                 |
| Intra-individual variability in C <sub>ss</sub> (µg/ml)                    | 2.57<br>(1.86-3.13)                 |

a) 95 % confidence interval.

b) For patients with hepatic dysfunction,  
 $CL = 58.6 \times (1 - 0.357)$  ml/hr/kg.

クリアランス(L/h)と体重(kg)の関係については、次式に従い予備検討を行った。

$$CL = a \cdot (\text{体重})^b \quad (\text{eq. 13})$$

ここで、a、bは推定すべきパラメータである。べき指数 bは1.08と推定され、1.0に比較して有意差はなかった(目的関数の値は1.482増加するのみ)。したがって体重とクリアランス間には線形関係を仮定し、CLは L/hr/kgの単位で表した。Driscollら<sup>68)</sup>は、小児母集団においては年齢の方が体重よりもクリア

ランスの決定因子として重要であることを報告している。しかし、年齢と体重は強く相関しているため ( $r^2=0.842$ ,  $p<0.001$ )、本研究において体重を回帰に入れた後の解析では、さらに年齢のクリアランスへの影響を認めることはできなかったと考えられる (Table 4)。さらに男性でのクリアランスは女性よりも25%高いことが報告されているが、<sup>68)</sup> 本研究では統計的に有意な性差を見いだすことはできなかった。Kuboら<sup>11)</sup>は72時間の静脈内定速注入中の喘息の急性増悪期にある13名の小児でのクリアランスの個体内変動について報告し、24、48、72時間でのクリアランスは時間とともに増加することを報告している。そこで、入院後の日数、すなわち定速注入開始後の時間をクリアランスの変動因子として検討したが、有意な効果は認められなかった。

さらに、クリアランスと血液ガス分析値あるいは臨床生化学検査値との関係についても検討したが、クリアランスに対して統計的に有意な効果をもつ因子は認められなかった (Table 4)。ヘモグロビン濃度やヘマトクリットといった因子では、対数尤度の差が比較的大きくなっており (Table 4)、クリアランスの変動に対しなんらかの影響を与えると考えられるが、統計的には有意でなかった。このように有意差が認められなかった理由の一つには、急性時に得られたデータ (特に血液ガス分析値) が少なかったことが挙げられる他、血液ガス分析値は、酸素ガスの吸入や血液pHの補正といった緊急時の治療のため不安定な状態にあり、こうした急性時においてテオフィリン体内動態パラメータとの間に有意な相関を見いだすことは困難であると考えられる。次節で述べるように、安定した慢性閉塞性疾患患者のデータを用いた場合には、血液ガス分析値とクリアランス並びに分布容積との間に有意な相関を見いだすことが可能であった。

Population pharmacokinetic parametersの最終的な推定値をTable 5に示した。Eq.11における $P_1$ 、 $P_2$ 値はそれぞれ-2.84と-0.441となり、その結果CLの母集団平均値は58.6 ml/hr/kg、肝障害のある患者においては35.7%低下していることが示された。本研究で得られた平均クリアランスは、慢性喘息の小児を対象に報告された値と比較するとやや小さかった ( $94.2 \pm 22.2$  ml/hr/kg、4.0~11.9歳、<sup>71)</sup>  $73.8 \pm 18.9$  ml/hr/kg、5.0~11.9歳<sup>72)</sup>)。一方、Kuboらは<sup>11)</sup>急性喘息小児 (7.5  $\pm$  2.5歳)のクリアランスを、 $58.1 \pm 13.8$  ml/hr/kg (定速注入開始後24時間)と報告しており、本研究における結果と良く一致している。本院では、通常患者の喘息発作が完全に治まった場合、アミノフィリ

ンの持続注入から経口テオフィリン製剤への変更が行われる。本研究で用いた患者はいずれも持続注入中であり喘息発作時にあると推察できることから、喘息の急性発作時のテオフィリンクリアランスは安定した慢性状態よりも低下していることが示唆された。一方、テオフィリンは投与量依存性の体内動態を示すことが報告されている。<sup>73,74)</sup>本節で用いたデータ中にはテオフィリン血清濃度が20  $\mu\text{g/ml}$ 以上の10点が含まれているが、最終モデルにおけるパラメータ値を用いたときの残差プロットにはこうした血清中濃度の高い点においても偏りは見られず、テオフィリンは線形動態を示すと仮定した。

最終的なCLの個体間変動は25.9%(Table 5)であったが、肝障害の有無をモデルに組み込まない場合、この値は28.1%となった。血清中濃度の個体内変動は標準偏差として2.57  $\mu\text{g/ml}$ であり、平均血清中テオフィリン濃度に対する変動係数は18.5%となる。したがって小児急性喘息患者で得られたCLの個体間変動は、次章に述べる安定した成人閉塞性呼吸器障害患者で得られた値と同等であるものの、個体内変動はそうした患者集団の場合の約2倍となっていることが明らかとなった。Mooreら<sup>75)</sup>は新生児と乳児におけるテオフィリンの population pharmacokineticsを検討し、CLの個体間変動は変動係数として16%であり、残差誤差は標準偏差として1.24  $\mu\text{g/ml}$ であることを報告している。この個体内変動値と比較しても本研究での個体内変動は約2倍の値を示している。血清中テオフィリン濃度の測定精度は5%以下であることから、この大きな個体内変動は急性発作時の病状に関連したテオフィリン体内動態の日ごとの変動によるものと考えられる。その結果、ある患者について測定した血清中テオフィリン濃度に基づき投与速度を調整したとしても、別の日に再び測定すると血清中濃度は95%信頼区間として、-5から+5  $\mu\text{g/ml}$ の範囲で変動しうることになり、テオフィリンの有効濃度範囲が狭いことを考慮するとこの変動幅はかなり大きなものと考えられる。

以上、回顧的に集積した患者データに対しpopulation解析の手法を用いて、急性喘息発作時の小児患者におけるテオフィリン体内動態の個体間、個体内変動を分離評価した。その結果得られた比較的大きな個体内変動を考慮すれば、急性発作時にある患者群に対しては、テオフィリン血清中濃度の頻繁な(毎日の)TDMが必要であることが示された。



## 第2節 慢性閉塞性呼吸器障害患者の安定期における体内動態解析

前節では、喘息発作時の小児患者を対象としたテオフィリンの体内動態解析を行った。回顧的に、断片的に集積されたデータによるpopulation解析は、個体間・個体内変動の量的な評価には有効であった。しかし、緊急時の治療中であるためデータの不足とデータの不安定性により、クリアランスと病態生理学的パラメータ間に相関を見いだすことはできなかった。

そこで本節では、慢性閉塞性呼吸器障害患者の安定期に得られたデータを用いてテオフィリンのpopulation pharmacokinetic parameters の推定を試みた。こうした、症状の安定した患者では計画的な薬物動態解析が可能となり、緊急時の患者と比べてより多くの採血が可能であった。テオフィリン体内動態に影響を与えると考えられる病態生理学的因子は、NONMEMと尤度比検定を用いた統計学的手法により評価した。

### 2-a 患者の特徴と試験方法

安定期にある慢性閉塞性呼吸器患者 55名を対象とした(Table 6)。12名の患者は慢性型喘息であり、20名は慢性肺気腫、25名はび慢性細気管支炎、2名は慢性気管支炎であった。その他 1名については、肺結核後遺症の診断がされていた。呼吸機能検査によれば、患者の気道閉塞は軽度～中程度であった。患者は全て京都大学胸部疾患研究所に入院中の患者であり、まずアミノフィリンの静脈内投与の治療を受けた。アミノフィリンの投与により呼吸機能の有意な改善が見られたため、これらの患者は主治医により経口投与によるテオフィリン治療の続行が決定された。個々の患者の経口投与量の設定のため、個々の患者の体内動態パラメータを求めるために、アミノフィリン短時間静脈内定速注入試験が行われた。<sup>76)</sup> この試験の目的は個々の患者に十分説明し同意が得られた。血清中テオフィリン濃度データは個別の投与量の設定に用いられると同時に、本研究でのpopulation解析のために蓄積した。

第I章の動物実験により得られたテオフィリン体内動態に影響を与える可能性のある因子をTable 6に示した。5名の患者は主治医の診断により、あるいはGOTとGPTの値が30 I.U. 以上であることから、肝障害を有すると判断した。

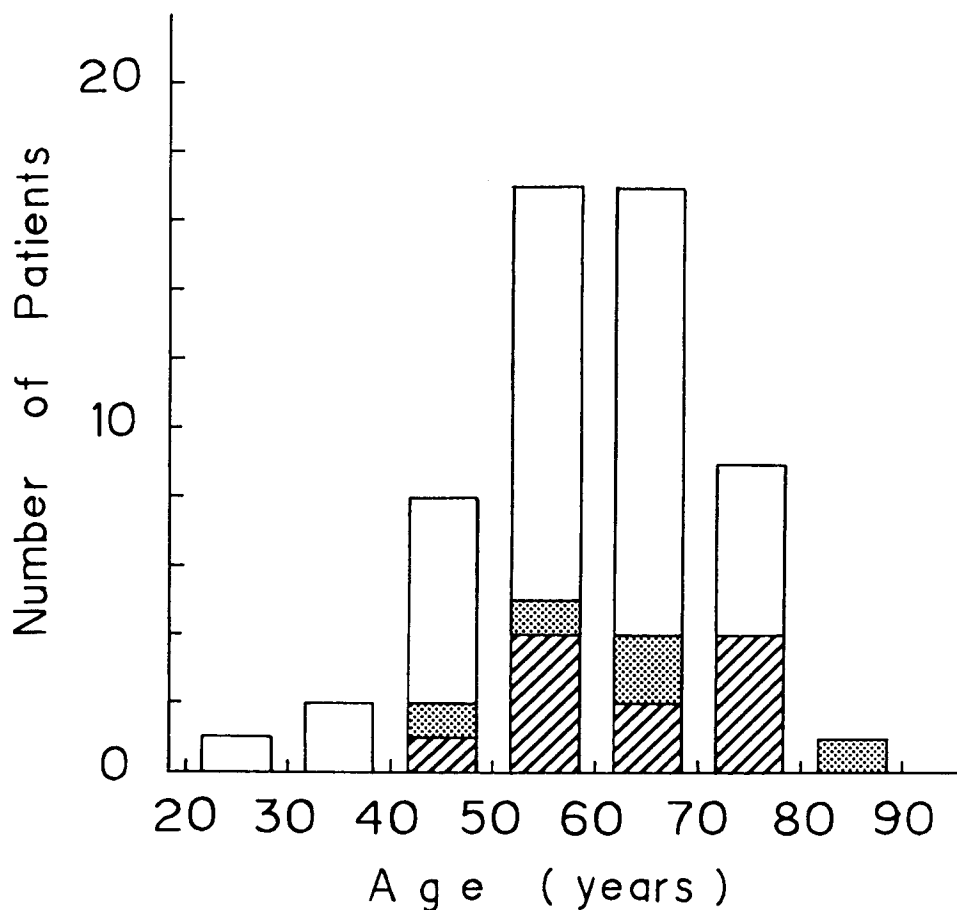
**Table 6 Description of data of patient participating in the estimation of population pharmacokinetic parameters of theophylline**

|   |               |               |
|---|---------------|---------------|
| Total number of patients                    |               | 55            |
| Disease type <sup>a)</sup>                  |               |               |
| Chronic asthma                              |               | 12            |
| Chronic pulmonary emphysema                 |               | 20            |
| Diffuse panbronchiolitis                    |               | 25            |
| Chronic bronchitis                          |               | 2             |
| Other                                       |               | 1             |
| Number of males                             |               | 35            |
| Number of patients with hepatic dysfunction |               | 5             |
| Number of patients with smoking habits      |               | 11            |
| Age (years)                                 | 59.0 ± 11.6   | (22-80)       |
| Weight (kg)                                 | 49.3 ± 11.6   | (28-77)       |
| Height (cm)                                 | 158.3 ± 10.0  | (136-182)     |
| PaO <sub>2</sub> (mmHg)                     | 71.4 ± 11.4   | (52-108)      |
| PaCO <sub>2</sub> (mmHg)                    | 42.5 ± 6.8    | (31-71)       |
| Blood pH                                    | 7.402 ± 0.029 | (7.300-7.483) |
| Hct (%)                                     | 41.6 ± 4.9    | (32-52)       |
| Alb (g/100ml)                               | 4.2 ± 0.5     | (3.1-5.1)     |
| Number of measurements                      | 276           |               |
| Theophylline dose (mg)                      | 200           |               |
| Infusion rate (mg/hr/kg)                    | 9.21 ± 3.36   | (2.17-20.41)  |
| Infusion duration (hr)                      | 0.517 ± 0.250 | (0.22-2.0)    |
| C <sub>0</sub> (µg/ml)                      | 0.64 ± 1.78   | (0-9.32)      |

Mean ± S.D. (minimum-maximum value).

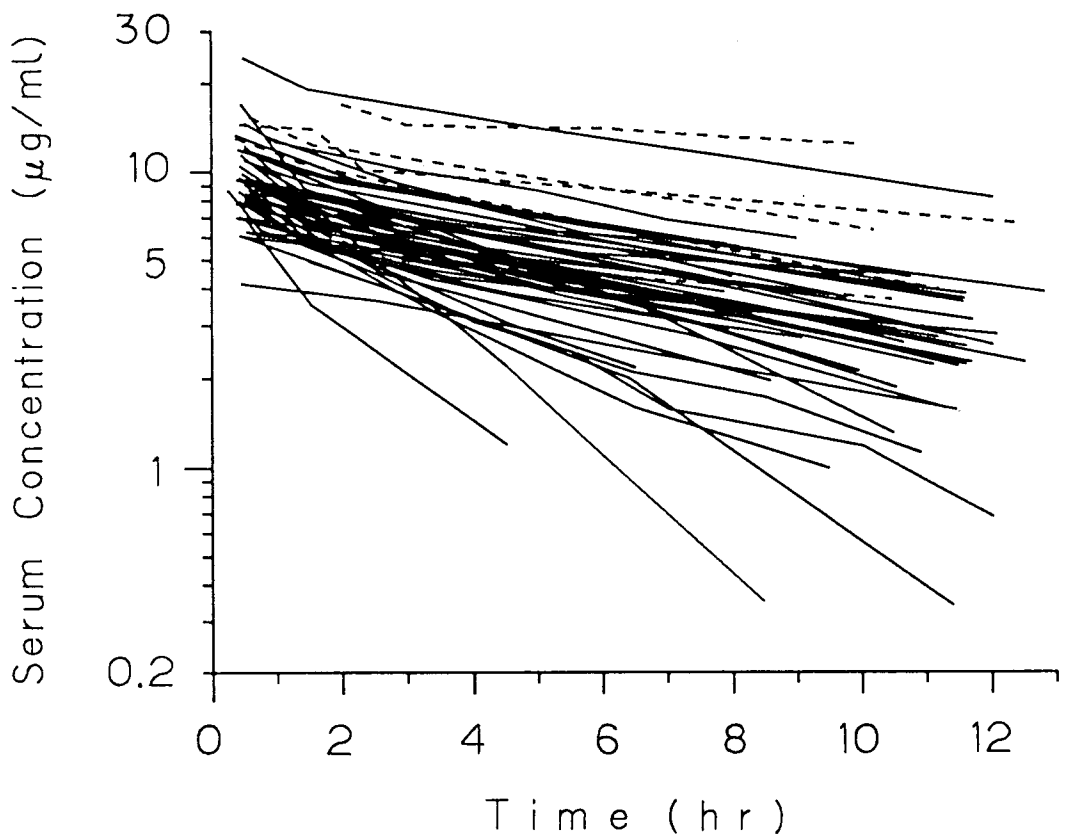
<sup>a)</sup>Five patients were complicated with two disease types.

11名の患者は喫煙者であり、一日25～60本のタバコを20～58年（平均45年）間、試験時あるいは試験の6カ月前まで喫煙していた。Huntら<sup>77)</sup>によると、喫煙による肝の酵素誘導は喫煙の中止後3カ月～2年間持続することが報告されている。うっ血性心不全の患者は含まれておらず、患者の多くは中年で平均年齢は59.0 ± 11.6歳(mean ± S.D.、Fig.12)であった。



**Fig.12** Distribution of age in the study population.

□, patients without hepatic dysfunction or smoking habit; ▨, patients with hepatic dysfunction; ▩, patients with smoking habit.



**Fig.13** Theophylline serum concentration-time profiles following intravenous infusion to 55 patients with stable chronic airway obstruction. Dotted lines represent the profiles for 5 patients with hepatic dysfunction.

試験前24時間以内には経口テオフィリン製剤の投与は行われず、この間喘息発作の可能性のある患者に対しては  $\beta_2$  刺激剤の吸入が行われた。試験日の午前 8時に患者は、100 mlの生理食塩水あるいは250 mlの5%グルコース溶液に溶解した、250 mgのアミノフィリン（テオフィリンとして200 mg、ネオフィリン、エーザイ）の短時間静脈内定速注入を受けた。必要のある患者に対してはピタ

ミン類や抗生物質が同時に投与されたが、これらはテオフィリンの分析に影響を与えなかった。投与時間は13～120分であり、採血は定速注入直前と注入終了直後からその後10時間まで行われた。55名の患者から総276点の血清テオフィリン濃度が得られ(Fig. 13)、一人当りの採血点は3～7点であった。血清テオフィリン濃度データに加え動脈血酸素ガス分圧(PaO<sub>2</sub>)、炭酸ガス分圧(PaCO<sub>2</sub>)、血液pHといった血液ガス分析値やヘマトクリット(Hct)、血清アルブミン濃度といった臨床検査値もまた解析に用いた。患者母集団は軽度の低酸素血症を示すが、PaCO<sub>2</sub>やアルブミン濃度は正常範囲内であった(Table 6)。血液ガス分析は自動血液ガス分析装置(ABL-3)により行った。

血清中テオフィリン濃度は蛍光偏光免疫法(TDx)、あるいはHPLC法により行った。<sup>78)</sup> 両方法で得られた値は同等であり、<sup>79)</sup> HPLC法の日内・日間の変動係数はテオフィリン濃度5、10、20 μg/mlでいずれも3%以下であった。<sup>78)</sup>

## 2-b 薬物速度論モデルと統計モデル

テオフィリンの体内動態は2-compartment open modelを用いて表現されることもあるが、<sup>80)</sup> モデルの選択は採血プロトコールにも依存する。本解析に用いたデータは、Fig. 13に示すようにほぼ対数線形的に減衰し、また、臨床的にはより単純なモデルが望まれるため、テオフィリンの濃度-時間推移を表すために、1-compartment modelを仮定した。CL<sub>j</sub>とVd<sub>j</sub>をj番目の患者における全身クリアランスと分布容積とすると、

$$C_{ij} = Ro_j \{1 - \exp(-CL_j \cdot \tau_j / Vd_j)\} \exp\{-CL_j(t_{ij} - \tau_j) / Vd_j\} / CL_j + Co_j \exp(-CL_j \cdot t_{ij} / Vd_j) \quad (\text{eq. 14})$$

ここで、t<sub>ij</sub>は定速注入開始後の時間、C<sub>ij</sub>は時間t<sub>ij</sub>におけるj番目の患者のi番目の血清中テオフィリン濃度である。また、Ro<sub>j</sub>とτ<sub>j</sub>はそれぞれ注入速度と注入時間、Co<sub>j</sub>は時間零での血清中テオフィリン濃度である。

個体間・個体内変動の大きさを求めるために、データ解析には非線形混合効果モデルを利用した。絶対誤差・相対誤差モデルは誤差の分布を表すのに代表的なパラメータモデルである。予備検討として eq. 14に示した基本構造のモデ

ルを用い、誤差モデルの選択を行った。個体内残差変動に関しては、相対誤差モデルの尤度が絶対誤差モデルに比べて大きかった。個体間変動に関しては、両モデルでの尤度は同等であったが、通常薬物動態パラメータは正の値となり、また個々のパラメータの分布は右に歪んでいることが多いので<sup>64)</sup> 相対誤差モデルを仮定した。

$$CL_j = \widetilde{CL}_j (1 + \eta_{CL,j}) \quad (\text{eq.15})$$

$$Vd_j = \widetilde{Vd}_j (1 + \eta_{Vd,j}) \quad (\text{eq.16})$$

$$Ci_j = \widetilde{Ci}_j (1 + \varepsilon_{i,j}) \quad (\text{eq.17})$$

ここで、 $\eta_{CL,j}$ 、 $\eta_{Vd,j}$ は母集団平均パラメータに対する変量、互いに独立で、個別に平均零、分散がそれぞれ $\omega_{CL}^2$ 、 $\omega_{Vd}^2$ となる正規分布をとる。 $\widetilde{CL}_j$ と $\widetilde{Vd}_j$ はそれぞれ回帰式 eq.20、21から推定されるクリアランスと分布容積の平均的な値を表す。 $\varepsilon_{i,j}$ は独立で平均零、分散 $\sigma^2$ の正規分布をとる、血清濃度に関する誤差を表す。 $Ci_j$ は血清濃度測定値で、 $\widetilde{Ci}_j$ は個々のパラメータ値より計算された値を表す。

## 2-c データ解析

計算はプログラムNONMEMのバージョンIII、レベル1.2を用い、京都大学大型計算機センターのFACOM M-780により行った。<sup>63,64)</sup> 対象とした患者集団において、体内動態に影響を与える説明変数の評価には尤度比検定を用いた。NONMEMは目的関数の最小値、すなわち変量が正規分布であるとの仮定の下で対数尤度の-2倍に等しくなる統計量を算出する。したがって、検定すべきパラメータを自由に推定した場合と、仮定値に固定した場合の目的関数の値を比較することにより帰無仮説の検定が可能である。この目的関数の値の差(-2 l.l.d.)は漸近的に、自由度は仮定値に固定したパラメータの数に等しい、カイ二乗分布に従う。このような解析は多重回帰検定となるため、自由度1の場合の目的関数の値の差7.879を統計的有意基準とした( $p < 0.005$ )。

まず、身体の大きさの表現法について次式に従い評価した。

$$\text{SIZE}_j = \text{WT}_j^{\theta_1} \cdot \text{HT}_j^{\theta_2} \quad (\text{eq. 18})$$

$$\widetilde{\text{CL}}_j = \theta_3 \cdot \text{SIZE}_j \quad \text{and} \quad \widetilde{\text{Vd}}_j = \theta_4 \cdot \text{SIZE}_j \quad (\text{eq. 19})$$

ここで $\text{WT}_j$ 、 $\text{HT}_j$ は $j$ 番目の患者の体重と身長を表す。 $\theta_1$ は1に等しい、また $\theta_2$ は零に等しいという帰無仮説をたて尤度比検定により検定した結果、 $\text{CL}$ 、 $\text{Vd}$ 共に単に体重にのみ比例し( $\theta_1=1$ )、身長には依存しなかった( $\theta_2=0$ )。したがって、 $\text{CL}(\text{L/hr/kg})$ 、 $\text{Vd}(\text{L/kg})$ 、注入速度 ( $\text{mg/hr/kg}$ )のように、以下の解析ではこれらのパラメータを体重あたりの単位として表すことにした。

慢性閉塞性呼吸器障害患者は、四種の異なる病型すなわち慢性型喘息、慢性肺気腫、び慢性細気管支炎、慢性気管支炎 (Table 6)に分類可能であるので、これら病型によって $\text{CL}$ 、 $\text{Vd}$ の値に相違があるか検討を行ったが相違は認められなかった。

体重、身長、肝障害、喫煙習慣、年齢といった一般的因子に加え、血液ガスや臨床生化学検査値についてもテオフィリン体内動態に影響を与えるかどうか検討を加えた。これらの因子のうちいくつかについては前章で述べた動物モデルでテオフィリンの消失と分布との関連が認められた。各因子の評価と選択は変数増加法<sup>81,82)</sup>により行った。すなわち、説明変数を含まない最も単純なモデルから順次回帰計算を行い、統計的に有意な説明変数を一つずつ $\text{CL}$ あるいは $\text{Vd}$ の回帰式に次式のように追加した。

$$\widetilde{\text{CL}}_j = \exp(P_1 + P_3 \cdot \text{FC}_1 + P_5 \cdot \text{FC}_2 + \dots) \quad (\text{eq. 20})$$

$$\widetilde{\text{Vd}}_j = \exp(P_2 + P_4 \cdot \text{FC}_1 + P_6 \cdot \text{FC}_2 + \dots) \quad (\text{eq. 21})$$

ここで、 $P_1$ 、 $P_2$ 、 $P_3$ は推定すべきパラメータで、 $\text{FC}$ は検定すべき因子の一つである。肝障害あるいは喫煙習慣の有無を表す際にカテゴリー変数を用いた。すなわち肝障害患者では $\text{HF}=1$ であり、それ以外の患者では $\text{HF}=0$ となる。患者が喫煙者の場合には $\text{SM}=1$ であり、非喫煙者の場合には $\text{SM}=0$ である。肝障害があり、かつ喫煙者の患者はいなかった。年齢、 $\text{PaO}_2$ 、 $\text{PaCO}_2$ 、血液 $\text{pH}$ 、 $\text{Hct}$ 、血清アルブミン濃度の値はeq. 20、21に直接代入した。

まず最初の選択で、ある説明変数の有無での目的関数の値を比較した。帰無仮説はある説明変数は速度論パラメータに影響を与えない、すなわち $P_3$  (あるいは $P_4$ ) が零と比較して統計的有意差をもたないことである。あてはめ結果が





最もよい因子を選択し、その因子を第二の選択段階での基本モデルに加えた。同様に第二の選択で最も大きな-2 l.l.d. 値を示した因子を選択し、次の選択段階での基本モデルに追加した。目的関数の値を 3.841(p<0.05)以上減少させた因子は全て、次の選択段階で再び検定した。この逐次選択を最も大きな目的関数の差が7.879(p<0.005)以下となるまで繰り返し、最終的回帰式を得た。Table 7には全ての選択段階での-2 l.l.d.の値と帰無仮説に対する p値を示した。最初の選択段階では、13の因子 (HF、SM、Age、Alb、Hct、pH、PaO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>のCLへの効果とAlb、Hct、pH、PaO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>の Vdへの効果) を検定した結果、6つの有意な説明変数を得た。CLに対する肝障害の効果に関する -2 l.l.d. の値が最も大きく、この因子が最も重要な因子と評価されたので続く選択段階での回帰式に追加した。二番目の選択段階では残りの5つの因子を比較した結果、PaCO<sub>2</sub>のCLへの効果を回帰式に追加した。三番目の選択段階ではPaCO<sub>2</sub>のVd への効果を選択し、四番目の段階では統計的有意差をもつ因子はなくなった。

Table 8 には得られた安定期にある慢性閉塞性呼吸器障害患者におけるテオフィリンのpopulation pharmacokinetic parametersの最終値を95%信頼区間とともに示した。最終回帰式は次式に示すように、CLは肝障害の有無とPaCO<sub>2</sub> 値と関連があり、VdはPaCO<sub>2</sub> 値と関連があった。

$$CL_j = \exp(P_1 + P_3 \cdot HF + P_5 \cdot PaCO_2) \quad (\text{eq.22})$$

$$Vdj = \exp(P_2 + P_4 \cdot PaCO_2) \quad (\text{eq.23})$$

平均的PaCO<sub>2</sub>値(42.5 mmHg)をもつ肝機能の正常な患者における平均的なCLとVd値はそれぞれ 61.4 ml/hr/kg、0.486 L/kgと算出され、また肝障害の患者ではCLは平均40.8%低下することが示された。CL、Vdの個体間変動はそれぞれ38.5%と12.5%であり、テオフィリン血清中濃度に対する残差変動は10.6%であった。最終的なモデルを用いたときの変動の大きさは説明変数を全く含まないモデルと比較してわずかに小さくなった ( $\omega_{CL}$ =45.1%、 $\omega_{Vd}$ =13.2%、 $\sigma$ =11.1%)。

最終モデル(eq.22、23)の妥当性を再度確認するため、各説明変数(P<sub>3</sub>、P<sub>4</sub>、P<sub>5</sub>)を最終モデルより削減し、このモデルを用いたあてはめ結果を最終モデルの結果に対し検定した。-2 l.l.d.の値はP<sub>3</sub>、P<sub>4</sub>、P<sub>5</sub>の場合にそれぞれ11.773、12.655、15.675となり、いずれの説明変数も零と比較し統計的に有意であったため(P<0.001)、最終モデルは妥当であるとの仮説は棄却されなかった。

**Table 8 Final estimates for population pharmacokinetic parameters of theophylline in patients with stable chronic airway obstruction**

| Parameters                                 | Estimate | (95% CI) <sup>a)</sup> |
|--|----------|------------------------|
| Mean Parameters <sup>b)</sup>              |          |                        |
| P <sub>1</sub>                             | -3.78    | (-4.13, -3.43)         |
| P <sub>2</sub>                             | -1.12    | (-1.34, -0.896)        |
| P <sub>3</sub>                             | -0.525   | (-0.897, -0.153)       |
| P <sub>4</sub>                             | 0.00934  | (0.00430, 0.0144)      |
| P <sub>5</sub>                             | 0.0233   | (0.0158, 0.0308)       |
| Interindividual variability in CL (%)      | 38.5     | (27.5, 46.9)           |
| Interindividual variability in Vd (%)      | 12.5     | ( 8.7, 15.4)           |
| Residual variability in concentrations (%) | 10.6     | ( 8.5, 12.3)           |

a) Upper and lower limits of 95% confidence intervals of estimates are given in parentheses.

b)  $CL = \exp(P_1 + P_3 \cdot HF + P_5 \cdot PaCO_2)$  and  $Vd = \exp(P_2 + P_4 \cdot PaCO_2)$ , where HF is a categorical variable with a value of unity if a patient is complicated by hepatic dysfunction otherwise zero, and PaCO<sub>2</sub> is the arterial blood carbon dioxide tension.

## 2-d 考察

本研究により、安定した状態の慢性閉塞性呼吸器障害患者におけるテオフィリンのpopulation pharmacokinetic parametersを得ることができた。その結果、CLの母集団平均値はPaCO<sub>2</sub>値と正の相関を示し、肝障害により低下すること、Vdの母集団平均値はPaCO<sub>2</sub>値と正の相関を示すことがわかった(Table 8)。平均的PaCO<sub>2</sub>(42.5 mmHg)をもつ、肝機能の正常な患者における平均的なCLとVd値はそれぞれ61.4 ml/hr/kg、0.485 L/kgと算出され、これらの値は合併症のない喘息患者や健康人で報告されている値とほぼ同じであった。<sup>2)</sup> CLとVdの個体間変動はそれぞれ38.5%および12.5%であり、テオフィリン体内動態の変動はPaCO<sub>2</sub>や肝障害の有無により一部説明可能であるものの、依然として大きなCLの個体間変動によるものであることが示された。投与や採血の時間は正確に記録されているため、残差変動は測定誤差、モデルからのズレ(1-compartment modelによる近似)あるいは試験期間中の個体内変動を反映するものと考えられる。10.6%の残差変動は測定誤差を考慮すれば妥当な値であり、前節で述べた閉塞性呼吸器障害の急性発作時の患者で得られた値に比べ顕著に小さかった。

テオフィリンは主として肝臓で代謝され、投与量の約10%のみが未変化体として尿中に排泄される。<sup>2)</sup> 本研究での解析結果によれば、肝障害の併発によりCLは40.8%低下することになり、この値は前節での急性発作時にある小児患者で推定された値と同程度であった。CLと血清ビリルビンあるいは胆汁酸濃度間に相関を認めるとの報告<sup>70)</sup>もみられるが、本研究においてはGOT、GPTといった臨床検査値は患者を二群に分類するために用い、CL間に量的関係を求めることはしなかった。肝障害を有する患者数は少なく、ルーチンで得られる臨床検査値の中で、一般に肝の薬物代謝能の量的指標となるものはないからである。

喫煙者は酵素誘導のために非喫煙者よりも大きな代謝クリアランスをもつことが知られている。<sup>2, 9)</sup> 本研究では喫煙者と非喫煙者のCL値に統計的有意差は認められなかった。喫煙者には多くの老齢患者が含まれており(Fig.12)、喫煙の効果は高齢者では明らかでないとの報告がみられる。<sup>83)</sup> 年齢と喫煙はともにテオフィリン肝代謝に相互的に影響を与える多重変量であることから、これらの影響については論争のある点である。<sup>84-86)</sup> 本研究で対象とした母集団では、CLに対して年齢の直接的影響は認められず、喫煙の影響も明らかではなかった。

動脈血ガス測定値とテオフィリン体内動態との関連については、重症の慢性閉塞性肺疾患(COPD)患者や危篤状態の患者を対象に検討されており、<sup>5,24,87,4)</sup> Vdは血液pHと逆相関する、<sup>5,24)</sup>あるいはCLはPaCO<sub>2</sub>と逆相関することが報告されている。またCLと動脈血ガス分析値間に相関は認められないとの報告もみられる。<sup>4)</sup> こうした議論の余地のある結果に加え、これらの相関の基礎となる機構についての説明はほとんどなされていない。前章において動物モデルを用いて、急性低酸素血症と喘息発作のテオフィリン体内動態への影響を検討した結果、血液ガス測定値や血液学的検査値をテオフィリン体内動態の予測に利用することを提示するに至った。それゆえ本節では、患者データを用いて動物実験で示した要因と体内動態パラメータの量的関係について検討した。得られた結果はPaCO<sub>2</sub>とCL並びにVd間に正の相関があることを示しており(Table 8)、重症のCOPD患者を対象とした報告<sup>87)</sup>とは異なるものであった。本研究の患者集団は、軽度～中程度の慢性閉塞性呼吸器障害の安定した状態にある患者である。低酸素血症は呼吸器障害時にしばしば見られるが、薬物代謝への影響は急性時と慢性時とは異なることが知られている。<sup>13)</sup> さらに、血液ガス特性は病態の種々の段階により多様性と相互作用を示す。COPD患者では肺胞の低換気が起こり、高炭酸ガス血症と呼吸性アシドーシスが起こる。こうした呼吸性アシドーシスは慢性時には血漿中の重炭酸の大量の増加により代償される。<sup>66)</sup> 血液ガス測定値間の相互作用は本研究においても認められた。すなわち、逐次選択の第三段階で回帰式に PaCO<sub>2</sub>のCLへの効果を追加することにより、PaO<sub>2</sub>のCLへの影響はみられなくなった(Table 7)。さらに、第四段階でPaCO<sub>2</sub>のVdへの効果を回帰式に追加すれば、pHのVdへの効果は認められなくなった。患者母集団の全血液ガスデータ(n=55)を用いると、PaCO<sub>2</sub>とpH間、あるいはPaCO<sub>2</sub>とPaO<sub>2</sub>間にそれぞれ有意な負の相関が得られた(pHに対して $r = -0.504$ 、PaO<sub>2</sub>に対して $r = -0.441$ 、いずれも $p < 0.001$ )。その結果、PaCO<sub>2</sub>よりもPaO<sub>2</sub>あるいは血液pHをより重要な因子として取り上げた場合、テオフィリンのCL、VdはそれぞれPaO<sub>2</sub>やpHと負の相関を持つことになる。説明変数が独立ではない場合、回帰式の最終構造は変数を回帰式に含める順序に依存することになるが、本研究では最もあてはめのよい因子を各選択段階で受け入れるという統計的規準に基づき選択した。その結果、慢性閉塞性呼吸器障害患者の安定期において血液ガス値とテオフィリン体内動態パラメータ間に有意な相関が実際に存在することが示された。さらにこうした関係は非安定期における閉塞性障害患者の個体内変動

をも説明し得ると考える。

本研究でのもう一つの利点は、得られた母集団動態パラメータはベイジアン法<sup>88, 89)</sup>による個々の患者の血清濃度推移の予測に適用可能という点である。従来法では個別の体内動態パラメータの推定のために多くの採血を必要とするが、一人の患者から多数の採血を行うことは、経済的な問題のみならず倫理的背景からも臨床上多くの場合困難である。ベイジアン法は、限られた少数の測定点から個別の体内動態パラメータを推定するための有用な手段であるが、この方法では対象とする患者が属する母集団のパラメータを必要とする。最終モデルとパラメータ(Table 8)は、ベイジアン法による投与量の個別化に有効である。

以上、安定した慢性閉塞性呼吸器障害患者において血液ガス測定値とテオフィリン体内動態パラメータ間に有意な相関を得ることができ、テオフィリン体内動態は呼吸器疾患の重症度に関連して変化することが明らかとなった。

### 第Ⅲ章 血中薬物濃度に基づく個別化投与設計

前章までにおいて呼吸器障害患者におけるテオフィリン体内動態は疾病の重症度に応じて変動することを示し、急性期には頻繁な TDMによる投与量の変更が必要であるとの科学的根拠を得た。しかし、臨床では患者への負担（採血回数等）をできる限り少なくすることを念頭に置いた個別化投与設計を行うことが望まれ、その際にはベイジアン法による投与設計が有効と考えられる。本章ではベイジアン法の予測性について評価するとともに、実際の TDMで経験した症例について記述し個別化投与設計への応用について検討した。

#### 第1節 1点ベイジアン法による予測精度の評価

個々の患者における体内動態パラメータに基づく投与量の調整は、治療範囲の狭い薬物の効果的かつ安全な使用のために特に重要である。患者の体内動態パラメータの予測のためには、従来の最小二乗法では推定すべきパラメータ数以上の血中濃度測定数を必要とする。しかし一人の患者よりの多数回の採血は経済的制約のみならず倫理的な面からも臨床上は難しい。この問題を克服する方法として、Sheiner らによりベイジアン法が薬物投与設計の分野に導入された。<sup>88,89)</sup> ベイジアン法により、対象となる患者から得た1、2点の血中薬物濃度測定値を用いた患者個別の体内動態パラメータの推定が可能となり、また少数の血中薬物濃度に基づく従来の予測法（非ベイジアン法）よりも精度の良い推定値が得られる。<sup>90-92)</sup> また、1点の測定値に基づく非ベイジアン法では、定常状態の平均血中濃度を得るための投与量のみが予測可能であるが、ベイジアン法では個々の患者の体内動態パラメータまでも推定し、定常状態の最高、最低濃度を示す血中濃度-時間推移の予測が可能となる。すでにベイジアン法を利用した数多くの臨床報告が発表され、<sup>92-95)</sup> 今や本法は日常の患者治療において投与設計の体内動態による個別化を行うための有用な手法となっている。

ベイジアン法によるパラメータ推定は、用いる測定点数が少ないため薬物投

与後どの時刻に採血を行えば最も多くの情報量が得られ、また予測精度が向上するかといった点に関心が持たれる。D'Argenioらは誤差伝播則<sup>96, 97)</sup>に基づき、テオフィリン定速注入中の採血時間がクリアランス推定並びに血漿中濃度の予測精度に与える影響について報告しているが、<sup>98)</sup> その理論的考察はベイズ理論を含まない範囲での適用内に留まっていた。Peckらもまた採血時間の重要性を指摘している。<sup>99)</sup> また、事前確率である母集団パラメータのベイズアン予測に対する影響に関する報告もみられるが、<sup>91, 100, 101)</sup> ベイズアン法を用いるにあたっては、その予測精度に影響を与える因子につき適用する薬物ごとにさらに詳細な検討が必要である。

本節では、まず 1点の採血データのみを用いるベイズアン法（1点ベイズアン法）によるパラメータ推定の予測精度に関する理論式を導出した。さらにベイズアン法の予測性に対する採血時間、母集団パラメータ並びに薬物動態モデルの影響について、得られた理論式を用いるシミュレーションにより検討した。また、慢性閉塞性呼吸器障害患者より得られたテオフィリン血清濃度データを用いることにより、本節での誤差解析の臨床的妥当性を評価した。

### 1 - a パラメータの推定誤差に関する理論

ベイズアンアルゴリズムに基づく最小二乗法（ベイズアン法）では次式に示す平方和(Sum of Squares; SS)を最小とするパラメータを推定する。<sup>89)</sup>

$$SS = \sum_{i=1}^n \frac{(C_i - f_i(\theta))^2}{\sigma_i^2} + \sum_{j=1}^m \frac{(\bar{\theta}_j - \theta_j)^2}{\omega_j^2} \quad (\text{eq. 24})$$

ここで $C_i$ は観測した血清あるいは血漿中の薬物濃度であり、 $f_i(\theta)$ は予測薬物濃度、 $\sigma_i^2$ は測定濃度の分散、 $n$ は測定点数、 $m$ はパラメータ数を、 $\theta_j$ はある患者におけるパラメータ $j$ の値を示し、 $\bar{\theta}_j$ 、 $\omega_j^2$ はそれぞれ母集団動態パラメータの平均、分散である。事前確率として母集団パラメータを用い、ベイズ理論を組み込んだ観測方程式は次式で与えられる。<sup>102)</sup>

$$\begin{bmatrix} C \\ \bar{\theta} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} F(\theta) \\ \theta \end{bmatrix}, \quad \text{variance matrix } \Sigma \quad (\text{eq. 25})$$

ここで  $C$  は観測した血清中薬物濃度からなる測定値ベクトル、 $F(\theta)$  はパラメータベクトル  $\theta$  を用いた予測血中濃度からなるベクトル、 $\theta$  は推定すべきパラメータを、 $\Sigma$  は分散行列を表す。Eq. 24 を最小とするパラメータ値は、次式の正規方程式を解くことにより得られる。

$$\hat{\theta} = (A' \Sigma^{-1} A)^{-1} A' \Sigma^{-1} C \quad (\text{eq. 26})$$

ここで  $A$  はヤコビアン行列であり、モデル  $f_i(\theta)$  のパラメータ  $\theta_j$  に関する一次の偏微分係数および各パラメータの偏微分係数をその成分とする。<sup>103)</sup> 右肩の  $t$  および  $-1$  はそれぞれ転置行列、逆行列を表す。

$$A = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1(\theta)}{\partial \theta_1} & \frac{\partial f_1(\theta)}{\partial \theta_2} & \dots & \frac{\partial f_1(\theta)}{\partial \theta_m} \\ \frac{\partial f_2(\theta)}{\partial \theta_1} & \frac{\partial f_2(\theta)}{\partial \theta_2} & \dots & \frac{\partial f_2(\theta)}{\partial \theta_m} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ \frac{\partial f_n(\theta)}{\partial \theta_1} & \frac{\partial f_n(\theta)}{\partial \theta_2} & \dots & \frac{\partial f_n(\theta)}{\partial \theta_m} \\ \frac{\partial \theta_1}{\partial \theta_1} & \frac{\partial \theta_1}{\partial \theta_2} & \dots & \frac{\partial \theta_1}{\partial \theta_m} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ \frac{\partial \theta_m}{\partial \theta_1} & \frac{\partial \theta_m}{\partial \theta_2} & \dots & \frac{\partial \theta_m}{\partial \theta_m} \end{bmatrix} \quad (\text{eq. 27})$$

Eq. 24、25 においては、各測定値とパラメータ値が独立に正規分布をとり、またパラメータ間および測定値とパラメータ間には相関がないと仮定した。する



と、分散行列  $\Sigma$  は次式で表される。

$$\Sigma = \begin{bmatrix} \sigma_1^2 & 0 & \dots & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & \sigma_2^2 & \dots & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & 0 & \dots & \sigma_n^2 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & 0 & \dots & 0 & \omega_1^2 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & 0 & \dots & 0 & 0 & \omega_2^2 & \dots & 0 \\ 0 & 0 & \dots & 0 & 0 & 0 & \dots & \omega_m^2 \end{bmatrix} \quad (\text{eq. 28})$$

また、パラメータ推定の分散共分散行列  $\text{cov}(\hat{\theta})$  は次式で表される。

$$\text{cov}(\hat{\theta}) = E((\hat{\theta} - \theta)(\hat{\theta} - \theta)') = (A' \Sigma^{-1} A)^{-1} \quad (\text{eq. 29})$$

この式より、ベイジアン法によるパラメータ推定の誤差は、1)濃度測定の時期(A)、2)測定誤差と個体間変動( $\Sigma$ )、並びに3)薬物動態モデルの構造(A)により規定されることがわかる。すなわち最適採血時間は  $\text{cov}(\hat{\theta})$  を最小とすることにより得られることになる。

特に、薬物の血清中濃度推移が2つのパラメータ( $\theta_1$ と $\theta_2$ )を用いた 1-compartment modelで表され、1点の濃度( $C_1$ )が利用可能な場合には、ヤコビアン行列と誤差行列は次式で表される。

$$A = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1(\theta)}{\partial \theta_1} & \frac{\partial f_1(\theta)}{\partial \theta_2} \\ 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (\text{eq. 30})$$

$$\Sigma = \begin{bmatrix} \sigma^2 & 0 & 0 \\ 0 & \omega_1^2 & 0 \\ 0 & 0 & \omega_2^2 \end{bmatrix} \quad (\text{eq. 31})$$

ここで $f_1(\theta)$ は時間 $t_1$ における測定濃度 $C_1$ に対応する血清中濃度の計算値である。パラメータ推定の分散共分散行列はeq.32により得られる。

$$\text{cov}(\hat{\theta}) = \left[ \begin{array}{c} \left[ \begin{array}{ccc} \frac{\partial f_1(\theta)}{\partial \theta_1} & 1 & 0 \\ \frac{\partial f_1(\theta)}{\partial \theta_2} & 0 & 1 \end{array} \right] \left[ \begin{array}{ccc} \frac{1}{\sigma^2} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{1}{\omega_1^2} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{1}{\omega_2^2} \end{array} \right] \left[ \begin{array}{cc} \frac{\partial f_1(\theta)}{\partial \theta_1} & \frac{\partial f_1(\theta)}{\partial \theta_2} \\ 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{array} \right] \end{array} \right]^{-1} \quad (\text{eq. 32})$$

したがって、個々のパラメータ推定の分散は次式で表される。

$$\text{var}(\hat{\theta}_j) = \left[ \frac{(\partial f_1(\theta)/\partial \theta_j)^2}{\sigma^2} + \frac{1}{\omega_j^2} \right]^{-1}, \quad j = 1, 2 \quad (\text{eq. 33})$$

すなわちベイズ法では、以前の報告<sup>98)</sup>には含まれていなかった $1/\omega_j^2$ の項が加わることになる。パラメータ推定精度の採血時間依存性は $\text{var}(\hat{\theta}_j)$ の値を $t_1$ に対してプロットすることにより得られる。個体間・個体内変動が絶対誤差モデルで表される場合には $\omega^2$ 、 $\sigma^2$ は共に時間に依存せず、一定である。また変動が相対誤差モデルで表現できる場合には、パラメータ推定の分散は次式で表される。

$$\text{var}(\hat{\theta}_j) = \left[ \frac{(\partial f_1(\theta)/\partial \theta_j)^2}{(f_1(\theta) \sigma_{cv})^2} + \frac{1}{(\bar{\theta}_j \omega_{cv,j})^2} \right]^{-1}, \quad j = 1, 2 \quad (\text{eq. 34})$$

ここで  $\sigma_{cv}$ 、 $\omega_{cv}$  はそれぞれ個体内・個体間変動の分布の変動係数を表す。薬物動態パラメータは通常、時間に依存しないので、 $\bar{\theta}_j \omega_{cv,j}$  は  $t_1$  に関して一定の値をとる。一方、 $f_1(\theta) \sigma_{cv}$  の値は採血時間の関数である。

最適採血時間は理論的には  $\text{cov}(\hat{\theta})$  の行列式を最小とする時間  $t_1$  として得られ、行列式は次式で表される。

$$\det \text{cov}(\hat{\theta}) = \text{var}(\hat{\theta}_1) + \text{var}(\hat{\theta}_2) \quad (\text{eq. 35})$$

#### 1-b シミュレーションによる評価

Eq. 33、34 より、1 点ベイジアン法におけるパラメータ推定の誤差は、採血時間 ( $t_1$ )、測定の残差変動 ( $\sigma^2$ )、パラメータの個体間変動 ( $\omega_1^2$ 、 $\omega_2^2$ ) 並びに薬物動態モデルの構造 ( $f$ ) の関数であることがわかる。1-compartment model を記述する際には、通常クリアランス (CL) と分布容積 (Vd) をモデルパラメータとして用いる方法と、一次消失速度定数 (K) と Vd を用いる方法の 2通りがある。用いるパラメータが異なればモデルを記述する数式も異なるため、推定誤差と採血時間あるいは母集団パラメータとの関係に影響を与えることが予想される。

CL および Vd を用いる場合、1-compartment model に従う薬物の単回定速注入終了後の血清濃度-時間推移は次式で表される。

$$f = \frac{R_0}{CL} \left[ \exp\left(-\frac{CL}{Vd} t\right) - \exp\left\{-\frac{CL}{Vd} (t + \tau)\right\} \right] \quad (\text{eq. 36})$$

ここで  $f$  は定速注入終了後の時間  $t$  での計算血清濃度を、 $R_0$ 、 $\tau$  はそれぞれ定

速注入の速度と時間を表す。CL、Vdに関する f の一次の偏微分は次式となる。

$$\frac{\partial f}{\partial CL} = -\frac{f}{CL} - \frac{R_0}{CL \cdot Vd} \left[ t \cdot \exp\left(-\frac{CL}{Vd} t\right) - (t + \tau) \exp\left\{-\frac{CL}{Vd} (t + \tau)\right\} \right] \quad (\text{eq. 37})$$

$$\frac{\partial f}{\partial Vd} = \frac{R_0}{Vd^2} \left[ t \cdot \exp\left(-\frac{CL}{Vd} t\right) - (t + \tau) \exp\left\{-\frac{CL}{Vd} (t + \tau)\right\} \right] \quad (\text{eq. 38})$$

一方パラメータに K および Vd を選択した場合には、次式で表現される。

$$f = \frac{R_0}{K \cdot Vd} [\exp(-K \cdot t) - \exp\{-K(t + \tau)\}] \quad (\text{eq. 39})$$

$$\frac{\partial f}{\partial K} = -\frac{f}{K} - \frac{R_0}{K \cdot Vd} [t \cdot \exp(-K \cdot t) - (t + \tau) \exp\{-K(t + \tau)\}] \quad (\text{eq. 40})$$

$$\frac{\partial f}{\partial Vd} = -\frac{f}{Vd} \quad (\text{eq. 41})$$

Eq. 37、38あるいはeq. 40、41をeq. 33に代入し、 $\text{var}(\hat{\theta})$ の平方根をとることにより、偏りのないパラメータ推定の理論的標準偏差が得られる。推定誤差は $\text{var}(\hat{\theta})$ の平方根を真のパラメータ値（この場合にはパラメータの母集団平均値）に関する百分率として表し、採血時間に対してプロットした。

シミュレーションは上記の2通りのパラメータセットにつき行い、それぞれについて個体内変動を表すために絶対誤差・相対誤差モデルのいずれかを仮定した。個体間変動に関してはどちらを選んでも同じ結果が得られるため、相対誤差モデルのみを仮定した。シミュレーションの際には、前章第2章で得られた閉塞性呼吸器障害患者における静脈内短時間定速注入後のテオフィリンの母

集団パラメータ値 ( $R_0=9.21(\text{mg/hr/kg})$ 、 $\tau=0.5(\text{hr})$ 、 $CL=60.8(\text{mL/hr/kg})$ 、 $K=0.125(\text{hr}^{-1})$ 、 $V_d=0.488(\text{L/kg})$ ) を基本パラメータ値として用いた。基本となる分散の値は、 $\omega_{cv,CL}=40\%$ 、 $\omega_{cv,K}=40\%$ 、 $\omega_{cv,U_d}=15\%$ とし、相対誤差モデルでは  $\sigma_{ov}10\%$ 、絶対誤差モデルでは  $\sigma=0.7\mu\text{g/ml}$ とした。個体間変動( $\omega_j$ )および残差変動( $\sigma$ )の大きさが個々のパラメータの推定誤差に与える影響を検討する場合には、一つの分散値を変化させ ( $\omega_{cv,K}$ 、 $\omega_{cv,CL}$  に関しては 40%、80%、160%と変化、 $\omega_{cv,U_d}$  に関しては 15%、30%、60%と変化)、その他の分散値は基本値に固定した。残差変動 $\sigma$ は相対誤差モデルでは 10%、20%、40%と変化させ、絶対誤差モデルでは0.7、1.4、2.8 $\mu\text{g/ml}$ と変化させた。

Fig.14-17 に1点ベイジアン法における偏りのないパラメータ推定の理論的な標準偏差を図示した。Fig.14、15はCL、 $V_d$ モデルを用いた場合の結果を、またFig.16、17はK、 $V_d$ モデルを用いた場合の結果を示し、Fig.14、16は $\sigma$ に関する相対誤差モデルをFig.15、17は絶対誤差モデルを用いた場合を表す。Fig.14、15より、CL推定の予測誤差は主として採血時間に依存し、採血時刻が早いほど推定精度が悪くなるといえる。このことは、既に報告されている結果<sup>99)</sup>と一致する。しかし小さな $\omega_{CL}$ の値を用いることによって採血時間の影響を受けにくくなり、早い採血時間での推定挙動は改善されることがわかる(Fig.14a、15a)。相対誤差モデルでは、推定誤差は採血時間が遅くなるにつれ零に近づく(Fig.14a)。一方絶対誤差モデルでは、CLの推定誤差を最小とする理論的な最適採血時間が得られる(Fig.15a)。さらに、残差変動値もまたCL推定の予測精度に影響を与え(Fig.14b、15b)、この値が小さいほど推定精度は向上するといえる。K推定の予測精度はCLの場合と同様の結果となる(Fig.16、17)。

$V_d$ の予測精度に関しても、用いる薬物動態モデルの違いにより予測精度の採血時間依存性に違いがみられる(Fig.14-17c)。一般的には $\omega_{U_d}$ が大きくなるほど予測精度は悪くなる、ここで用いたテオフィリンの基本パラメータの範囲では( $\omega_{cv,U_d}=15\%$ )、 $V_d$ 推定の予測精度は採血時間あるいは残差変動の大きさによりほとんど影響を受けないことが示された。

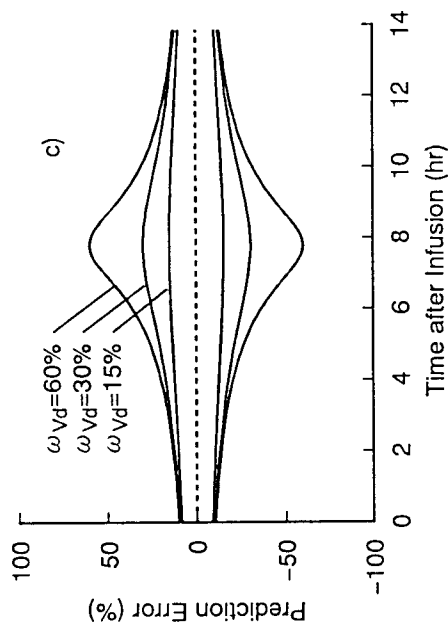
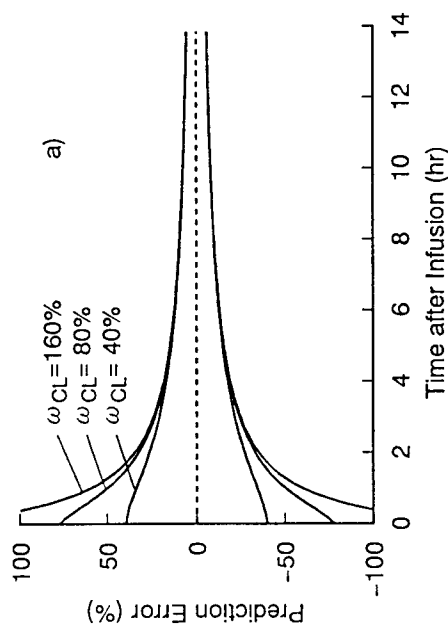
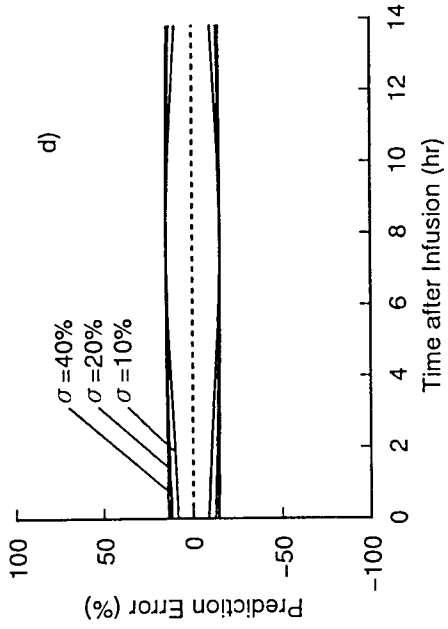
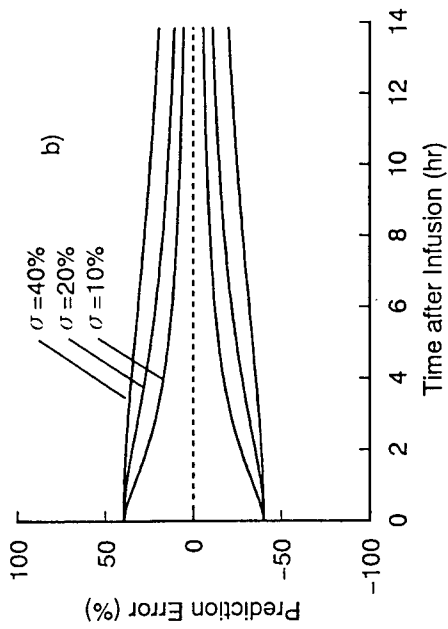
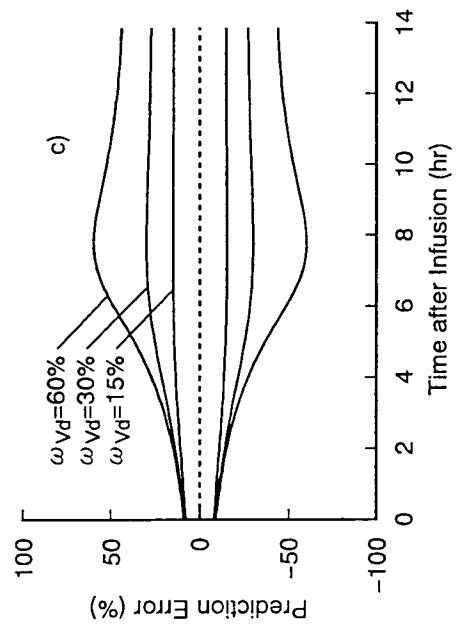
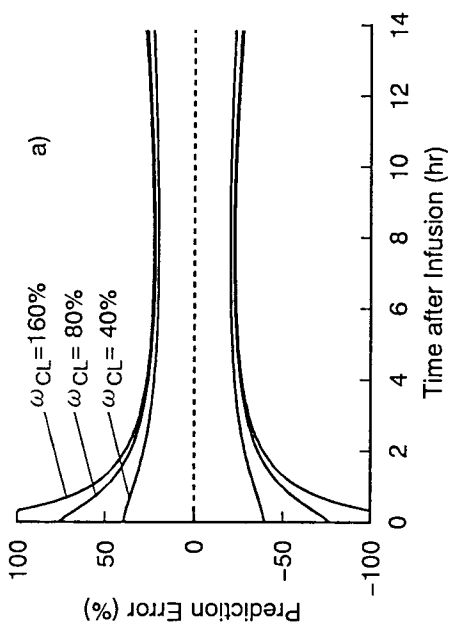
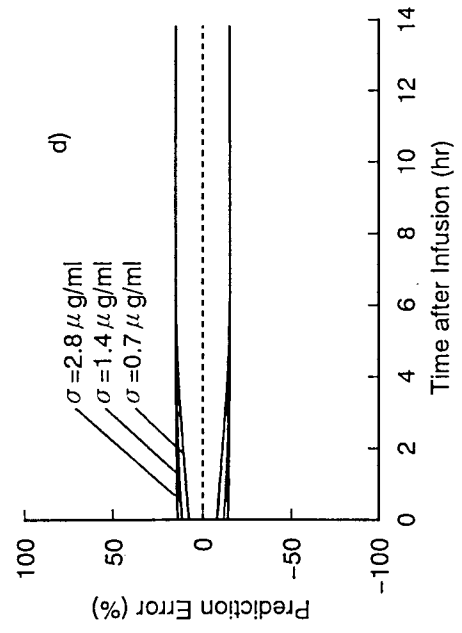
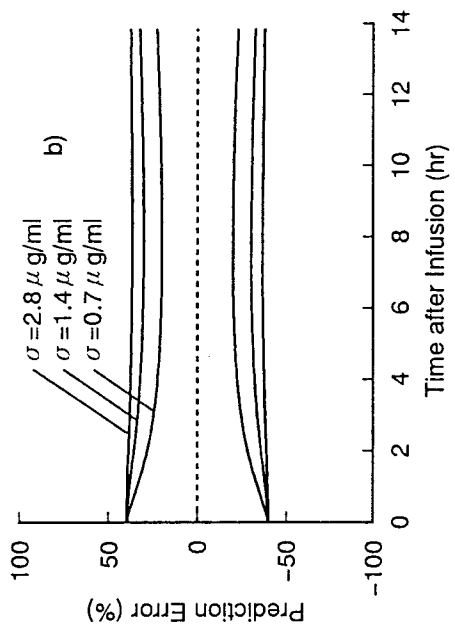


Fig.14 Theoretical standard deviation of parameter estimates by the one-point Bayesian method (CL and Vd as basic structural parameters with the constant C.V. model for intra-individual residual variability). The prediction errors were computed as a square root of  $\text{var}(\hat{\theta})$  according to eq.34, expressed as a percentage of the true parameter value (in this case, the population mean of parameters), and plotted against the blood sampling time,  $t_1$ . The solid curves represent the theoretical standard deviation of estimation and the dotted line shows the zero level as a reference.

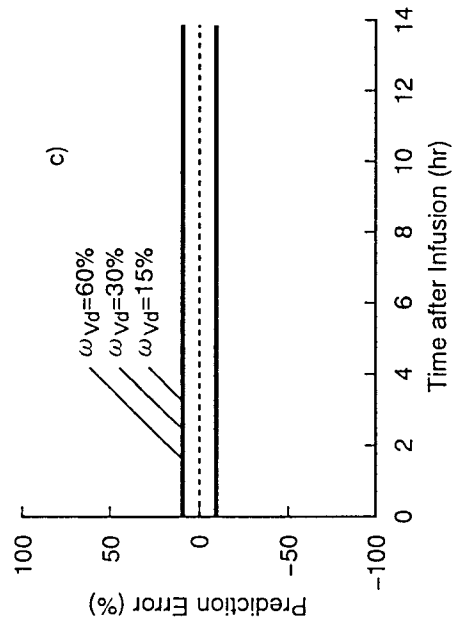
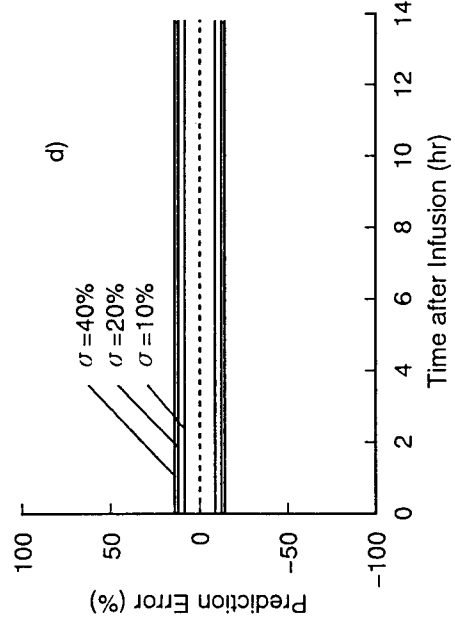
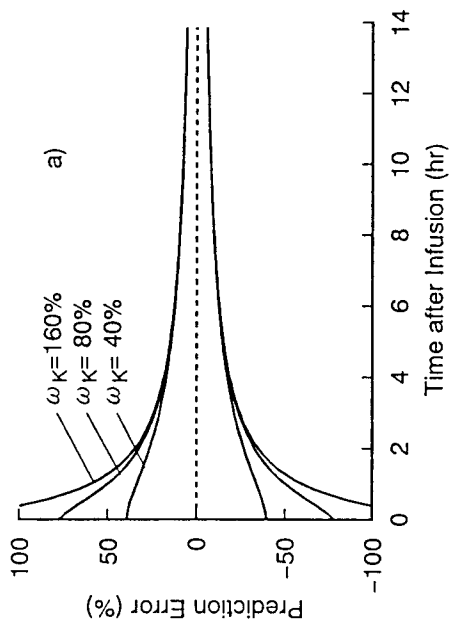
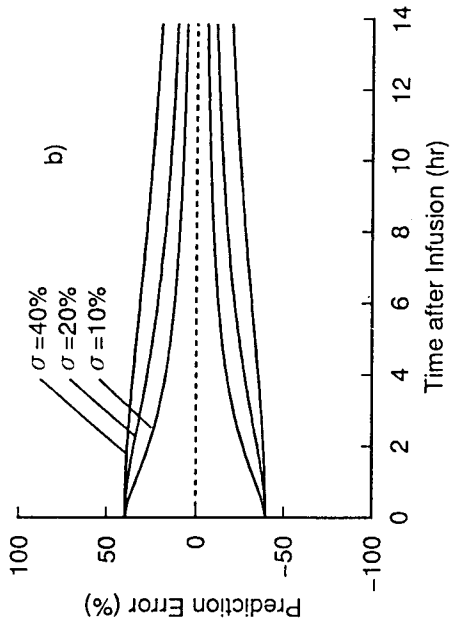
- a) Prediction error of CL estimates with the  $\omega_{cv,CL}$  value of 40% (basic value), 80% and 160% from the inner curves, respectively.  $\sigma_{cv}$  and  $\omega_{cv,Vd}$  were fixed to 10% and 15%, respectively.
- b) The influence of  $\sigma_{cv}$  on the estimation of CL. The value of  $\sigma_{cv}$  was changed to 10% (basic value), 20% and 40% while  $\omega_{cv,CL}$  and  $\omega_{cv,Vd}$  were maintained at 40% and 15%, respectively.
- c) Prediction error of Vd estimates with the  $\omega_{cv,Vd}$  value of 15% (basic value), 30% and 60% from the inner curves, respectively.  $\sigma_{cv}$  and  $\omega_{cv,CL}$  were fixed to 10% and 40%, respectively.
- d) The influence of  $\sigma_{cv}$  on the estimation of Vd. The value of  $\sigma_{cv}$  was changed to 10% (basic value), 20% and 40% while  $\omega_{cv,CL}$  and  $\omega_{cv,Vd}$  were maintained at 40% and 15%, respectively.





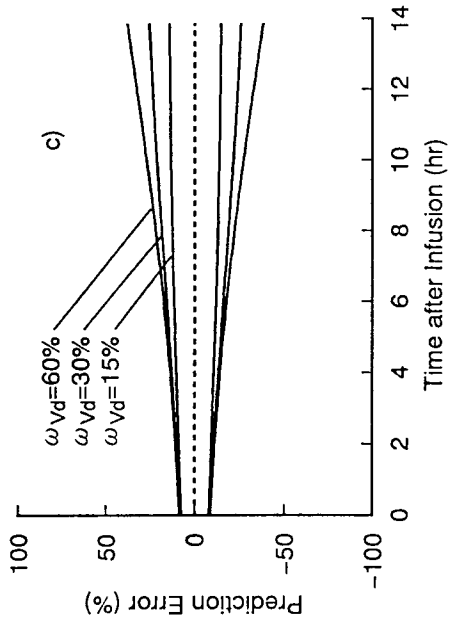
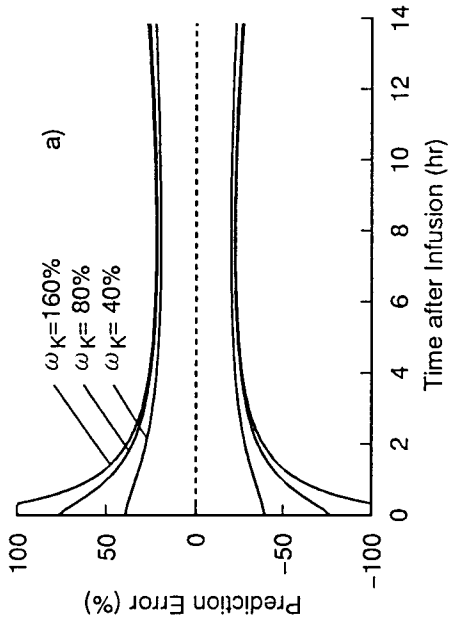
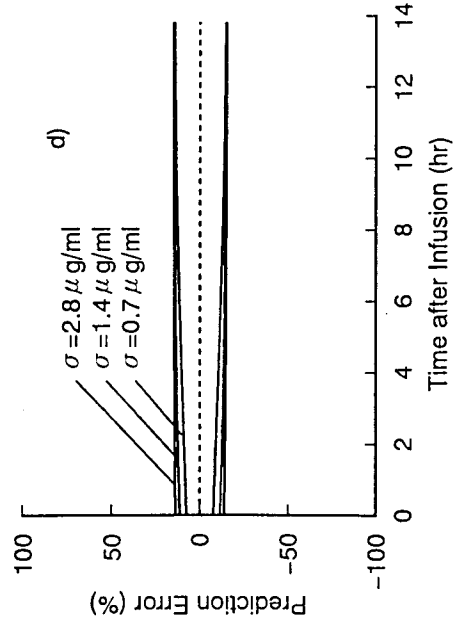
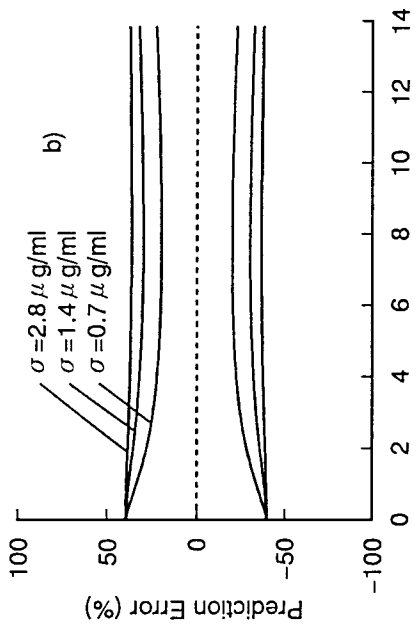
**Fig.15 Theoretical standard deviation of parameter estimates by the one-point Bayesian method (CL and Vd as basic structural parameters with the homoscedastic error model for intra-individual variability). The prediction errors were computed according to eq.33, and expressed as in Fig.14.**

- a) Prediction error of CL estimates with the  $\omega_{cv,CL}$  value of 40% (basic value), 80% and 160% from the inner curves, respectively.  $\sigma$  and  $\omega_{cv,Vd}$  were fixed to 0.7  $\mu\text{g/ml}$  and 15%, respectively.
- b) The influence of  $\sigma$  on the estimation of CL. The value of  $\sigma$  was changed to 0.7 (basic value), 1.4 and 2.8  $\mu\text{g/ml}$  while  $\omega_{cv,CL}$  and  $\omega_{cv,Vd}$  were maintained at 40% and 15%, respectively.
- c) Prediction error of Vd estimates with the  $\omega_{cv,Vd}$  value of 15% (basic value), 30% and 60% from the inner curves, respectively.  $\sigma$  and  $\omega_{cv,CL}$  were fixed to 0.7  $\mu\text{g/ml}$  and 40%, respectively.
- d) The influence of  $\sigma$  on the estimation of Vd. The value of  $\sigma$  was changed to 0.7 (basic value), 1.4 and 2.8  $\mu\text{g/ml}$  while  $\omega_{cv,CL}$  and  $\omega_{cv,Vd}$  were maintained at 40% and 15%, respectively.



**Fig.16 Theoretical standard deviation of parameter estimates by the one-point Bayesian method (K and Vd as basic structural parameters with the constant C.V. model for intra-individual variability). The prediction errors were computed according to eq.34, and expressed as in Fig.14.**

- a) Prediction error of K estimates with the  $\omega_{cv,K}$  value of 40% (basic value), 80% and 160% from the inner curves, respectively.  $\sigma_{cv}$  and  $\omega_{cv,Vd}$  were fixed to 10% and 15%, respectively.
- b) The influence of  $\sigma_{cv}$  on the estimation of K. The value of  $\sigma_{cv}$  was changed to 10% (basic value), 20% and 40% while  $\omega_{cv,K}$  and  $\omega_{cv,Vd}$  were maintained at 40% and 15%, respectively.
- c) Prediction error of Vd estimates with the  $\omega_{cv,Vd}$  value of 15% (basic value), 30% and 60% from the inner curves, respectively.  $\sigma_{cv}$  and  $\omega_{cv,K}$  were fixed to 10% and 40%, respectively.
- d) The influence of  $\sigma_{cv}$  on the estimation of Vd. The value of  $\sigma_{cv}$  was changed to 10% (basic value), 20% and 40% while  $\omega_{cv,K}$  and  $\omega_{cv,Vd}$  were maintained at 40% and 15%, respectively.



**Fig.17 Theoretical standard deviation of parameter estimates by the one-point Bayesian method (K and Vd as basic structural parameters with the homoscedastic error model for intra-individual variability). The prediction errors were computed according to eq.33, and expressed as in Fig.14.**

- a) Prediction error of K estimates with the  $\omega_{cv,K}$  value of 40% (basic value), 80% and 160% from the inner curves, respectively.  $\sigma$  and  $\omega_{cv,Vd}$  were fixed to 0.7  $\mu\text{g/ml}$  and 15%, respectively.
- b) The influence of  $\sigma$  on the estimation of K. The value of  $\sigma$  was changed to 0.7 (basic value), 1.4 and 2.8  $\mu\text{g/ml}$  while  $\omega_{cv,K}$  and  $\omega_{cv,Vd}$  were maintained at 40% and 15%, respectively.
- c) Prediction error of Vd estimates with the  $\omega_{cv,Vd}$  value of 15% (basic value), 30% and 60% from the inner curves, respectively.  $\sigma$  and  $\omega_{cv,K}$  were fixed to 0.7  $\mu\text{g/ml}$  and 40%, respectively.
- d) The influence of  $\sigma$  on the estimation of Vd. The value of  $\sigma$  was changed to 0.7 (basic value), 1.4 and 2.8  $\mu\text{g/ml}$  while  $\omega_{cv,K}$  and  $\omega_{cv,Vd}$  were maintained at 40% and 15%, respectively.

### 1-c 臨床データによる評価

20名の慢性閉塞性呼吸器障害患者を対象に 1点ベイズ法<sup>1</sup>の推定挙動への採血時間並びに母集団平均パラメータの影響について評価を行った。対象は全

**Table 9 Description of patient data used to assess the predictive performance of the one-point Bayesian method**

---

|   |                            |
|---|----------------------------|
| Total number of patients                    | 20                         |
| Number of males                             | 13                         |
| Number of patients with hepatic dysfunction | 0                          |
| Number of patients with smoking habit       | 7                          |
| Age (years)                                 | 51.5 ± 15.7 (22-75)        |
| Weight (kg)                                 | 55.8 ± 10.2 (42-79)        |
| Height (cm)                                 | 161.0 ± 8.4 (144.4-176.0)  |
| PaCO <sub>2</sub> (mmHg)                    | 42.9 ± 9.4 (35.4-78.7)     |
| Total number of measurements                | 101                        |
| Number of patients with 3 measurements      | 1                          |
| Number of patients with 4 measurements      | 3                          |
| Number of patients with 5 measurements      | 11                         |
| Number of patients with 6 measurements      | 4                          |
| Number of patients with 7 measurements      | 1                          |
| Theophylline dose (mg)                      | 200                        |
| Infusion rate (mg/hr/kg)                    | 7.71 ± 6.05 (1.69-27.78)   |
| Infusion duration (hr)                      | 0.803 ± 0.714 (0.160-2.58) |
| C <sub>0</sub> (µg/ml)                      | 2.12 ± 3.61 (0-11.6)       |

---

Mean ± S.D. (minimum-maximum value).

で安定期にあり、京都大学結核胸部疾患研究所に入院中の患者で、前章第2節での母集団パラメータの推定には用いなかった患者である。Table 9 に 1点ベイズアン推定に用いた患者の特徴を示した。喫煙患者 7名を含んでいたが、前章での検討により喫煙習慣は同様の母集団においてテオフィリン体内動態に影響を与えないことが示されている。また、肝障害患者は含まれていなかった。

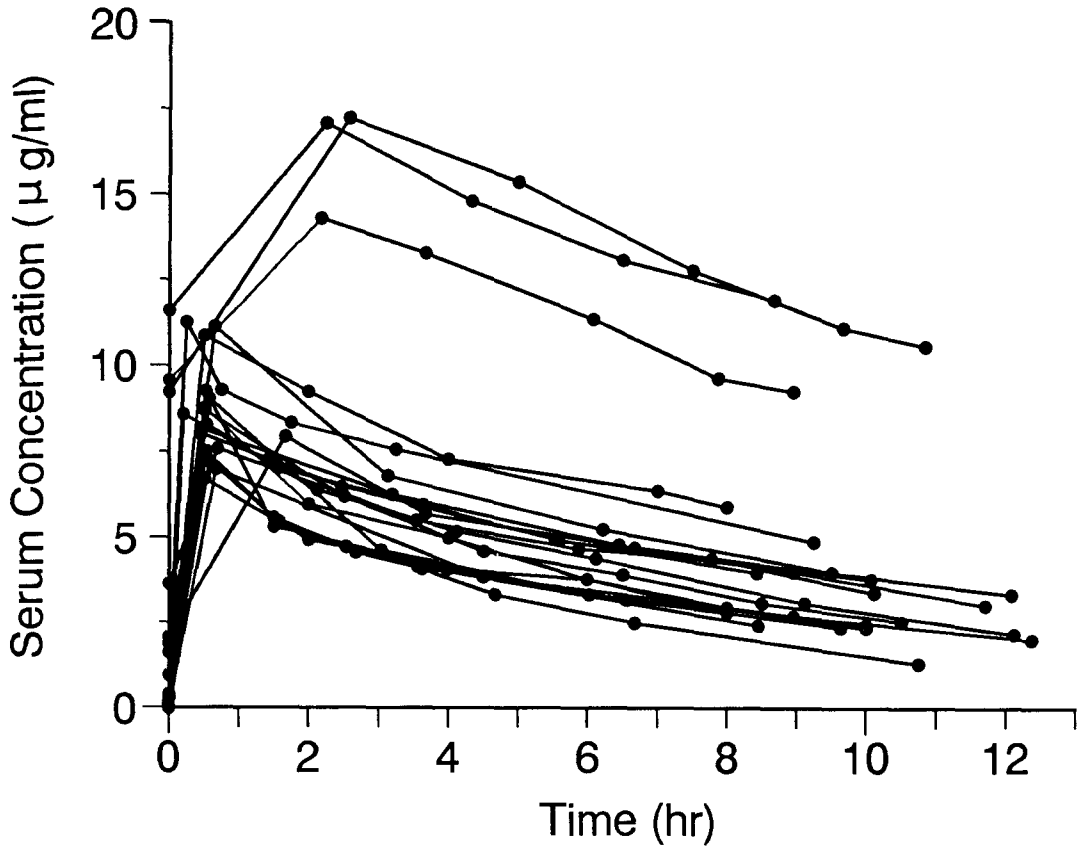


Fig.18 Serum concentration versus time profiles for theophylline in patients with chronic airway obstruction during and after a test dose. The drug was administered as an intravenous infusion starting at time zero, and its duration varied from 0.16 to 2.58 hr, depending on the patient's condition. The theophylline level at time zero represents the concentration just before starting an infusion ( $C_0$ ).

個々の患者の年齢、体重、動脈血炭酸ガス分圧(PaCO<sub>2</sub>)、テオフィリン投与量等には母集団パラメータ推定患者群の値(Table 6)と相違はみられなかった。患者一人あたりの採血点数は3-7点で、採血時間は定速注入終了後0から12時間の範囲であった(Fig.18)。個々の患者におけるテオフィリン体内動態パラメータは各患者について1点の採血データのみを用いたベイジアン法により推定した。例えば、ある患者に関して5点の測定点がある場合にはそれぞれの1測定点を用いたベイジアン推定を5回行い、採血時間に関連した推定挙動の評価を行った。定速注入終了後のテオフィリンの血清濃度推移は、定速注入を始める直前の血清濃度(Table 9のC<sub>0</sub>)を補正しeq.36に従うとした。ベイジアン法の実行にはプログラム MULTI2(BAYES)<sup>104)</sup>を用い、パーソナルコンピュータにより行った。

ベイジアン法では事前確率として母集団体内動態パラメータが必要となる。ここではTable 10に示した3種のパラメータセットを用いた。

Table 10 Population pharmacokinetic parameters of theophylline in patients with stable chronic airway obstruction

| Parameter set    | A                                    | B      | C      |
|------------------|--------------------------------------|--------|--------|
| CL (L/hr/kg)     | $\exp(-3.78+0.0233 \text{ PaCO}_2)$  | 0.0608 | 0.0343 |
| Vd (L/kg)        | $\exp(-1.12+0.00934 \text{ PaCO}_2)$ | 0.488  | 0.488  |
| $\omega_{CV,CL}$ | 38.5                                 | 41.1   | 41.1   |
| $\omega_{CV,Vd}$ | 12.5                                 | 13.6   | 13.6   |
| $\sigma_{CV}$    | 10.6                                 | 10.9   | 10.9   |

パラメータセット Aは前章第2節で最終的に得られた肝障害のない患者群のパラメータ(Table 8)であり、CL、Vdの説明変数としてPaCO<sub>2</sub>を含む。パラメータセットB、Cは、Table 7での第一の選択段階で得られたより単純な要因効果モデルで、PaCO<sub>2</sub>の関係を含まない。パラメータセットB、CもまたNONMEMによる推定値でそれぞれ肝障害のないあるいは肝障害のある患者群のパラメータを示すが、二つのパラメータセットではCLの平均値のみが異なる。パラメータセッ



トAはPaCO<sub>2</sub>を個体間変動を説明する因子として含むため、 $\omega$ の値はパラメータセットB、Cに比べやや小さくなっている。

Fig.19は1点ベイジアン法を模式的に表したものである。黒丸はベイジアン法に用いた血中薬物濃度測定点を、白丸は解析には用いなかった測定点を表す。実線は1点ベイジアン法により予測された血中薬物濃度推移を表すが、推定に用いなかった測定点(○)との対応は良好である。またPatient 2は肝障害の

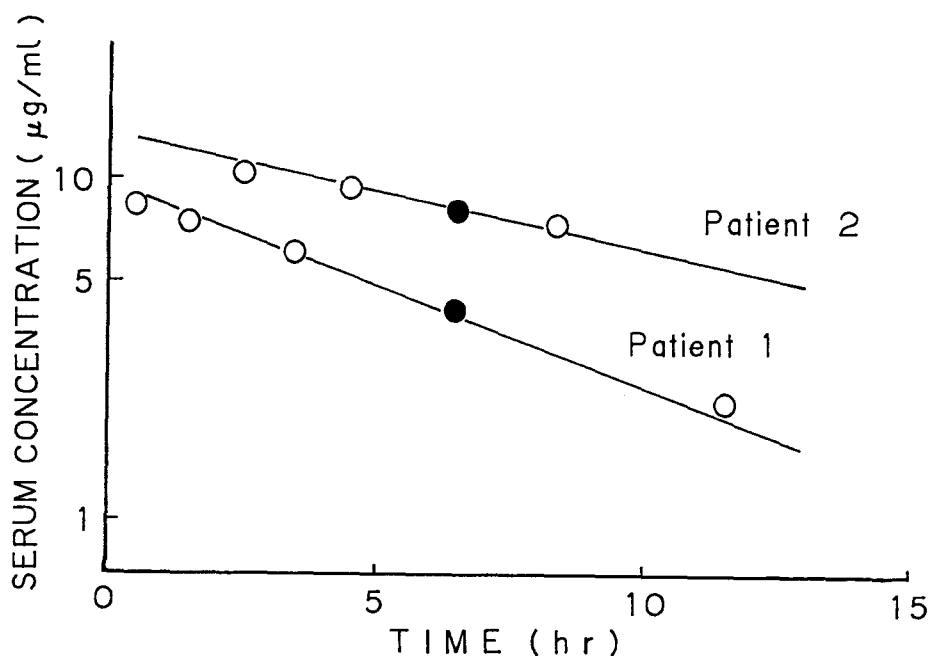


Fig.19 Typical example of the one-point Bayesian method. The closed circle (●) represents a serum concentration used in the Bayesian method and open circles (○) represent other serum concentrations which were not used in the calculation. The solid lines represent the calculated serum concentration-time profiles using one-point observation (●). Patient 1 has normal hepatic function and Patient 2 is complicated with hepatic dysfunction.

ある患者を表すが、こうした患者にも肝障害のある患者群の母集団パラメータを用いた場合には良好な予測結果となっている。

パラメータ推定の予測精度を評価するため、ある患者における採血時間 $t_i$ での推定誤差 $PE_{ij}$ (%)を次式に従い算出した。

$$PE_{ij}(\%) = \frac{\hat{\theta}_{ij} - \theta_j}{\theta_j} \times 100 \quad (\text{eq. 42})$$

ここで $\hat{\theta}_{ij}$ は、時間 $t_i$ における測定血中濃度を用いた時の $j$ 番目の薬物動態パラメータの予測値である。 $\theta_j$ はその患者の真のパラメータ値を表し、その患者の全ての血中濃度データを用いて通常の方法<sup>105)</sup>により得られた値であると仮定した。さらに1点ベイズ法により推定されたパラメータを用いて予測される血清中濃度の精度(precision)および確からしさ(accuracy)について評価した。精度の指標としては $k$ 番目の患者の血清中濃度予測値の $RMSD_{ik}$ (Root Mean Squared Difference)を、確からしさの指標として偏り( $BIAS_{ik}$ )を次式に従い算出した。<sup>106)</sup>

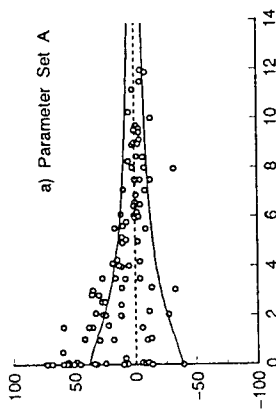
$$RMSD_{ik} = \sqrt{\frac{1}{n_k} \sum_{l=1}^{n_k} (\hat{C}_{kl} - C_{kl})^2} \quad (\text{eq. 43})$$

$$BIAS_{ik} = \frac{1}{n_k} \sum_{l=1}^{n_k} (\hat{C}_{kl} - C_{kl}) \quad (\text{eq. 44})$$

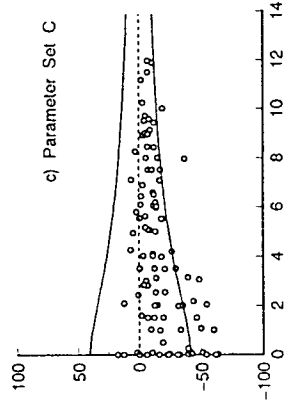
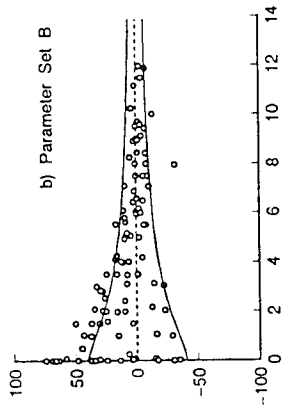
ここで $\hat{C}_{kl}$ は時間 $t_i$ での測定データ1点を用いたベイズ法による予測血清濃度を、 $C_{kl}$ は測定血清中濃度を表す。 $n_k$ は $k$ 番目の患者の測定点数を表す。

Fig. 20は全ての患者のCL、Vd推定のPEを1点ベイズ法に用いた採血時間に対してプロットしたものである。各点はeq. 42により計算される $PE_i$ を表す。図中の曲線はeq. 34より得られる理論的標準偏差を示す。Vdの推定に関しては、各点はほぼ理論的標準偏差内にあるが(Fig. 20d-f)、パラメータセットCを用いた時のCL推定のPEは明らかに負の偏りを示した(Fig. 20c)。これは目的となる

## CLEARANCE

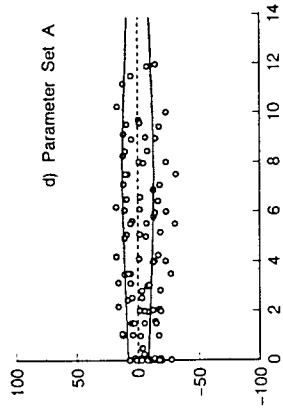


Prediction Error (%)

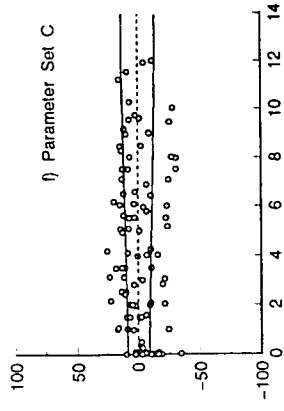
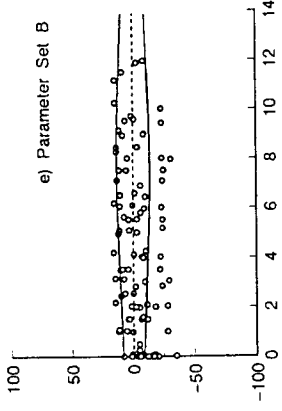


Time after Infusion (hr)

## DISTRIBUTION VOLUME



Prediction Error (%)

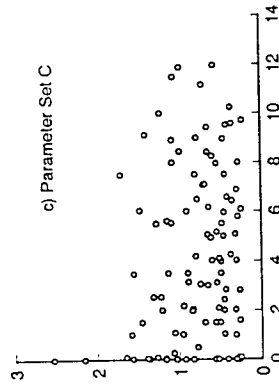
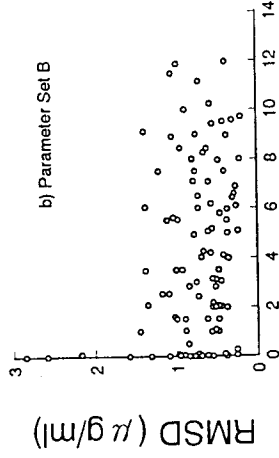
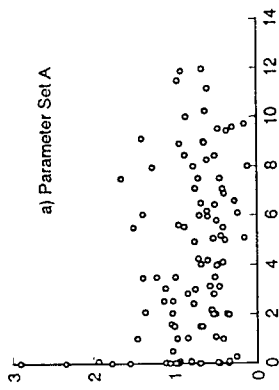


Time after Infusion (hr)

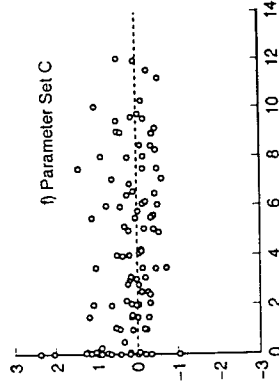
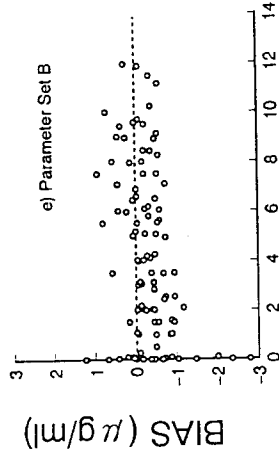
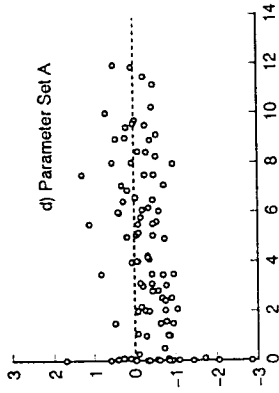
**Fig.20 Prediction errors for the estimation of CL (a-c) and Vd (d-f) in the one-point Bayesian method using the theophylline data.**

The PE in individual patients was obtained according to eq.42 and plotted against the sampling time (open circles). The solid curves reveal the theoretically-computed standard deviation of parameter estimates according to eq.34.

a), d) Parameter set A was used as the population pharmacokinetic parameters; b), e) Parameter set B; c), f) Parameter set C.



Time after Infusion (hr)



Time after Infusion (hr)

**Fig.21** RMSD (a-c) and BIAS (d-f) for theophylline concentrations predicted by the one-point Bayesian method. RMSD and BIAS were calculated according to eq.43,44, respectively, using the parameters estimated by the one-point Bayesian method, and plotted against the sampling time.

a), d) Parameter set A was used as the population pharmacokinetic parameters; b), e) Parameter set B; c), f) Parameter set C.

母集団と一致しない母集団パラメータを用いたことに起因する。パラメータセットA、Bを用いた場合には、CL、Vdの推定共に同じ推定結果となった。CLを推定する場合、採血時間が早いほどPEは大きく、適切な母集団パラメータセットを用いた場合でも正の偏りを示した。Vdを推定する場合には、そのPEは採血時間の影響をほとんど受けなかった。実際の臨床データを用いて得られたこれらの傾向は前節で示した理論的考察並びにシミュレーション曲線と良く一致した。

Fig.21は血清テオフィリン濃度を予測したときの精度(RMSD)および確からしさ(BIAS)に対する採血時間の影響を示したものである。RMSDおよびBIASはそれぞれeq.43、44に従い算出し、1点ベイジアン法による個々の体内動態パラメータの推定に用いた採血時間に対してプロットした。定速注入直後の値( $t_1=0$ )を用いた場合の精度が最も悪かったが、RMSDの採血時間依存性は $t_1=0$ 以外の時間では明らかではなかった。一方、BIASは明らかな採血時間依存性を示しており、採血が薬物の半減期以前で行われた場合に負の偏りが認められた(Fig.21d-e)。不適当な母集団パラメータ(セットC)を用いた場合には予測値は正の偏りを示した(Fig.21f)。テオフィリンの治療濃度範囲( $8-20 \mu\text{g/ml}$ )を考慮し、推定誤差として $1 \mu\text{g/ml}$ をRMSD、BIASの許容範囲と考えた場合、 $1 \mu\text{g/ml}$ を越える点はRMSDに関して、パラメータセットA、B、Cでそれぞれ23%、20%、29%であり、BIASに関してはそれぞれ9%、7%、14%であった。これらの結果より、パラメータの説明変数として $\text{PaCO}_2$ を加えてもベイジアン法の推定挙動は改善されないものの、44%小さな母集団平均CL値(パラメータセットC)を用いた場合には、明らかな偏りと推定精度の低下をもたらすことが示された。

#### 1-d 考察

1点ベイジアン法は、日常得られるデータから薬物動態に基づく投与量の個別化を可能とするため、薬物療法において幅広い応用性をもつ。本章では採血時間、母集団パラメータ、薬物動態モデルの1点ベイジアン法による予測挙動への影響についてまず理論的考察に基づくシミュレーションにより検討し、さらに慢性の呼吸器障害患者より得られたテオフィリンデータを用いて確認した。その結果、採血時間と母集団パラメータの選択は1点ベイジアン法の推定挙動の重要な因子であることが明らかとなった。

1点ベイズ法での体内動態パラメータの推定は一般的には採血時間に依存した。しかし、その依存の程度は個体間・個体内変動の大きさや用いる薬物動態モデル（パラメータの設定法）により異なることがわかった。CL推定の推定誤差における採血時刻依存性は、K推定の場合と同様の結果となったが、Vdを推定する際の傾向はCLを推定する場合とは異なる結果となった。CL推定において示された顕著な採血時間依存性は、シミュレーションによる検討結果と同様、実際のデータ解析においても確認された。その際、絶対誤差モデルにおいては、 $\widehat{\text{var}}(\text{CL})$ の値を最小とする最適採血時間が理論的に求まることが示されたが、相対誤差モデルでは最適時間は存在しないことが示された。CLを予測するための最適時間に関しては、ベイズ法を用いない試験投与時の1点の血中薬物濃度測定値に基づく予測法において報告されており、その薬物の母集団半減期の1.44倍であるとされている。<sup>1,107)</sup>これはFig.15aに示した絶対誤差モデルの場合と一致する。シミュレーションによる検討の結果(Fig.15、16)、推定誤差の大きさは薬物の半減期(5.5時間)以降であればほぼ同程度であることが示されており、採血が半減期以後で行われる場合には、CLの予測精度については同等の結果が得られると考えられる。血清薬物濃度は時間とともに減少し、その結果測定誤差は低濃度域で大きくなること、またVdの推定誤差は基本条件( $\omega_{\text{Vd}}=15\%$ )下で採血時間にほとんど依存しないことから判断して、実際には定速注入終了後半減期の約1~1.5倍(テオフィリンの場合には5.5~8.3時間)が1点ベイズ法における最適採血時間と結論づけることができる。

また、上記の検討の結果、個体間変動値( $\omega$ )の大きさも偏りのないパラメータ推定の予測誤差に影響を与えた。 $\omega$ 値が小さいほど、CL、Vd、Kのいずれの場合にも予測誤差は小さくなり、また採血が薬物の半減期より前で行われた場合の推定挙動をも改善した。個体内変動( $\sigma$ )に関しては、 $\sigma$ 値が小さいほど一般的に全ての採血時間における予測性を改善した。しかし今回用いたテオフィリンのパラメータでは、Vdは比較的小さな $\omega$ 値(15%)であり、 $\sigma$ 値を小さくしても予測精度の改善は明確には見られなかった(Fig.14-17d)。またVd推定の予測誤差の採血時間依存性は、用いる薬物動態モデルや誤差モデルに依存して大きく変化するという、興味深い知見を得るに至った。

テオフィリン服用中の患者より得られた臨床データを用いて、個々の患者に対するベイズ法の推定誤差を、その患者の全ての血中濃度データを用いた通常最小二乗法と比較検討した。得られたPE値は明らかな採血時間依存性を



示し、理論的考察に基づくシミュレーション曲線と良好な対応を示した。クリアランス推定の採血時間依存性は顕著で、テオフィリンの一半減期以前の採血ではCLの予測に偏りがみられ、その結果血清中濃度の予測にも偏りが認められた(Fig. 20、21)。一方、Vdの推定挙動はシミュレーション同様全ての採血時間でほとんど変化しなかった。

さらに母集団動態パラメータの1点ベイジアン法の挙動への寄与について三種のパラメータセットを用いて検討した。CLとVdの説明変数としてPaCO<sub>2</sub>を含んだパラメータセットAは、説明変数を含まないパラメータセットBと比較し推定精度を向上させなかった(Fig. 20、21)。一方、44%負の偏りのある平均クリアランス値(パラメータセットC)を用いた場合には明らかに個々のCLの予測は偏り(Fig. 20c)、結果として血清中濃度の精度、確度が共に低下した(Fig. 21c、f)。Vdの推定は偏りのある母集団平均CLの影響を受けなかった。したがって、母集団平均パラメータの大きな偏りはベイジアン推定に重大な偏りをもたらすが(パラメータセットBとC)、平均値の小さな違いは必ずしもベイジアン推定の精度に影響を与えないことが明らかとなった(パラメータセットAとB)。

Vozechら<sup>100)</sup>はリドカインとメキシチレンの全身クリアランス値の30%の偏りはベイジアン法での予測性にほとんど影響を与えないことを報告している。これらの薬物の個体間変動はそれぞれ60%、42%と母集団平均クリアランス値の偏りよりも大きく、<sup>100)</sup>一方、本研究で用いたテオフィリンの $\omega_{CL}$ は約40%であり、44%の偏りよりも小さかった。したがって、偏りのある母集団平均パラメータ値のベイジアン法の予測性への影響は個々の薬物のもつ個体間変動の大きさに関連すると考えられる。 $\omega$ の値が小さいときには、適切な母集団平均パラメータの選択は1点ベイジアン法による個々の体内動態パラメータの精確な推定のために特に重要と考えられ、バルプロ酸、<sup>93)</sup>アミノグリコシド、<sup>94)</sup>テオフィリン<sup>101)</sup>に関して報告された結果と一致する。

以上まとめると、1点ベイジアン法の推定挙動は採血時間、母集団パラメータの平均値、個体間・個体内変動値、薬物動態モデルの関数として表された。これらの要因の影響は理論的考察に基づくシミュレーションにより検討し、さらに慢性の閉塞性呼吸器障害患者より得られたテオフィリンデータを用いて確認した。その結果、採血時間、母集団動態パラメータの適切な選択は1点ベイジアン法による精確な個々の薬物動態パラメータの推定を行うために重要であると考えられる。

## 第2節 個別化投与設計への応用

前節では、個別化投与設計を行う際に有用な手法となるベイジアン法の推定精度に影響を与える因子について検討し、テオフィリンのTDMを行う上で留意すべき点について明らかにした。本節では、実際にTDMの依頼があり薬剤師の立場から個々の患者に適した薬物療法に参画できた症例の中で、ベイジアン法が有効となった例と有効とはならなかった例について紹介する。

### 2-a 個別化により喘息のコントロールが可能となった一例

一般に、テオフィリンの喘息に対する治療濃度範囲は10~20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ といわれているが、血清中濃度がこの治療範囲にさえあれば全ての患者の発作がコントロールできるというわけではなく、個々の患者により治療濃度範囲はさらに狭いものとなる場合がある。ここでは患者の薬効の個体差を考慮しベイジアン法を用いた投与設計を行った結果、発作のコントロールが可能となった症例について述べる。

患者は気管支喘息発作のため京都大学医学部附属病院小児科に入院となった11歳男児であり、体重は45kgであった。3歳2か月より気管支喘息が発症し、以後入退院を繰り返していた。今回の入院当初よりアミノフィリンの静脈内持続注入とステロイドの経口投与が行われていたが、入院10日目にステロイド投与は中止され、アミノフィリンの静脈内投与から徐放性テオフィリン製剤（テオドール錠）600 mg、2x分に処方変更となった。経口投与に変更後12日目にテオフィリン血清中濃度の依頼があり、服薬前、服薬後4時間後並びに7.5時間後の3検体を受け付けた。蛍光偏光免疫法(TDx)による血清中濃度測定の結果によれば、それぞれの検体中濃度は10.8、12.7、11.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり、通常の治療濃度範囲内にあると考えられたが、患者の症状が不明のため主治医に問い合わせたところ、現在発作が頻発するため増量したいとの意向であった。そこで3点の測定値を用い、ベイジアン法による速度論的解析を行い、テオドール800 mg、2x分に増量した場合のシミュレーション結果とあわせて医師に回答した(Fig. 22a)。その結果、処方ではテオドール800 mg、2x分に変更され発作は完全に治まったとのことであった。前回の血中濃度測定から二週間後の退院前日に再度測

定依頼を受けた 3検体の濃度はそれぞれ15.1、18.6、17.7 $\mu\text{g/ml}$ とほぼ予測通りであり(Fig.22b)、治療濃度範囲内の上限近くであった。

本症例のように比較的状态の安定した患者ではベイジアン法による予測は良好で、患者の薬効の個体差をも考慮することにより、個々の患者に最適な投与設計を行うことが可能と考えられる。

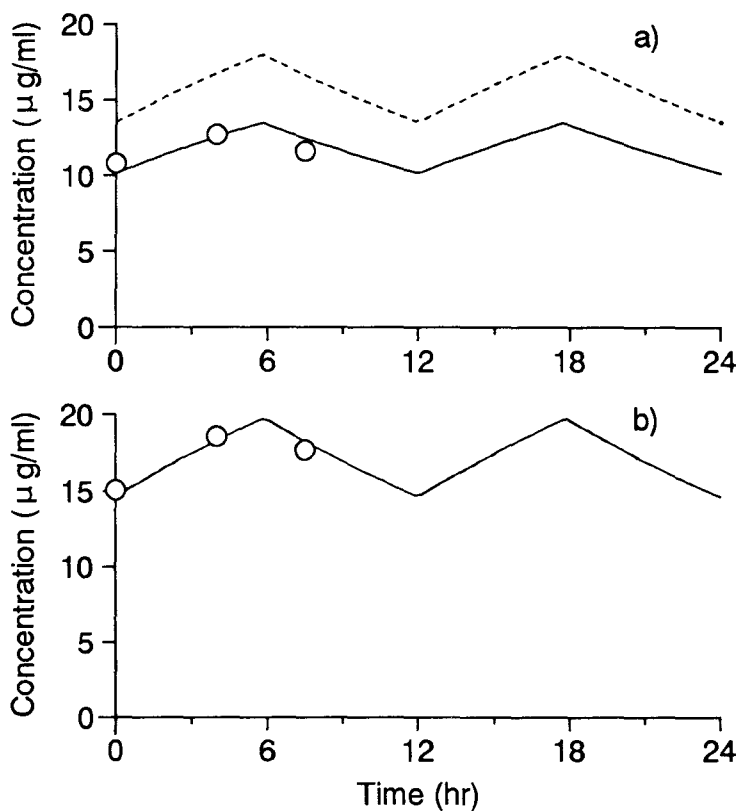


Fig.22 Serum concentrations of theophylline in a pediatric patient with asthma

a)Theodur 600 mg/day. Dotted line represents the prediction for Theodur 800 mg/day.

b)Theodur 800 mg/day.

## 2-b 薬剤性肝障害により体内動態が急変した一例

第Ⅱ章第2節でのpopulation解析において、安定期にある成人のテオフィリン全身クリアランスは平均60ml/hr/kgであり、肝障害のある患者では約40%低下することが示された。ここでは基礎疾患として心疾患のある患者で、薬剤性肝障害により短期間の間に体内動態が変動したため、ベイジアン法による予測が有効とはならなかった症例について述べる。

患者は、拡張型心筋症とネフローゼ症候群と診断された72歳の男性で、腎生検目的で京都大学医学部附属病院第三内科に入院中であった。入院約1カ月前より喘鳴が生じ始め呼吸困難を訴えていた。入院中、心不全悪化のため体外超濾過法にて除水中に気管支喘息を発作を発症し、同時に肺炎を併発した。気管支喘息発作発症後、アミノフィリンの静脈内持続注入が開始となった。注入開始後16日目に血清中テオフィリン濃度測定に依頼があり、蛍光偏光免疫法(TDx)により測定したところ9.7 $\mu$ g/mlであった(Fig.23)。この時点でのネオフィリン投与量は375 mg/day(体重50kg)であり、血清中濃度が定常状態にあると仮定すれば、テオフィリンの全身クリアランスは25.8 ml/hr/kgであり、心不全によるクリアランス低下<sup>2)</sup>を考慮すれば妥当な値と考えられた。コントロール不十分のため、アミノフィリンは600 mg/dayまで増量され、増量後4日目に再び血清中濃度の依頼があった。この時点でのテオフィリン濃度は46.7 $\mu$ g/mlであり中毒域に達しており、中枢症状、不整脈、痙攣などをおこす危険があったため主治医に報告した。心拍数110前後と頻脈傾向がみられるものの普段より傾眠傾向のある患者であり、目立った副作用はみられないとの回答であった。この時のクリアランスは8.6 ml/hr/kgと算出され、半減期は60時間以上と考えられることから、2、3日の休薬が必要であることをコメントした。この患者の肝機能はそれまでは正常であったが、この日の検査値はGPTが309 IU/L、GOTが470 IU/Lと異常高値を示しており、主治医によれば抗生物質による薬剤性の肝障害が疑われるとのことであった。6日後には肝機能検査値は正常化しており血清中濃度も十分下がったので、必要ならば投与を再開することをコメントした。

前章におけるpopulation解析によれば肝障害によりテオフィリンクリアランスは約40%低下することが示されたが、個々の患者によりその程度は異なり、さらに本症例のような急性肝障害時にはその程度は変動し、個体内変動

因子ともなり得ることが示された。このような患者では、ベイジアン法による予測は有効ではなく、臨床検査値を考慮した緻密な個別化投与設計が必要と考えられる。

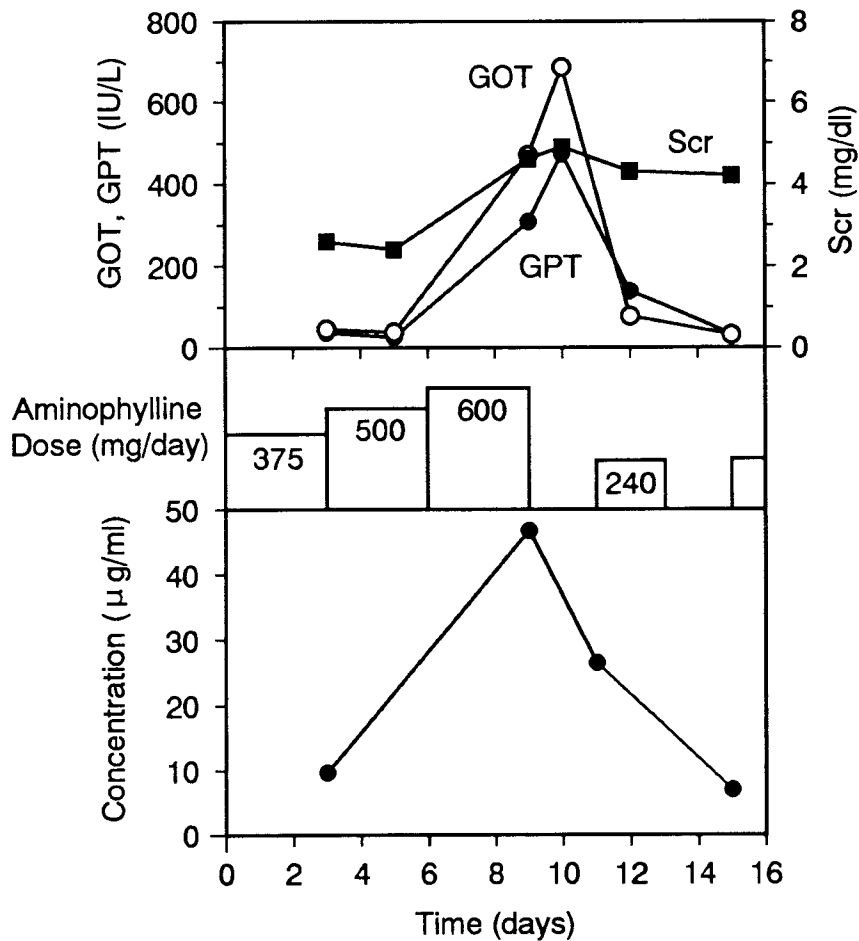


Fig.23 Serum concentrations of theophylline and values of clinical laboratory tests in an acutely ill patient with asthma

### 第3節 テオフィリン血中濃度モニタリング指針

本研究により得られた知見をテオフィリン治療モニタリング指針として以下にまとめた。

- 1)喘息発作時には体内動態が変動しやすい状態にあるため頻繁な血中濃度のモニタリングを行う。
- 2)症状の安定した寛解期には頻繁なモニタリングを必要とはしないが、急性期と寛解期では変動因子の寄与が異なることを考慮する。
- 3)採血にあたっては最適採血時間を選択する。
- 4)ベイジアン法では対象とする患者に対応した母集団パラメータを選択する。
- 5)個別化投与設計には患者の臨床検査値に配慮し、薬効の個体差をも考慮する。

## 結 論

以上、著者は三章にわたり、テオフィリン体内動態における変動要因の解明と臨床応用に関する研究を行い、次のような結論を得た。

### (I) 閉塞性呼吸器障害時における体内動態の変動要因の解明

低酸素ガスを吸入させることにより作製した低酸素血症モデルラットでは、テオフィリンの肝クリアランス並びに腎クリアランスは正常ラットの約 1/3 に低下することが認められた。テオフィリンの場合、肝クリアランスが全身クリアランスの大部分を占めることから、低酸素血症時の肝クリアランスの低下がテオフィリンの体内動態変動の主たる要因であると考えられた。また、このクリアランスの低下は動脈血ガス分圧に依存した迅速な可逆的变化であることが示され、低酸素血症時には血流分布の変化や薬物代謝系への酸素供給の制限等によりクリアランスが変動することが明らかとなった。したがって、低酸素血症は閉塞性呼吸器障害患者の急性期にみられるテオフィリン体内動態の迅速かつ大きな個体内変動を説明する因子となり得ると考えられた。

次に、ロイコトリエンC<sub>4</sub>により誘発した喘息発作モデルモルモットを用い、テオフィリン体内動態解析を行った結果、分布容積の増大並びに血液からの消失の遅延が認められた。同時に、著しい血漿成分の漏出と血清総蛋白濃度の低下、および代謝性アシドーシスが認められ、これらが血漿中テオフィリン蛋白結合率の低下と分布容積の増大を引き起こしたと考えられた。また、蛋白結合率が低下したにもかかわらず消失が遅延したことから、肝固有クリアランスの低下による肝クリアランス低下が示唆された。これらの結果よりロイコトリエン類を介した病態生理学的変化は、呼吸器疾患患者の急性期における個体内変動因子となり得ることが示された。

### (II) 臨床データを用いた体内動態解析

患者におけるテオフィリンの体内動態を把握するため、喘息発作時の小児患者データを用いて population pharmacokinetics による解析を行った。その結果、個体間変動、個体内変動の分離評価が可能となり、発作時の患者での個体内変動は安定期の患者の約 2 倍であることが示され、より頻繁なテオフィリン血中濃度のモニタリングが必要であることが明らかとなった。

慢性閉塞性呼吸器障害患者の安定期におけるデータを用いた解析では、テオフィリンクリアランス並びに分布容積は動脈血炭酸ガス分圧と正の相関を示すことから、テオフィリン体内動態が呼吸器障害の重症度に応じて変化することが明らかとなった。また、本患者データでは動脈血炭酸ガス分圧と酸素ガス分圧並びに動脈血pH間に負の相関が認められ、ガス測定値と分布容積との関係は喘息発作モデル動物で認められた機序により説明された。一方、クリアランスに関しては急性低酸素血症モデル動物で認められた機序では説明できず、低酸素血症の急性期と慢性期ではその作用機序が異なることが示唆された。さらに、テオフィリンクリアランスは肝障害により低下することが示され、得られた慢性の閉塞性呼吸器患者におけるテオフィリンの母集団パラメータはベイジアン法による個々の患者の血清中濃度推移の予測に利用できるものと考えられた。

### (Ⅲ) 血中薬物濃度に基づく個別化投与設計

個別投与計画を実施する上で有効となる1点ベイジアン法の予測精度に対する採血時間並びに母集団パラメータの影響について評価した。まずシミュレーションによる検討では、定速注入終了直後の採血時間におけるクリアランス（あるいは消失速度）の予測精度は悪いが、個体間変動値を小さくすることにより予測精度の向上が認められた。一方、定速注入終了後一半減期以上経過した時点では個体間変動値の影響は受けにくく、全般的な予測精度の向上が示された。分布容積の予測精度に関しては、テオフィリンのように個体間変動値の小さな薬物では採血時間の影響は少なく、いずれの時間でも精度良く求められることが示された。また、より小さな残差変動値を用いることにより、いずれのパラメータの予測精度も向上することが明らかとなった。

臨床データによる検討では、ベイジアン法での動態パラメータの推定誤差はシミュレーションによる結果と良く一致した。また平均クリアランス値に個体間変動分散と同程度の偏りのある母集団パラメータを用いた場合には、個々の動態パラメータの予測は偏り、血清中濃度の予測精度も悪くなることが示された。これらの結果より、1点ベイジアン法による推定精度の向上のためには、適切な採血時間と母集団パラメータの選択が必要で、各種病態生理学的要因と関連づけたpopulation pharmacokinetic parametersの整備が重要であることが明らかとなった。

さらに、実際にTDMの依頼があり個々の患者に適した薬物治療に参画できた



症例により、臨床検査値を考慮した緻密な個別化投与設計と患者の薬効の個体差をも考慮することが、個々の患者に最適な薬物療法を行うために不可欠であることが示唆された。

以上、著者はテオフィリン体内動態における変動要因について病態モデル動物を用いた検討により明らかにし、それらの要因の患者での寄与につき臨床データ解析を行うことにより評価した。さらに、ベイジアン法に基づく個別投与設計に際しての種々の知見を得た。これらの研究結果は、個々の患者に適したテオフィリン治療を行う上で有用な情報となり得ると考える。

## 謝 辞

終わりに臨み、本研究に際して終始御懇篤なる御指導、御鞭撻を賜りました京都大学堀 了平教授に衷心より深甚なる謝意を表します。

また、種々の有益な御助言と御指導を戴いた神戸大学奥村勝彦教授、京都大学安原真人助教授、同谷川原祐介講師に深謝します。

さらに、有益な御助言を戴いた京都大学医学部附属病院薬剤部の諸氏、並びに実験の一部に御協力を戴いた京都大学結核胸部疾患研究所川勝一雄氏に深く感謝致します。

## 実験の部

### 第I章 実験の部

#### 第1節 低酸素血症の体内動態への影響

##### (1) 試薬

アミノフィリンは、エーザイのもの、テオフィリンは半井化学のもの、7-βヒドロキシエチルテオフィリン、1-メチル尿酸、1,3-ジメチル尿酸はシグマ社のもの、その他の試薬は市販特級品を使用した。

##### (2) 静脈内急速投与時の体内動態

ラットはエーテル軽麻酔下に、大腿部動、静脈にヘパリン生理食塩水溶液(100U/ml)を満たしたカニューレ(SP31、夏目製作所)を挿入し、採尿を行うためにシリコン製の膀胱カニューレを施した。採血は、静脈内急速投与後、2、6、15、30、60、120、240、360分に動脈カテーテルより各0.25ml行い、各々の採血後、カテーテル内はヘパリン溶液で静かに洗い流した。血漿は速やかに10000回転で1分間遠心分離(Eppendorf Microcentrifuge 5415, Eppendorf Gerätebau)し、測定まで-10°Cで保存した。尿検体も同様の条件で保存した。

##### (3) 血漿中蛋白結合率とヘマトクリット値の測定

血漿中蛋白結合率の測定には多量の血漿を必要とするため、静脈内急速投与の実験とは別の動物より、同様の手順で低酸素ガスを吸入させ、テオフィリン投与の1時間後に1mlの採血を行った。血漿中蛋白結合率はMicropartition system (MPS-1, Amicon)を用いた限外濾過法により求めた。すなわち、血漿をYMT限外濾過膜(Amicon)を備えた限外濾過装置の中に入れ、室温下、1400回転で15分間遠心分離した。テオフィリンの膜への吸着はほとんど無視できる程度で、1、5、10μg/mlの3種の濃度で2%以下であることを確認した。ヘマトクリット値はmicrohematocrit遠心機を用いて求めた。

##### (4) 静脈内定速注入時の体内動態

ラットはエーテル軽麻酔下に、大腿部動、静脈にヘパリン溶液を満たしたカ

ニューレを挿入した。血漿中濃度を素早く定常状態に達するために、テオフィリンとして5mg/kgに相当するアミノフィリンを静脈内に急速投与し、その後血漿中濃度を維持するため、テオフィリンとして0.4 mg/kg/hrに相当するアミノフィリンを自動点滴ポンプ（夏目製作所）を用いて、静脈内に定速注入した。約0.1mlの血液を点滴開始後30分、1時間その後1時間おきに10時間まで採取した。

#### (5) 血漿中テオフィリンの定量

血漿中テオフィリン濃度の測定は、採取後24時間以内に、Kawakatsuらの方法<sup>78)</sup>を若干変更して行った。すなわち、0.1 ml血漿（ただし静脈内定速点滴投与の実験においては0.05 ml血漿）に0.1 mlの精製水と1 mlの内部標準溶液（1μgの7-β-ヒドロキシエチルテオフィリンを1 mlの精製水に溶かしたもの）を加え、さらに、10%(v/v)イソプロパノールクロロホルム混液4 mlを加え、10分間混合した後、3000回転で10分間遠心分離した。有機層は緩やかな窒素気流下に蒸発乾固した後、200μlの移動相に再溶解し、そのうち30μlを高速液体クロマトグラフィー（HPLC）に注入した。HPLCはLC-3A（島津製作所）を、検出器には紫外分光光度計SPD-2A（島津製作所）を用い、波長は280 nmに設定した。固定相は逆相Cosmosil 5C18カラム（4.6mm i.d.×15 cm、粒子径5μm、半井化学）を用い、移動相の組成は94%酢酸緩衝液（10 mM、pH5.0）、5%アセトニトリル、1%テトラヒドロフランであった。流速は2.3 ml/minに、カラム温度は40°Cに保った。

#### (6) 尿中テオフィリン並びに代謝物の定量

尿中テオフィリン並びに主な代謝物である1-メチル尿酸(1-MU)、1,3-ジメチル尿酸(1,3-DMU)の定量は採取後24時間以内にTeunissenらの方法<sup>108)</sup>を若干変更して行った。すなわち、0.5 mlの尿に0.1 mlの内部標準溶液（0.2 mgの7-βヒドロキシエチルテオフィリンを1 ml エタノールに溶かしたもの）を加え、400mgの硫酸アンモニウムで飽和させた後、0.05 mlの氷酢酸を加え酸性とした混合物を、10% イソプロパノールクロロホルム混液5 mlにより抽出した。遠心分離後、有機相は血漿の場合と同様に蒸発乾固し、0.1 mlエタノールに再溶解した後、0.4 mlの移動相で希釈しHPLCに注入した。移動相の組成は95%の5mM テトラブチルアンモニウムヒドロキシド-酢酸緩衝液（10mM、pH 4.75）と

5%エタノールであり、流速は2.2 ml/min、検出波長は274 nmに設定した。その他の条件は血漿中の定量と同様であった。またこの分析による回収率は1-MU、1,3-DMU、テオフィリン、内部標準物質に対して各々 72.3%、77.8%、81.8%、82.0%であった。

#### (7) 統計処理

静脈内急速投与後の個々の動物における血漿中濃度時間推移は、eq.1に示す 2-compartment open modelに非線形最小二乗法プログラム MULTI<sup>105)</sup>を用いてあてはめた。

統計的検定は一次の分散分析と、それに続くt-検定により行い、有意差の限界値は5% (両側) とした。数値の表記に関しては平均値±標準誤差として実験例数と共に示した。

### 第2節 ロイコトリエンC<sub>4</sub>誘発喘息発作の体内動態への影響

#### (1) 試薬

動物実験に用いたアミノフィリンはエーザイのものを、分析標準品として用いたテオフィリンは半井化学のものを、8-クロロテオフィリンはナカライテスクのものをを用いた。ロイコトリエンC<sub>4</sub>(LTC<sub>4</sub>)溶液 (0.1 mg/mlメタノール)とアンチピリンは和光純薬のものを使用した。LTC<sub>4</sub>溶液はバイアルに小分けし、窒素置換した後、-20°Cで使用時まで保存した。結晶ウシ血清アルブミンはMilesのものを、その他の試薬は市販特級品を用いた。

#### (2) 静脈内急速投与時の体内動態

モルモットはウレタンで軽麻酔し、手術中はさらにエーテル麻酔を追加することにより、頸部動、静脈にヘパリン生理食塩水溶液(100U/ml)を満たしたカニューレ(SP31)を挿入した。呼吸をモニターするため気管内に挿管した。手術後60分にアミノフィリンとアンチピリンを同時に静脈カテーテルより急速投与した。採血(約0.3 ml)は動脈カテーテルより、テオフィリンとアンチピリンの投与15、30、60、90、150、270後に行い、血漿は速やかに 10000回転で遠心分離した後、測定まで-10°Cで保存した。

### (3) 呼吸機能の測定

呼吸は気管カニューレを通して、トランスデューサー(TV-241T、日本光電)に連結し呼吸流速を測定した(TP-602T、RY-111S、AR-600G、日本光電)。<sup>109)</sup>呼吸曲線からは呼吸数と吸期時間に対する呼期時間の比率を測定した。動脈血ガス分圧、pH、ヘモグロビン濃度は、自動血液ガス分析装置(ABL-300、Radiometer)でテオフィリン投与の30分前と90、270分後に測定し、同時にヘマトクリット値も測定した。

### (4) 血漿中蛋白結合率と血清蛋白濃度の測定

採血量を制限するため、血漿中蛋白結合率と血清蛋白濃度は別の動物を用いて測定した。すなわち、LTC<sub>4</sub>投与の90分後に1.5 mlの全血を採取し、血漿中テオフィリン並びにアンチピリンの蛋白結合率は前節で述べた Micropartition system により求めた。両薬剤のYMT膜への吸着は今回用いた濃度範囲において無視できる程度であることを確認した。血清中総蛋白濃度はBiuret反応<sup>110)</sup>により求めた。すなわち、4 mlのBiuret試薬を 50 μlの血清検体と完全に混合し、30分室温で放置した後、分光光度計で波長545 nmに設定し、吸光度を測定した。血清総蛋白濃度はウシ血清アルブミン標準液の吸光度を基に算出した。

#### 《Biuret試薬の組成》

---

|       |               |
|-------|---------------|
| 0.15% | 硫酸銅5水酸化物      |
| 0.6%  | 酒石酸カリウム・ナトリウム |
| 3.0%  | 水酸化ナトリウム      |
| 0.1%  | ヨウ化カリウム       |

---

### (5) 血漿中テオフィリンとアンチピリン同時定量法

0.1 mlの血漿に、0.2 mlの精製水と 0.1 mlの内部標準溶液(10 μgの8-クロロテオフィリンを1 mlメタノールに溶かしたもの)を加え、200 mgの硫酸アンモニウムで飽和させた後、6 mlの10% イソプロパノールクロロホルムで抽出した。遠心分離後、有機層は窒素気流下に蒸発乾固した後、0.2 mlの移動層に

再溶解し、30  $\mu$ l ずつをHPLCに注入した。HPLCはTRIROTAR-III(日本分光)を、検出器には紫外分光光度計 UNIDEC-100-III(日本分光)を用い、波長は254 nmに設定した。固定相は逆相Chemcosorb 5-ODS-Hカラム(4.6 mm i.d.  $\times$  15 cm、粒子径 5  $\mu$ m、ケムコ)を用いた。移動相の組成は、92%酢酸緩衝液(10 mM、pH5.0)、7%アセトニトリル、1%テトラヒドロフランであり、流速は1.5 ml/min、カラム温度は40°Cに保った。この分析法による各薬物の保持時間と回収率は、テオフィリン(3.4分、100.5  $\pm$  1.4%)、8-クロロテオフィリン(8.1分、87.4  $\pm$  0.7%)、アンチピリン(12.4分、88.3  $\pm$  2.0%)であった。テオフィリン並びにアンチピリンの検量線に関しては、試験濃度 1~20  $\mu$ g/mlの範囲で良好な相関が得られた。

## (6) 統計処理

LTC<sub>4</sub>の薬物動態への影響は、LTC<sub>4</sub>投与後の血漿中濃度曲線を非投与群のものと比較することにより行った。曲線の傾きは最終相のデータを用いて、片対数式により計算した。統計的検定は、二群間に等分散が仮定できる場合には Studentのt-検定を、不等分散の場合には Mann-WhitneyのU-検定を用い、有意差の限界値は5%(両側)とした。この信頼限界において、血漿中濃度と血液ガス分析値に関しては、1.98S.D. の差の検出力は90%であり、蛋白結合実験に関しては、2.77S.D. の差の検出力は90%であった。数値の表記は平均値 $\pm$ 標準誤差として実験例数とともに示した。

## 第II章 実験の部

### 第1節 喘息発作時の小児患者における体内動態解析

#### (1) 血清中テオフィリンの定量

第II章第1節の本文中30ページに示した。

### 第2節 慢性閉塞性呼吸器障害患者の安定期における体内動態解析

#### (1) 血清中テオフィリンの定量

第II章第2節の本文中41ページに示した。

### 第Ⅲ章 実験の部

#### 第1節 1点ベイジアン法による予測精度の評価

##### (1) 臨床データ中の血清中テオフィリンの定量

第Ⅱ章第2節実験の部と同様の方法で行った。

#### 第2節 個別化投与設計への応用

##### (1) 血清中テオフィリンの定量

第Ⅲ章第2節の本文中78、80ページに示した。



## 引用文献

- 1) C.C. Peck and J.H. Rodman, "Applied Pharmacokinetics, Principles of Therapeutic Drug Monitoring", 2nd ed., ed. by W.E. Evans, J.J. Schentag and W.J. Jusko, Applied Therapeutics, Inc., Spokane, 1986, pp. 55.
- 2) R.I. Ogilvie, Clin Pharmacokinet., **3**, 267 (1978).
- 3) S. Vozeh, J.R. Powell, S. Riegelman, J.F. Costello, L.B. Sheiner and P.C. Hopewell, JAMA, **240**, 1882 (1978).
- 4) B.T. Westerfield, A.J. Carder and R.W. Light, Am. Rev. Respir. Dis., **124**, 17 (1981).
- 5) R.K. Resar, P.D. Walson, W.L. Fritz, D.F. Perry and R.A. Barbee, Chest, **76**, 11 (1979).
- 6) E.F. Ellis, J. Allergy Clin. Immunol., **76**, 297 (1985).
- 7) P.A. Mitenko and R.I. Ogilvie, N. Engl. J. Med., **289**, 600 (1973).
- 8) L. Hendeles, L. Bighley, R.H. Richardson, C.D. Hepler and J. Carmichael, Drug Intell. Clin. Pharm., **11**, 12 (1977).
- 9) W.J. Jusko, M.J. Gardner, A. Mangione, J.J. Schentag, J.R. Koup and J.W. Vance, J. Pharm. Sci., **68**, 1358 (1979)
- 10) J.D. Arnold, G.N. Hill and L.N. Sansom, Eur. J. Clin. Pharmacol., **20**, 443 (1981).
- 11) M. Kubo, Y. Odajima, T. Ishizaki, S. Kanagawa, M. Yamaguchi and T. Nagai, J. Pediatr., **108**, 1011 (1986).
- 12) P. du Souich, A.J. McLean, D. Lalka, S. Erill and M. Gibaldi, Clin. Pharmacokinet., **3**, 257 (1978).
- 13) D.P. Jones, Biochem. Pharmacol., **30**, 1019, (1981).
- 14) J.F. Cumming and G.J. Mannering, Biochem. Pharmacol., **19**, 973 (1970).
- 15) R.A. Roth, Jr. and R.J. Rubin, Drug Metab. Dispos., **4**, 460 (1976).
- 16) C. Saunier, P. du Souich, D. Hartemann and A. Sautegau, Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., **57**, 291 (1987).
- 17) J.S. Bocles, Med. Clin. North Am., **54**, 493 (1970).

- 18) M.W.E. Teunissen, I.O.N. Brorens, J.M. Geerlings and D.D. Breimer, *Xenobiotica*, **15**, 165 (1985).
- 19) J.G. Wagner, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **4**, 443 (1976).
- 20) L.Z. Benet and R.L. Galeazzi, *J. Pharm. Sci.*, **48**, 1071 (1979).
- 21) M. Gibaldi and D. Perrier, "Pharmacokinetics", 2nd ed., Marcel Dekker, New York, 1982.
- 22) J.F. Williams, S. Lowitt and A. Szentivanyi, *Biochem. Pharmacol.*, **28**, 2935 (1979).
- 23) B. Zarowitz, J. Shlom, M.S. Eichenhorn and J. Popovich, Jr., *Chest*, **87**, 766 (1985).
- 24) B.J. Cusack, J.J. Crowley, G.D. Mercer, N.B. Charan and R.E. Vestal, *Am. Rev. Respir. Dis.*, **133**, 1110 (1986).
- 25) P. du Souich, B. Hoen, C. Saunier, D. Hartemann, A. Sautegau, A. Cornette, P. Bauer, N. Delorme, J.M. Polu and P. Sadoul, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **41**, 241, (1987).
- 26) L. Letarte and P. du Souich, *Am. Rev. Respir. Dis.*, **129**, 762 (1984).
- 27) R. Miller and I.F. Oliver, *J. Pharm. Pharmacol.*, **38**, 236 (1986).
- 28) K. Nakatsu, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **13**, 903 (1985).
- 29) E. Sarrazin, L. Hendeles, M. Weinberger, K. Muir and S. Riegelman, *J. Pediatr.*, **97**, 825 (1980).
- 30) G. Levy and R. Koysooko, *J. Clin. Pharmacol.*, **16**, 329 (1976).
- 31) D.D.S. Tang-Liu, T.N. Tozer and S. Riegelman, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **10**, 351 (1982).
- 32) M.W.E. Teunissen, I.O.N. Brorens, H.J. de Langen, A.M. Geerlings and D.D. Breimer, *Pharm. Res.*, **3**, 156 (1986).
- 33) J. Beckmann, W. Elsasser, U. Gundert-Remy and R. Hertrampf, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **33**, 227 (1987).
- 34) M.B. Kester, C.L. Saccar, M.L. Rocci, Jr. and H.C. Mansmann, Jr., *J. Pharm. Sci.*, **76**, 238 (1987).
- 35) S.M. Lohmann and R.P. Miech, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **196**, 213

- (1976).
- 36) R.A. Robson, A.P. Matthews, J.O. Miners, M.E. McManus, U.A. Meyer, P.M. Hall and D.J. Birkett, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **24**, 293 (1987).
- 37) J.J. Grygiel and D.J. Birkett, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **30**, 491 (1981).
- 38) J.J. Grygiel, J.O. Miners, R. Drew and D.J. Birkett, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **26**, 335 (1984).
- 39) J.F. Cumming, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **19**, 468 (1976).
- 40) P. du Souich, B. Hoen, C. Saunier, D. Hartemann, A. Sautegeau, A. Cornette, N. Delorme, J.M. Polu and P. Sadoul, *Chest*, **95**, 1028 (1989).
- 41) S.E. Dahlén, *Acta Physiol. Scand., Suppl.*, **512**, 1 (1983).
- 42) A.B. Kay, *Eur. J. Respir. Dis.*, **64**, (Suppl., **129**, 1) (1983).
- 43) S.B. Schwartzberg, S.P. Shelov and D. Van Praag, *Prostaglandins Leukot. Med.*, **26**, 143 (1987).
- 44) T. Saijo, H. Kuriki, Y. Ashida, H. Makino and Y. Maki, *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* **77**, 315 (1985).
- 45) J.M. Hand, S.F. Schwalm, M.A. Auen, A.F. Kreft, J.H. Musser and J. Chang, *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, **37**, 97 (1989).
- 46) S.M. Madsen and U. Ribel, *Acta Pharmacol. Toxicol. (Copenh.)*, **48**, 13 (1981).
- 47) B.M. Weichman, R.M. Muccitelli, R.R. Osborn, D.A. Holden, J.G. Gleason and M.A. Wasserman, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **222**, 202 (1982).
- 48) G. Smedegård, P. Hedqvist, S.-E. Dahlén, B. Revenäs, S. Hammarström and B. Samuelsson, *Nature*, **295**, 327 (1982).
- 49) K.F. Badr, C. Baylis, J.M. Pfeffer, M.A. Pfeffer, R.J. Soberman, R.A. Lewis, K.F. Austen, E.J. Corey and B.M. Brenner, *Circ. Res.*, **54**, 492 (1984).
- 50) W.E. Lux, Jr., G. Feuerstein and A.I. Faden, *Prostaglandins Leukot. Med.*, **10**, 301 (1983).

- 51) A.J. Roncoroni, H.J.A. Adrogué, C.W. de Obrutsky, M.L. Marchisio and M.R. Herrera, *Respiration*, **33**, 85 (1976).
- 52) R.D. Mountain, J.E. Heffner, N.C. Brackett and S.A. Sahn, *Chest*, **98**, 651 (1990).
- 53) L.M. Shaw, L. Fields and R. Mayock, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **32**, 490 (1982).
- 54) J. Koch-Weser and E.M. Sellers, *N. Engl. J. Med.*, **294**, 311 (1976).
- 55) D. Leopold, D. Webb, D.C. Buss, R.A. Fifield and A.P. Smith, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **19**, 823 (1985).
- 56) M.L. Eichman, D.E. Guttman, Q. Van Winkle and E.P. Guth, *J. Pharm. Sci.*, **51**, 66 (1962).
- 57) J.J. Vallner, W.A. Speir, Jr., R.C. Kolbeck, G.N. Harrison, E.D. Bransome, Jr., *Am. Rev. Respir. Dis.*, **120**, 83 (1979).
- 58) E.P. Calandre, A. Pérez de la Cruz, N.P. Alferez, E. Moreno Carretero, R. Hinojosa, G. Vázquez Mata, *Int. J. Clin. Pharm. Res.* **6**, 397 (1986).
- 59) S. Schermer, "The Blood Morphology of Laboratory Animals", 3rd ed., F.A Davis Company, Philadelphia, 1967, pp. 38.
- 60) T.J. Connelly, T.I. Ruo, M.C. Frederiksen and A.J. Atkinson, Jr., *Clin. Pharmacol. Ther.*, **47**, 68 (1990).
- 61) A.M. Lefer, *Biochem. Pharmacol.*, **35**, 123 (1986).
- 62) 小田島安平, *アレルギー*, **41**, 22 (1992).
- 63) L.B. Sheiner, B. Rosenberg and V.V. Marathe, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **5**, 445 (1977).
- 64) S.L. Beal and L.B. Sheiner, "NONMEM Users Guide", NONMEM Project Group, University of California, San Francisco, 1989.
- 65) 堀了平監修, "薬物血中濃度モニタリングのためのPopulation Pharmacokinetics入門", 薬業時報社, 1988.
- 66) A.-M. Taburet, C. Tollier and C. Richard, *Clin. Pharmacokinet.*, **19**, 462 (1990).
- 67) L.B. Sheiner and S.L. Beal, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **11**, 303 (1983).

- 68) M.S. Driscoll, T.M. Ludden, D.T. Casto and L.C. Littlefield,  
J. Pharmacokinet. Biopharm., 17, 141 (1989).
- 69) K.M. Piasfsky, D.S. Sitar, R.E. Rangno and R.I. Ogilvie, N. Engl.  
J. Med., 296, 1495 (1977).
- 70) A. Mangione, T.E. Imhoff, R.V. Lee, L.Y. Shum and W.J. Jusko,  
Chest, 73, 616 (1978).
- 71) E. Ginchansky and M. Weinberger, J. Pediatr., 91, 655 (1977).
- 72) L. Hendeles, L. Vaugham, M. Weinberger and G. Smith, Drug Intell.  
Clin. Pharm., 15, 338 (1981).
- 73) M. Weinberger and E. Ginchansky, J. Pediatr., 91, 820 (1977).
- 74) E. Sarrazin, L. Hendeles, M. Weinberger, K. Muir and S. Riegelman,  
J. Pediatr., 97, 825 (1980).
- 75) E.S. Moore, R.G. Faix, R.C. Banagale and T.H. Grasela,  
J. Pharmacokinet. Biopharm., 17, 47 (1989).
- 76) Y. Horai, T. Ishizaki, T. Sasaki, M. Watanabe and J. Kabe, Eur. J.  
Clin. Pharmacol., 23, 111 (1982).
- 77) S.N. Hunt, W.J. Jusko and A.M. Yurchak, Clin. Pharmacol. Ther. 19,  
546 (1976).
- 78) K. Kawakatsu, K. Nishimura, M. Kawai and M. Chikuma, J. Pharm.  
Biomed. Anal., 8, 965 (1989).
- 79) 川勝一雄, 千熊正彦, 薬理と治療, 13, 4509 (1985).
- 80) P.A. Mitenko and R.I. Ogilvie, Clin. Pharmacol. Ther., 13, 329  
(1972).
- 81) 柳井晴夫, 高木廣文編著, “多変量解析ハンドブック”, 現代数学社,  
1989.
- 82) R.R. Hocking, Biometrics, 32, 1 (1976).
- 83) W.Y.W. Au, A.K. Dutt and N. DeSoyza, Clin. Pharmacol. Ther., 37,  
472 (1985).
- 84) H.J. Pfeifer and D.J. Greenblatt, Chest, 73, 455 (1978).
- 85) B. Cusack, J.G. Kelly, J. Lavan and K. O'Malley, Br. J. Clin.  
Pharmacol., 10, 109 (1980).
- 86) L.A. Bauer, and R.A. Blouin, Clin. Pharmacokinet., 6, 469 (1981).

- 87) P. du Souich, B. Hoen, C. Saunier, D. Hartemann, A. Sautegeau, A. Cornette, N. Delorme, J.-M. Poul and P. Sadoul, *Chest*, **95**, 1028 (1989).
- 88) L.B. Sheiner, B. Rosenberg and K.L. Melmon, *Comp. Biomed. Res.*, **5**, 441 (1972).
- 89) L.B. Sheiner, S. Beal, B. Rosenberg and V.V. Marathe, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **26**, 294 (1979).
- 90) W.L. Chiou, M.A.F. Gadalla and G.W. Peng, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **6**, 135 (1978).
- 91) L.B. Sheiner and S.L. Beal, *J. Pharm. Sci.*, **71**, 1344 (1982).
- 92) T.M. Gilman, K.T. Muir, R.C. Jung, C.B. Walberg, *J. Pharm. Sci.*, **74**, 508 (1985).
- 93) 堀 了平, 奥村勝彦, 斉藤一文字, 安原真人, 越川富雄, 橋田 亨, 奥野武彦, 中川照眞, 山岡 清, *臨床薬理*, **15**, 535 (1984).
- 94) S.D. McClellan, J.A. Farringer, *Ther. Drug Monit.*, **11**, 431 (1989).
- 95) A.H. Thomson and B. Whiting, *Clin. Pharmacokinet.*, **22**, 447 (1992).
- 96) D.Z. D'Argenio, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **9**, 739 (1981).
- 97) G.E.P. Box and H.L. Lucas, *Biometrika*, **46**, 77 (1959).
- 98) D.Z. D'Argenio and K. Khakmahd, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **11**, 547 (1983).
- 99) C.C. Peck and B.C. Chen., *Clin. Pharmacol. Ther.*, **37**, 220, II-A, Abstr. (1985).
- 100) S. Vozeh and C. Steiner, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **15**, 511 (1987).
- 101) C.C. Peck and B.C. Chen., *Clin. Pharmacol. Ther.*, **37**, 220, I-A, Abstr. (1985).
- 102) 中川 徹, 小柳義夫, “最小二乗法による実験データ解析”, 東京大学出版会, 1984.
- 103) 田中 久監修, 山岡 清編, “続 医薬品の開発 第6巻, 薬物動態評価法とコンピュータ”, 広川書店, 1991.
- 104) K. Yamaoka, T. Nakagawa, H. Tanaka, M. Yasuhara, K. Okumura and R. Hori, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **8**, 246 (1985).

- 105) K. Yamaoka, Y. Tanigawara, T. Nakagawa and T. Uno, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **4**, 879 (1981).
- 106) L.B. Sheiner and S.L. Beal, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **9**, 503 (1981).
- 107) G.E. Schumacher, *Clin. Pharm.*, **4**, 84 (1985).
- 108) M.W.E. Teunissen, L.G.J. de Leede, J.K. Boeijinga and D.D. Breimer, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **233**, 770 (1985).
- 109) H. Nagai, I. Yakuo, M. Togawa, A. Arimura, N. Matsuura, A. Koda, S. Hamano, A. Ujiie and M. Nakazawa, *Prostaglandins Leukot. Med.*, **30**, 111 (1987).
- 110) A.G. Gornall, C.J. Bardawill and M.M. David, *J. Biol. Chem.*, **177**, 751 (1949).