

静注用リポプロスタグランدين (PG) E₁ 製剤の比較

武永美津子,* 太田有紀, 都倉享恵, 濱口明美, 五十嵐理慧

The Comparison Study of Lipo PGE₁ Preparations

Mitsuko TAKENAGA,* Yuki OHTA, Yukie TOKURA, Akemi HAMAGUCHI, and Rie IGARASHI

*Institute of Medical Science, St. Marianna University School of Medicine,
2-16-1 Sugao, Miyamae-ku, Kawasaki 216-8512, Japan*

(Received January 30, 2007; Accepted May 11, 2007; Published online May 14, 2007)

The comparison study was performed with 3 kinds of Lipo PGE₁ (5 μg/ml) preparations (Formulation A, B, and C), which are now used in clinical. Under alkali condition, Lipo PGE₁ (5 μg/ml) preparations in combination with physiological solution containing calcium ion were susceptible to stop dropping because of the formation of aggregates. There was a difference of feasibility to form aggregates among these preparations. The percentage of PGE₁ in the LM (lipid microspheres) was 68.8% (Formulation A) when determined by filtration with the pore size of 0.1 μm, and the respective value (%) of Formulation B and Formulation C was 43.0% and 13.9%. This indicates that the latter formulations were significantly susceptible to leak from the LM. PGE₁ can induce an extensive irritation. The potency of irritation was the most in Formulation C. This seems similar with the result of LM retention of PGE₁. PGE₁ increased the blood flow. Formulation A reached the peak by 2.27 fold, which was significantly higher than Formulation C and PGE₁ alone (PGE₁-cyclodextrin, PGE₁-CD). The peak was also significantly higher in Formulation B than that of PGE₁-CD. The AUC value of blood flow rate showed a significant increase in Formulation A and Formulation B as compared to that of PGE₁-CD. Drug retention in the LM can be a determinant factor for drug distribution and pharmacological effect. This study indicates that there can be some differences among Lipo PGE₁ preparations, which have the same drug dose.

Key words—prostaglandin E₁; lipid microspheres; drug delivery system; targeting

はじめに

リピッドマイクロスフェア (lipid microspheres, LM) は Fig. 1 に示すように, 大豆油と卵黄レシチンからなる平均粒子径約 200 nm の脂肪微粒子である。水島らは, この構造がリポソームと非常に類似していることに着目し, ターゲットのための薬物輸送担体 (キャリア) として用いることを考案した。¹⁾ LM に薬物を封入したターゲット製剤はリポ製剤と呼ばれるが, 既にリポステロイド (1988 年), リポ PGE₁ (1988 年), リポ非ステロイド性抗炎症薬 (1992 年) が臨床の場で使用されている。

リポ PGE₁ は, LM を薬物キャリアとする静注用プロスタグランدين E₁ (PGE₁, 一般名: アルプロスタジル) 製剤である。本剤は強力な血管拡張作用及び血小板凝集抑制作用を有し, 慢性動脈閉塞症

に伴う阻血性潰瘍や糖尿病に伴う皮膚潰瘍, 経上腸間膜動脈性門脈造影における造影能の改善などに広く臨床応用されている。²⁻⁶⁾ 医療現場に先発医薬品として果たしてきたリポ PGE₁ 製剤の貢献度は高い。一方, 上市してから 15 年以上たち, 注射用リポ PGE₁ 後発医薬品の申請・認可が続いている。

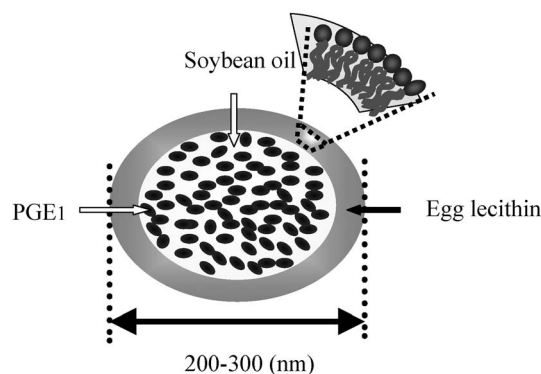


Fig. 1. PGE₁-encapsulated Lipid Microspheres (LM)

後発医薬品（以下、後発品）は、先発医薬品（先発品）と同等の成分及び治療効果を有するとされ、積極的に医療現場で利用が拡大しつつある。後発品の認可申請には、製品の品質の安定性（規格及び試験方法、加速試験）と生物学的同等性を証明する試験資料は必要であるものの、急性、慢性、催奇形性などの毒性に関する資料は不要である。したがって薬価の見地からも、医療費の拡大を抑える切り札の1つとして期待されている。

ところで、近年医療現場でリポ PGE₁ 製剤（アルプロスタジル）を先発品から後発品に変更したところ、点滴静注時に輸液ルート内に固形浮遊物を認め滴下しなくなる現象が報告された。⁷⁾ この現象はアルカリ性条件下にカルシウムイオンの存在により生成することが指摘されている。⁸⁾ 注目すべきは、同じ条件下での滴下試験中、先発品と後発品の間に固形浮遊物生成に違いがみられたことである。これは主成分は同じにも係わらず、薬物キャリアを含めた製剤としての特性に違いがある可能性を示唆している。そこで本研究では、先発品及び後発品を用いて、まず輸液を用いた滴下試験で追試を行った。さらに、LM への薬剤保持、刺激性試験、及び血流量の推移を指標とした薬理学試験を行い、これらの製剤を比較検討した。

実験の部

1. 使用薬剤 リポ PGE₁ 製剤

1) 先発品：Formulation A：5 µg/ml リプル注射液[®]（製造番号 M564J）10 µg/2 ml；三菱ウェルファーマ[®]

2) 後発品：Formulation B：5 µg/ml プリンク注射液[®]（製造番号 485711）10 µg/2 ml；大洋薬品工業[®]

3) 後発品：Formulation C：5 µg/ml アリプロスト注射液[®]（製造番号 AB06A）10 µg/2 ml；富士製薬工業[®]

それぞれの成分及び成分量を Table 1 に示した。

2. 滴下試験 輸液 500 ml（ハルトマン液 pH 8「HD」[®]（ニプロファーマ[®]）、乳酸リンゲル液（ソルラクト[®]；テルモ[®]）、生理食塩液（テルモ生食[®]；テルモ[®]）（組成；Table 2）、あるいは注射用水 500 ml（大塚蒸留水[®]；大塚製薬[®]）にリポ PGE₁ 製剤 2 ml 混注した。混注後直ちに輸液セット（ニプロ IS-1A1, 21G）を接続してこれらのバッグをつるし、ほぼ一定速度で滴下を開始した。滴下開始から 1 時間、2 時間及び 3 時間後に、各々 10 ml 滴下するのに要した時間（メスシリンダーの目盛りで 10 ml になるのに要した時間）を計測した。併せて累積滴下量も計量した。実験によっては 7% 炭酸水素ナトリウム溶液（メイロン[®]；大塚製薬[®]）あるいは 0.5 mol/l 塩化カルシウム溶液（コンクライト-Ca[®]；ニプロファーマ[®]）を使用した。

3. LM 中に保持される PGE₁ 量 LM の直径が 0.2–0.3 µm であるため、pore size 0.1 µm のフィルターを通過した濾液中に含まれる PGE₁ は、LM から遊離した薬剤とみなすことができる。⁹⁾ リポ PGE₁ 製剤を生理食塩水で 100 倍希釈後、0.1 µm フィルター（Millipore Corporation, MA, USA）を用いて通過させた。PGE₁ を Prostaglandin E1 Enzyme Immunoassay kit（Assay Designs, Inc., MI, USA）を用いて測定した。

4. 皮膚刺激性試験 雄性 Wistar 7 週齢ラット（SLC, 静岡）を用いた。動物の飼育、実験に当たっては聖マリアンナ医科大学動物実験実施指針を遵守した。

ネンブタール（50 mg/kg）腹腔内投与麻酔の下、

Table 1. Component of Lipo PGE₁ Preparations

	Formulation A: 10 µg/2 ml		Formulation B: 10 µg/2 ml		Formulation C: 10 µg/2 ml	
		10 µg	Alprostadil (PGE ₁)	10 µg	Alprostadil (PGE ₁)	10 µg
Drug additives	Purified soybean oil	200 mg	Purified olive oil	200 mg	Purified olive oil	200 mg
	Highly purified egg lecithin	36 mg	Highly purified egg lecithin	36 mg	Highly purified egg lecithin	36 mg
	Oleic acid	4.8 mg	Oleic acid	4.8 mg	Oleic acid	4.8 mg
	Glycerin	44.2 mg	Glycerin	44.2 mg	Glycerin	44.2 mg
	NaOH	Adequate	pH Adjustment	Adequate	HCl	Adequate
					NaOH	Adequate

Table 2. Contents

Physiological solutions	mEq/l					pH
	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	Lactate	
Hartmann's solution						
pH 8「HD」 [®]	131	4	3	110	28	7.8-8.2
Solulact [®]	131	4	3	110	28	6.0-7.5
Saline [®]	154			154		4.5-8.0

実験に供した。剃毛した背部に、リポ PGE₁ 製剤 (5 µg/ml) とヒスタミン (和光純薬株, 大阪) 溶液 0.2 µg/ml を等量ずつ混合した溶液の 100 µl を皮内投与した。また、同時に PGE₁ を含まないリポ製剤 LM (イントラリポス[®], Intralipos[®], 三菱ウェルファーマ株) や PGE₁ 溶液 ((5 µg/ml) 注射用プロスタンデイン[®], PGE₁-cyclodextrin (PGE₁-CD); 小野薬品工業株) もヒスタミン溶液 0.2 µg/ml と等量ずつ混合した溶液の 100 µl を皮内投与した。さらにヒスタミン溶液 (0.1 µg/ml) 100 µl も同時に皮内投与した。背部に 6 ヶ所皮内投与後、1%エバンスブルー (和光純薬株) 生理食塩溶液を 1 ml 静脈内投与した。30 分後瀉血し、背中中の皮膚を剥離して直ちに色素斑の大きさを測定した。色素斑の直径から以下の基準でスコア値を判定した。¹⁰⁾

スコア (0); 色素斑がみられない

スコア (1); 直径 5 mm 未満

スコア (2); 5-10 mm

スコア (3); 10-15 mm

スコア (4); >15 mm

5. 血流量の変動 雄性 Wistar 7 w 齢ラット (体重平均 200 g) を実験に供した。ネンブタールによる麻酔下、リポ PGE₁ 製剤 (5 µg/kg) を静脈内投与した。血流量測定は、血流計 ALF21D (株アドバンス) を用い、ラット足裏部に装着させたプローブを介して行った。¹¹⁾

6. 統計処理 統計学的処理は、Tukey-Kramer 法を用いて多重比較検定を行った。p<0.05 を有意とした。

結 果

1. リポ PGE₁ 製剤と輸液混合滴下試験 リポ PGE₁ 製剤 (先発品: Formulation A, 後発品: Formulation B 及び Formulation C) を、ハルトマ

ン pH 8「HD」[®] (Hartmann's solution pH 8「HD」) 液に加え滴下試験を開始した (Fig. 2)。ハルトマン pH 8「HD」[®] は、カルシウムイオンを含み、なおかつ pH 8.0 に調整済みの輸液である (Table 2)。開始直後は 10 ml 滴下に 2-3 分を要したが、1 時間以内に Formulation B 及び Formulation C は滴下不能となった。クランプ付近には固形浮遊物が認められた (Fig. 2)。一方、リポ PGE₁ 製剤を含まないハルトマン pH 8「HD」[®] 輸液、及び Formulation A を混注した輸液は、滴下速度が次第に低下したものの、すべての滴下が終了した。

実験的に pH を上げるため、ソルラクト[®] (乳酸リンゲル液: カルシウムイオンを含む) 500 ml 輸液に 7% 炭酸ナトリウム溶液 (7% メイロン[®]) 20 ml を加えた混合液を用いた。リポ PGE₁ 製剤を含まないソルラクト[®] 液、及び Formulation A を混注した輸液は、滴下速度はやや低下したものの、すべての滴下が終了した。一方、Formulation B 及び Formulation C を含む液は詰まりを生じ、滴下不能となった。なお、混合液 pH 値はそれぞれ 8.00-8.08 であり、差異は認められなかった。

実験的に pH を上げ、なおかつカルシウムイオンを存在させるため、生理食塩水 500 ml に 7% 炭酸ナトリウム溶液 (7% メイロン[®]) 20 ml 及びコンクライト -Ca[®] (1 mEq/l) 1.5 ml を加えた混合液を用いた。リポ PGE₁ 製剤を含まない混合液は、すべて滴下終了した。一方、Formulation B 及び Formulation C を含む混合液は詰まりを生じ、滴下不能となった。Formulation A を含む液は、3 回の試験を行ったうち 1 回は他の製剤と同様、固形浮遊物を認め滴下が完了しなかった。

なお、pH 調整なしにソルラクト[®] (乳酸リンゲル液) 500 ml のみと混合した場合 (pH 6.1-6.5)、あるいは pH を上げてカルシウムイオンを含まない状態である生理食塩水 500 ml と 7% 炭酸ナトリウム溶液 (7% メイロン[®]) 20 ml を混合した場合 (pH 8.06-8.12) は、リポ PGE₁ 製剤との滴下試験ですべて滴下完了した。

2. リポ PGE₁ 製剤の LM 中への薬剤保持

Formulation A を生理食塩水で 100 倍希釈後、LM 中に保持された PGE₁ の割合は 68.8±15.6% と算出された (Table 3)。一方、Formulation B では平均 43.0% (p<0.05)、Formulation C では 13.9% (p

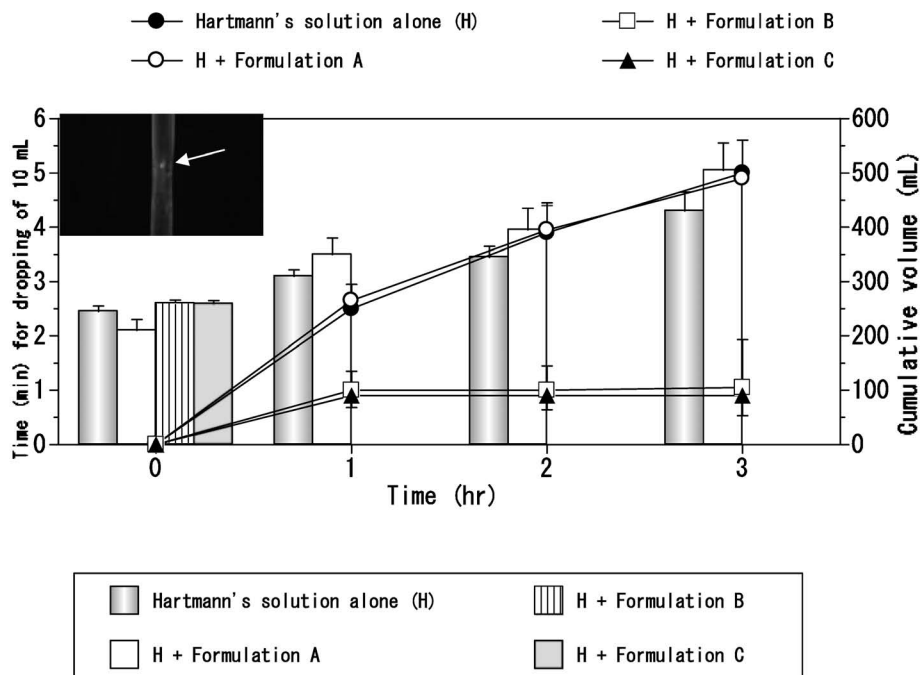


Fig. 2. Dropping Test and Formed Aggregates

Dropping test was started with Lipo PGE₁ preparations in combination with Hartmann's solution pH 8「HD」®. Time for 10 ml dropping and cumulative volume were determined every hour. The mixture containing Lipo PGE₁ preparations (Formulation B and Formulation C) could not finish dropping because of forming aggregates (Representative photo was inserted). Mean ± S.D., *n* = 3.

Table 3. Retention of PGE₁ in the LM (%)

Formulation A	Formulation B	Formulation C
68.8 ± 15.6	43.0 ± 16.9*	13.9 ± 6.8***,#

Mean ± S.D., *n* = 6, * *p* < 0.05, ** *p* < 0.01 vs. Formulation A, # *p* < 0.05 vs. Formulation B. PGE₁ was determined by Enzyme-linked Immunoassay kit.

<0.01) であり, Formulation A との間には有意差が認められた。一方, Formulation B と Formulation C の両剤間にも統計学的有意差を認めた (*p* < 0.05)。

3. 皮膚刺激性試験 PGE₁ 自身の刺激性が高いことは, ラット背部皮膚を用いた試験から明らかである (Fig. 3 写真参照)。一方, PGE₁ を含まない LM (イントラリポス®) はほとんど刺激性を示さなかった。リポ PGE₁ 製剤投与群の色素斑の大きさから, Formulation A の平均スコア値は 0.636, Formulation B では 1.64 (*p* < 0.01 vs. Formulation A), Formulation C では 2.36 (*p* < 0.01 vs. Formulation A) であった。なお, Formulation B と Formulation C の両剤間には統計学的有意差は認められなかった。

4. 血流量の変動 PGE₁ 製剤 (5 μg/kg) をラ

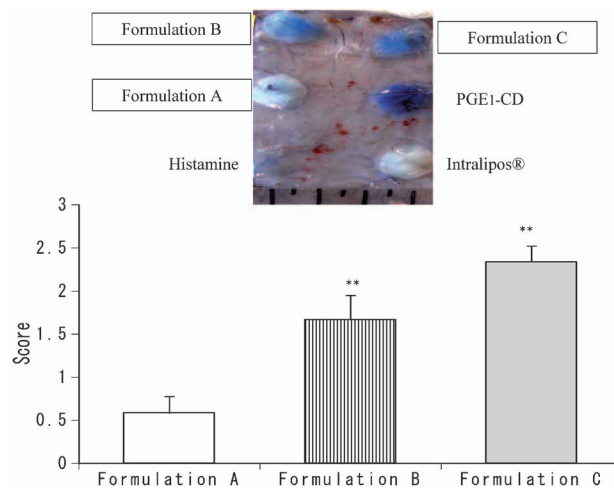


Fig. 3. Skin Irritation Test

Score was determined from each pigment width according to the following criteria. Score 0: not detected, score 1: less than 5 mm (diameter), score 2: 5–10 mm, score 3: 10–15 mm, score 4: more than 15 mm. Mean ± S.E., *n* = 12 ***p* < 0.01 vs. Formulation A. Representative photo was inserted.

ットに静脈内投与すると, 一過性の低下ののち, 急激な血流量増加を示した (Fig. 4)。増加のピークは, 投与前の血流値と比べて Formulation A で 2.27 倍と最も高く (*p* < 0.01 vs. PGE₁-CD, *p* < 0.05 vs. Formulation C), Formulation B では 2.11 倍 (*p*

<0.01 vs. PGE₁-CD), また Formulation C では 1.86 倍であった (Table 4). 血流量値のピークに達する時間は, PGE₁-CD 投与群を含め投与 58–62 秒後とほぼ同様であった. 一方, PGE₁-CD は, 投与後の一過性の低下 (28%) が比較的緩やかであり (リポ PGE₁ 製剤: 33% 低下), リポ PGE₁ 製剤に比べやや遅れて (19.7 秒後) 最低値に達した (リポ PGE₁ 製剤: 16.2 秒後).

投与 6 分後の血流量値は, PGE₁-CD を含むすべての製剤で投与前の値にほぼ戻った. それぞれの投与前血流量値を 1 とした血流量比を経時的に算出し, 投与 6 分 (360 秒) 間の AUC 値を求めた (Table 4). すべてのリポ PGE₁ 製剤は, PGE₁-CD に比べ高い AUC 値を示した. なかでも Formulation A (5043±348.2 blood flow rate·sec) は Formulation C 及び PGE₁-CD に比べ有意に高く, For-

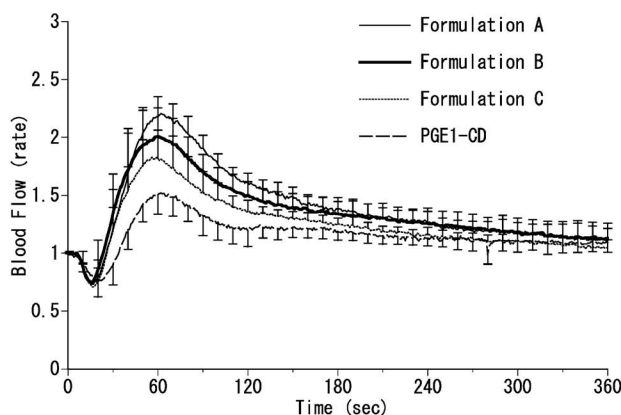


Fig. 4. Pharmacological Effects (Blood Flow Increase) of PGE₁ Preparations

Under anesthesia, PGE₁ preparations (5 µg/kg) (Formulation A, B, C and PGE₁-CD (cyclodextrin)) were intravenously injected to rats, and blood flow value was monitored. The data were expressed as the blood flow rate, where each value prior to dosing was considered to be 1.0. Mean±S.D., n=5–6.

mulation B (4896±485.0 blood flow rate·sec) は PGE₁-CD に比べ有意に高かった.

考 察

静注用プロスタグランディン E₁ 製剤 (リポ PGE₁ 製剤) 使用上の注意として, 「本剤を輸液以外の他の薬剤と混和使用しないこと」とあり, 「持続投与を行う場合には, ライン内での凝集を防ぐため, かならず単独ラインで投与すること」と記載されている. したがって, カルシウムイオンを含む乳酸リンゲル液 (ソルラクト[®]) に炭酸水素ナトリウム液 (メイロン[®]) を加えることは本来禁忌である. しかし, 静脈炎や血管痛緩和の目的で pH の高いハルトマン液 pH 8 「HD」[®] 輸液を選択することは, 現状では許容される組み合わせとなる. 既に報告され,⁷⁾ 本研究においても確認したように, カルシウムイオン存在下でアルカリ性輸液とリポ PGE₁ 製剤と混合後滴下させると, 固形浮遊物を生成する可能性がある. したがって, 医療現場ではカルシウムイオンを含まない生理食塩液にリポ PGE₁ 製剤を混注することを推奨すべきと考える.

滴下実験でみられた固形浮遊物の生成機序に関しては, 構成成分の違いを含め詳細な解明が必要である. われわれが本試験で着目したのは, 凝集物生成にみられた製剤間の差異である. これは主成分が同じにも関わらず, 薬物キャリアを含めた製剤としての特性に違いがある可能性を示唆している. そこで本研究ではキャリアであるリピッドマイクロスフェア (LM) を含めた製剤の比較に焦点を当てた.

LM 自身は, 活性化されたマクロファージや好中球などの炎症性細胞, 血管内皮細胞, MM46 などの癌細胞, 肝臓の Kupffer 細胞, 脾臓マクロファ-

Table 4. Change of Blood Flow Value Following Dosing of PGE₁ Preparations to Rats

	µg/kg	n	Blood flow value prior to dosing (ml/min/100 g)	Minimum blood flow (rate)	Maximum blood flow (rate)	AUC (0–360 sec) blood flow rate·sec
Formulation A	5	5	13.7±2.45	0.644±0.085	2.27±0.167 ^{**,#}	5043±348.2 ^{**}
Formulation B	5	6	16.3±2.22	0.697±0.104	2.11±0.258 ^{**}	4896±485.0 [*]
Formulation C	5	6	15.2±2.93	0.683±0.094	1.86±0.271	4506±197.1
PGE ₁ -CD	5	6	14.5±2.72	0.715±0.176	1.56±0.349	4193±284.3

PGE₁ preparations (Formulation A, B, C and PGE₁-CD (cyclodextrin)) (5 µg/kg) were intravenously administered to rats under anesthesia, and blood flow value was monitored. Data are expressed as mean±S.D. Blood flow rate was calculated, where each value prior to dosing was considered to be 1.0. AUC (area under concentration) was calculated from the data of blood flow rate from time 0 to 360 sec. * p<0.05, ** p<0.01 vs. PGE₁-CD, # p<0.05 vs. Formulation C. There was no significant difference in the blood flow value prior to dosing. There was no significant difference in the rate of minimum blood flow value.

ジにエンドサイトーシスによって取り込まれ易い。¹²⁻¹⁶⁾ カラゲニン足浮腫ラットの炎症部や本態性高血圧ラット (SHR) の傷害血管部,¹⁷⁾ ヒト体内では^{99m}Tc 標識した LM が静脈内投与後, 肝臓・脾臓などの網内系のほか, 慢性関節リウマチ患者の炎症部分や慢性閉塞性動脈硬化症患者の動脈硬化部に集積する。¹⁸⁾ したがって LM の集積部位をターゲットとする薬物にとって, LM は非常に適した薬物キャリアとなり得る。^{11,19-28)} 別の見方をすると, LM 中への薬剤保持量が高いほど, 生体に投与したときのターゲット性や高い薬理効果が期待できる。キャリアからの遊離率は封入薬物の性質や封入量によって異なるため, 体内動態は薬物個々の動態を追跡する必要がある。PGE₁ の場合も同様である。

生理食塩水を用いた希釈系で LM への PGE₁ 保持率を測定すると, Formulation A が他の 2 剤に比べ有意に高かった。一方, Formulation B と Formulation C の両剤間にも有意な差異を認めている。

PGE₁ を LM に封入することで刺激性を顕著に低下させることは, 皮膚刺激性試験から明らかである。同時に, 本試験は LM から遊離した PGE₁ 量を強く反映していた。すなわち, LM への最も高い PGE₁ 保持率を示した Formulation A が最も低い刺激性を示した。一方, Formulation B, Formulation C の刺激性は Formulation A に比べ有意に高く, 薬剤保持率との関連性が強く示唆された。

リポ製剤化することで生物学的利用活性の増大することは, PGE₁ の持つ血流量増加作用の評価結果から明らかである。これは PGE₁-CD が投与後標的部位だけでなく全身に速やかに分布し易いのに対し, リポ PGE₁ では LM のターゲット性が薬剤を標的部位に高率に送り込んだためと推察される。しかしながら一方で, リポ PGE₁ 製剤間には同量投与にも係わらず生物学的利用活性の大きさに違いがみられたことは注目すべきである。投与後みられる血流量増加の最大値 (比) は, Formulation A が最も高く, Formulation B, Formulation C がこれに続いた。LM への高い PGE₁ 保持率を持った Formulation A が生物学的利用活性の優れた製剤であったのは, PGE₁ が最も効果的に薬物担体 LM によって標的部位に運ばれた結果と考えられる。

このように, リポ PGE₁ 製剤間には主成分が同じであるにも係わらず製剤としての特性には違いがみ

られた。異なる薬剤保持率の一因として, キャリア構成成分の相違が挙げられる。しかし Formulation B と Formulation C の間にも差異がみられており, 製剤の製造過程も重要な因子となり得ることも考えられる。

本研究から, 取り分け LM のような薬物送達性に係わる担体を含む製剤は, 製剤としての同等性が薬理効果の大きさに反映する可能性が示唆された。したがって, 主成分のみならず製剤としての同等性にも細心の検討が必要であると考えられた。

REFERENCES

- 1) Mizushima Y., *Drugs Exp. Clin. Res.*, **11**, 595-600 (1985).
- 2) Mizushima Y., Yanagawa A., Hoshi K., *J. Pharm. Pharmacol.*, **35**, 666-667 (1983).
- 3) Hoshi K., Mizushima Y., Kiyokawa S., Yanagawa A., *Drugs Exp. Clin. Res.*, **12**, 681-685 (1986).
- 4) Mizushima Y., Shiokawa Y., Homma M., Kashiwazaki S., Ichikawa Y., Hashimoto H., Sakuma A., *J. Rheumatol.*, **14**, 97-101 (1987).
- 5) Katoh K., Kawai T., Narita M., Uemura J., Tani K., Okubo T., *J. Pharm. Pharmacol.*, **44**, 442-444 (1992).
- 6) Akahori H., Takamura T., Hayakawa T., Ando H., Yamashita H., Kobayashi K., *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **64**, 153-159 (2004).
- 7) Sakaya H., Goto N., Nakamura T., Wakiya Y., Masada M., Abstracts of papers, the 125th Annual Meeting of the Pharmaceutical Society of Japan, 29-0815, 2005.
- 8) Goto N., Sakaya H., Nakamura T., Wakiya Y., Masada M., Abstracts of papers, the 125th Annual Meeting of the Pharmaceutical Society of Japan, 29-0816, 2005.
- 9) Igarashi R., Nakagawa M., Mizushima Y., *Inflammation*, **8**, 243-246 (1988).
- 10) Igarashi R., Mizushima Y., Takenaga M., Matsumoto K., Morizawa Y., Yasuda A., *J. Control. Release*, **20**, 37-46 (1992).
- 11) Igarashi R., Takenaga M., Takeuchi J., Kitagawa A., Matsumoto K., Mizushima Y., *J. Control. Release*, **71**, 157-164 (2001).
- 12) Shoji Y., Mizushima Y., Yanagawa A., Shiba T., Takei H., Fujii M., Amino M., *Drugs Exp.*

- Clin. Res.*, **11**, 601–609 (1985).
- 13) Igarashi R., Takenaga M., Matsuda T., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **20**, 147–154 (1996).
 - 14) Shoji Y., Mizushima Y., Kameya T., *Yakugaku Zasshi*, **106**, 605–608 (1986).
 - 15) Suzuki K., Takahashi K., Matsuki Y., Kawakami M., Kawaguchi Y., Hidaka T., Sekiyama Y., Mizukami Y., Kawagoe M., Nakamura H., *Jpn. J. Pharmacol.*, **60**, 349–356 (1992).
 - 16) Suzuki K., *Clin. Exp. Immunol.*, **99**, 479–485 (1995).
 - 17) Mizushima Y., Hamano T., Haramoto S., Kiyokawa S., Yanagawa A., Nakura K., Shintome M., Watanabe M., *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, **41**, 269–272 (1990).
 - 18) Kiyakawa S., Igarashi R., Iwayama T., Yanagawa A., Mizushima Y., *Jpn. J. Inflamm.*, **7**, 551–557 (1987).
 - 19) Takenaga M., Igarashi R., Tsuji H., Mizushima Y., *Jpn. J. Cancer Res.*, **84**, 1078–1085 (1993).
 - 20) Takenaga M., Nakagawa T., Igarashi R., Mizushima Y., *J. Drug Target.*, **1**, 293–301 (1993).
 - 21) Kuwahara H., Sugihara T., Ohura T., Igawa H., Yamamoto Y., *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Hand Surg.*, **30**, 23–28 (1996).
 - 22) Egashira T., Kim Y. I., Takayama F., Kudo Y., Yamanaka Y., *Free Radic. Biol. Med.*, **21**, 353–356 (1996).
 - 23) Takenaga M., Igarashi R., Matsumoto K., Takeuchi J., Mizushima N., Nakayama T., Morizawa Y., Mizushima Y., *J. Drug Target.*, **7**, 187–195 (1999).
 - 24) Takenaga M., Igarashi R., Mizushima Y., *J. Allergy Int.*, **14**, 143–149 (2000).
 - 25) Moriuchi-Murakami E., Yamada H., Ishii O., Kikukawa T., Igarashi R., *J. Rheumatol.*, **27**, 2389–2396 (2000).
 - 26) Ohira H., Suzuki T., Shishido S., Tojo J., Miyata M., Obara K., Kasukawa R., *Hepatol. Res.*, **19**, 74–84 (2001).
 - 27) Nishimura T., Nario K., Hosoi H., *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.*, **259**, 253–256 (2002).
 - 28) Kuniyama M., Tsuchida K., Kaneko K., Suga H., Hasegawa T., Mochizuki S., Kawai K., Shiga A., Yamaguchi T., *Arzneimittelforschung*, **52**, 358–364 (2002).