

表5 身体所見とけいれんの原因疾患の関係

易刺激性→HIE、低血糖、低Ca血症
胎便汚染→胎児ジストレスや子宮内けいれんを示唆
哺乳開始後に発汗過多・呼吸障害→先天代謝異常
“well baby with seizures” → 新生児特発性くも膜下出血
 良性新生児けいれん
多発奇形→染色体異常、奇形症候群
皮膚所見→神経皮膚症候群
吃逆→非ケトン性高グリシン血症
頭皮の注射痕→薬物離断
不整脈、徐脈→薬物離断
特異な体臭、尿臭→maple syrup urine disease

表6 優先度の高い検査の例

診断・治療の遅れが予後に影響するもの
低血糖、低Ca血症、ビタミンB6依存症
先天性代謝異常症(高アンモニア血症、アシドーシス)

検査による児の負担が少ないもの
頭部エコー
一般採血・血液ガス分析(少量ですむ)

他の検査法では代替できない、診断価値の高いもの
髄液検査、血液ガス分析、アンモニア
頭部画像検査(エコー、CT、MRI)

表7 脳波所見と原疾患の関係

陽性中心部鋭波 (positive rolandic sharp waves, PRS)
頭蓋内出血や脳室周囲白質軟化症などの深部白質の病変と関連。発作波ではなく背景脳波異常とされる。

Comb-like rhythm
Maple syrup urine disease、プロピオン酸血症に特徴的。

全般性1～4Hz鋭徐波
ビタミンB6依存症を示唆。

Burst-suppression pattern
脳の高度活動低下を示す所見。
EIEEだけでなく、種々の疾患(とくにHIE)で見られる。

厚生労働省科学研究費補助金小児疾患臨床研究事業
小児のけいれん重積に対する薬物療法のエビデンスに関する臨床研究

分担研究報告書

新生児痙攣とその薬物療法に関する後方視的研究
新生児痙攣治療ガイドライン作成にむけて

分担研究者 山内秀雄 (獨協医科大学小児科 助教授)

研究要旨

新生児痙攣の診断・治療に関するガイドライン作成を目的として、その試案を作成した。これまでの新生児痙攣治療の知見を文献的に調査し、これまでの当班研究の後方視的研究の結果をふまえ、その試案を作成した。

A. 研究目的

平成14, 15年度においては新生児痙攣におけるミダゾラム・リドカインの治療とその有効性に関する後方視的研究を行った。両者とも新生児痙攣には有効であり、従来のフェノバルビタール、フェニトインと共に有用性の高い薬剤として判定された。今年度はこの結果をふまえ、さらに文献的に調査し、新生児痙攣の診断・治療ガイドライン作成の試作を行った。

B. 研究方法

これまでの新生児痙攣に関する論文のうち、randomized controlled trialと neonatal seizureをkey wordにしてPubMedで検索すると、新生児痙攣の治療に関する論文は僅か4件である。¹⁾⁴⁾ clinical trialと neonatal seizureをkey wordにして検索し、関連性の高い論文を選択すると14件となる。この情報と新生児神経学において最も汎用されている米国の成書を参考にして試案を作成した。^{5), 6)}

C. 結果

1) 新生児痙攣重積の定義

これまでのところ確固とした新生児痙攣重積の

定義はない。新生児痙攣の既往は必ずしも神経発達の予後の不良を意味するものではない。また、どれだけの期間どのような治療をすべきかの確固とした論拠はない。しかし、少なくとも新生児痙攣が長時間続いたり、断続的に新生児痙攣が認められかつその間歇期に意識回復のなかったり(意識状態の把握は新生児の場合困難である場合も少なくないが)する場合、速やかな痙攣の治療とその病因に対する処置を適切に施行することが必要であると考えられる。

2) 新生児痙攣の分類

新生児痙攣発作型分類を表1に示す。新生児痙攣の診断は、発作症状、理学的所見、さらに脳波検査結果合わせて総合的に判定しなければならない。Subtle seizureは新生児によく認められる生理的運動と類似するため診断には脳波検査は必須である。発作時脳波としての異常を認めれば確定的(発作波は側頭部に多い)であるが、脳波異常を伴わない場合がある(約20%)ことを配慮すべきである。眼球偏位はしばしば認められるsubtle seizureの発作時症状でもあるが、focal tonic seizureとの鑑別を要する。また focal

tonic seizure は乳児交代性片麻痺 (AHI) の初期症状として麻痺症状の前に出現する限局した筋強直との鑑別 (AHI は脳波異常なし) が必要である。脳波異常を指摘しづらく注意すべき痙攣発作としては generalized tonic seizure や (multi) focal myoclonic seizure などがある。前者はしばしば無呼吸と眼球上転を伴い未熟児に多く脳実質障害 (脳室内出血など) に多く認められる。後弓反張 (眼球固定のないことが特徴; 核黄疸・乳児型 Gaucher 病・アミノ酸代謝異常症など) や、脳幹における大脳からの脱抑制症状である除脳硬直 (眼球下方偏位、瞳孔散大、四肢伸展上肢回内位; 未熟児脳室内出血による上部脳幹圧迫など) との鑑別を要する。(multi) focal myoclonic seizure も脳波異常を指摘しづらく、jitteriness や良性新生児睡眠時ミオクローヌス (両者とも治療は不要) との鑑別が必要である。Clonic seizure は脳梗塞などや代謝性脳症などで認められ、しばしば発作時に脳波異常を伴うため診断は比較的容易である。

3) 新生児痙攣の病因 (表2)

新生児痙攣は痙攣自体に対する抗てんかん剤による治療とその原因となる疾患・病因病態に対する治療を同時に施行することが肝要である。従って新生児痙攣が認められた場合、中枢神経の臨床徴候を正確に把握すると同時にその原因を速やかに診断することは新生児痙攣の治療には大変重要である。新生児痙攣の病因のうち頻度の多いものは低酸素性虚血性脳症、脳出血 (脳室内出血、くも膜下出血、硬膜下出血)、脳梗塞、中枢神経感染症、急性代謝障害 (低血糖、低カルシウム血症、低マグネシウム血症、低・高ナトリウム血症) などが挙げられる。発症時期と頻度の高いものから鑑別診断を行い、病因を解明しつつ治療を行う。

4) 新生児痙攣の治療 (表3)

新生児痙攣の原因としては、低酸素性虚血性脳

症など、その病態自体が脳障害を起こすものが多い。新生児集中治療施設における新生児痙攣の頻度は1-2%程度と比較的高頻度であるにもかかわらず、その確立された治療法がない。これまで一般的なコンセンサスを得ている新生児痙攣の代表的治療薬はフェノバルビタールとフェニトインである。有用であることを示す論文は存在するが、それ以外の薬剤において新生児痙攣に限った randomized controlled trial を行った論文は皆無である。フェノバルビタールとフェニトイン両者とも新生児痙攣に有効であると判定されうるものの、消失したものは両者とも約40%程度であり、両者を組み合わせて治療しても60%前後であった。²⁾ このことから、フェノバルビタールとフェニトインを中心にした新生児痙攣の治療には限界がある。

4) -①リドカイン

新生児痙攣に対して第1選択剤としてフェノバルビタール (40mg/kg) が無効であった場合の第2選択剤の効果を検討したところクロナゼパム、ミダゾラムは無効 (それぞれ3例ずつのみの検討) であったが、リドカインが有効であったものが60%認められた。¹⁾ 昨年度の大澤班の全国調査において、リドカインを投与した新生児痙攣16例 (全例第2選択薬ないしそれ以降としてリドカインを投与) についての検討では、「きわめて有用」から「やや有用」まで含めると有用性は94%であった。⁷⁾ また因果関係のある有害事象は6%であった。平均投与量については初回静注量1.5mg/kg、持続静注量1.88mg/kg/hrであった (Boylan らの前方視的研究では4mg/kgで初回静注した後2mg/kg/hrで持続静注を開始し、4mg/kg/hrまで増量投与)。⁷⁾ これら国内外の結果からリドカインは新生児痙攣のフェノバルビタールないしフェニトインが充分量使用されたにもかかわらず痙攣が消失しない場合、それらにつぐ抗てんかん剤として選択してよい薬

剤であると考えられる。今後、国内においてもできれば多施設共同研究による前方視的調査が必要である。

4) -②ミダゾラム

ミダゾラムは生後から6ヶ月までは肝臓の代謝機能が成人よりも劣り、クリアランスも悪く $t_{1/2\beta}$ (排泄相半減期) も延長している。肝臓の *microsomal oxidation* による代謝は CYP3A4 によりなされるが、胎生期ではミダゾラムは胎生期肝臓で発現している CYP3A5、CYP3A7 の基質となりうる。排泄は腎臓から代謝産物である 1- α -hydroxymethyl midazolam ないし 4-hydroxy-midazolam がグルクロン酸抱合を受けて尿中に排泄される。1- α -hydroxymethyl midazolam は生物学的活性がわずかに認められるのみで、長期投与による蓄積作用がない。昨年の本研究班の報告⁷⁾では第2選択薬としてミダゾラムを使用した場合、その有用性は約70%と判定された。有害事象については血圧低下など7%であった。これまでミダゾラムに焦点をあてた形での新生児けいれんの治療に関する報告^{8),9)}は少なく今後十分な検討が必要であるが、新生児けいれんに対してミダゾラムが有効であることを示す報告である。マウス及びラットにおいて GABA 受容体は胎生期から発現し、成熟脳に比較してその作用が異なり、未熟であり、時期によっては抑制系よりはむしろ興奮系として働くことが判明している¹⁰⁾。実際新生児に投与した場合不随意運動など興奮性に働いていることを示唆する副作用も報告されているものの、新生児脳障害をきたし新生児痙攣となった未熟児において投与しても十分な効果が認められている。小児痙攣重積症に対するミダゾラムの有効率は80-90%であるが、新生児痙攣に対するミダゾラムの有効率がやや低いのは上述のようにGABA受容体の抑制系に働く作用が低いことや、新生児痙攣を来たす脳障害が新生児

期の場合重篤なものが多いことなどが理由として考えられる。有害事象が他の小児痙攣重積症に比較して多い理由として、新生児ではミダゾラムの代謝および排泄機能が遅延しているため、小児期における投与量としては通常量と考えられる用量を使用してもその血中濃度が比較的高値に至った可能性がある。したがって将来的に新生児痙攣にミダゾラムを使用しゆく場合血中濃度の測定を同時に施行し検討しゆくことが望ましいと考えられる。

D. 考察

今回の後方視的研究のみでは、新生児痙攣の治療に関する十分なエビデンスが得られないため、可能であればリドカイン、ミダゾラムのみならず他剤についてもまず後方視的研究を行うことが必要である。また、前方視的研究を行い、新生児領域についても十分なエビデンスに基づいた安全な痙攣治療がなされることが期待される。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表 文献⁸⁾

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

文献

- 1) Boylan GB, et al. Second-line anticonvulsant treatment of neonatal seizures A video-EEG monitoring study. *Neurology* 62:486-488, 2004.
- 2) Painter MJ, et al. Phenobarbital compared with phenytoin for the treatment of neonatal seizures. *N Eng J Med* 341 : 485-489, 1999.
- 3) Hall RT, et al. High-dose phenobarbital therapy in term newborn infants with severe perinatal asphyxia: a randomized, prospective study with three-year follow-up. *J Pediatr.*; 132 : 345-8, 1998.
- 4) Jiao FY, et al. Randomized, controlled trial of high-dose intravenous pyridoxine in the

treatment of recurrent seizures in children. *Pediatr Neurol.* 17:54-7, 1997.

5) Volpe JJ : *Neurology of the newborn*, 4th ed., Saunders, Philadelphia, p178-214, 2001.

6) Fenichel GM: *Clinical pediatric neurology*, 4th ed., Saunders, Philadelphia, p1-46, 2001.

7) 大澤真木子 : 厚生労働科学研究費補助金 (効果的医療技術の確立推進臨床研究事業) 小児のけいれん重積に対する薬物療法のエビデンスに関する研究 平成15年度総括・分担研究報告書, 2004.

8) Yamanouchi H, et al. Midazolam in the

treatment of neonatal seizures. *Ann Neurol* 56(suppl 8): S102, 2004.

9) Sheth RD, et al. Midazolam in the treatment of refractory neonatal seizures. *Clin Neuropharmacol.* 19:165-70, 1996.

10) Staley KJ, et al. Ionic mechanisms of neuronal excitation by inhibitory GABA(A) receptors. *Science* 269: 977-81, 1995.

表1 新生児痙攣の発作分類⁵⁾

| 発作型 | 発作波 | 頻度 | 臨床症状 |
|------------------|-----|----|---|
| Subtle | ○ | 多い | 眼球側方偏位 (成熟児に多い)、眼球正中固定 (未熟児に多い)、反復性吸啜 (未熟児に多い)、口唇頬舌の運動、ペダル踏運動、自律神経症状、無呼吸 (成熟児に多い) |
| Clonic | | | |
| Focal | ○ | 多い | 身体の一部に限局した反復する間代性けいれん。意識障害を伴わない。 |
| Multifocal | ○ | 多い | 身体が多焦点において同期的あるいは非同期的に見られる反復する間代性けいれん。 |
| Tonic | | | |
| Focal | ○ | まれ | 頸部体幹四肢の非対称的な姿勢の持続保持。眼球の偏位だけなら Subtle seizure と紛らわしい。 |
| Generalized | × | 多い | 頸部体幹四肢の対称的な姿勢の持続保持。自律神経症状を伴えば脳波異常を呈する。 |
| Myoclonic | | | |
| Focal | × | 多い | 身体の一部に見られる (通常四肢) 不規則な早い筋収縮。 |
| Multifocal | × | 多い | 身体が多焦点に見られる (通常四肢) 不規則な早い筋収縮。 |
| Generalized | ○ | まれ | 四肢 (上肢優位) の対照的な通常屈曲を伴う早い筋収縮。 |

表2 新生児痙攣の原因⁶⁾

生後 24 時間以内

1. 細菌性髄膜炎、敗血症
2. 薬物
3. 低酸素性虚血性脳症
4. 子宮内感染症
5. 脳室内出血（満期産児）
6. 脳硬膜損傷
7. ピリドキシン依存症
8. くも膜下出血

2 4 時間から 7 2 時間以内

1. 細菌性髄膜炎、敗血症
2. 硬膜下出血を伴う脳挫傷
3. 脳形成異常
4. 脳梗塞
5. 薬物離脱
6. グリシン脳症
7. 糖原病
8. 副甲状腺機能低下症
9. 脳静脈血栓症
10. 色素失調症
11. 脳内出血
12. 脳室内出血（未熟児）
13. ピリドキシン依存症
14. くも膜下出血
15. 結節性硬化症
16. 尿素サイクル異常症

7 2 時間から 1 週間以内

1. 家族性新生児痙攣
2. 脳形成異常
3. 脳梗塞
4. 副甲状腺機能低下症
5. 脳静脈血栓症
6. 脳内出血
7. 核黄疸
8. メチルマロン酸尿症
9. プロピオン酸血症
10. 食餌性低カルシウム血症
11. 結節性硬化症
12. 尿素サイクル異常症

1 週間から 4 週間以内

1. 副腎白質ジストロフィー、新生児型
2. 脳形成異常
3. フルクトース代謝異常症
4. ゴーシェ病 2 型
5. GM1 ガングリオシドーシス 1 型
6. ヘルペス脳炎
7. 脳静脈血栓症
8. 楓シロップ尿症、新生児型
9. 結節性硬化症
10. 尿素サイクル異常症

表3 新生児痙攣の治療

痙攣出現時

I 血糖値<50mg/dl 未満(低血糖の定義は血糖値<40mg/dl)

1. 10%ブドウ糖*2ml/kgを1分間かけて静注

II 血糖値>50mg/dl 以上

抗てんかん薬(1より順番に施行)

1. フェノバルビタール 20-40mg/kg(筋注)

2. フェニトイン**20mg/kg 静注(1mg/kg/min以下の速度で)

3. ミダゾラム 0.1-0.3mg/kg 静注

4. リドカイン*** 2-4mg/kg 静注(0.2mg/kg/minの速度で)

5. ペントバルビタール****ないしチオペンタール**** 3-5mg/kg 静注

6. カルバマゼピン 10 mg/kg?(PO; 2-4時間後に判定)

IIIその他

1. 低カルシウム血症(成熟児で8mg/dl、未熟児で7mg/dl 未満)

8.5%グルコン酸カルシウム*****2ml/kgを蒸留水で倍希釈し10分間かけて静注

2. 低マグネシウム血症(低カルシウム血症に合併)

10%硫酸マグネシウム*****1ml/kgを静注

3. ピリドキシン依存症の治療

磷酸ピリドキシン 50-100mgを静注

維持療法

1. ブドウ糖 8 mg/kg/minで持続静注(12 mg/kg/minまで増量; 血糖 70-100mg/dlを維持できれば適宜減量)

血糖 50 mg/dlを維持できなければヒドロコチゾン 5 mg/kgを12時間毎に静注

2. フェノバルビタール 3-4 mg/kg/day(分2筋注、経口、挿肛)

3. フェニトイン** 3-4 mg/kg/day(分2静注)

4. ミダゾラム 0.1-0.3 mg/kg/hr(副作用に注意しながら0.5mg/kg/hrまで増量可)

5. リドカイン*** 2-4mg/kg/hr

6. ペントバルビタール****ないしチオペンタール****0.5-2mg/kg/hr

7. カルバマゼピン 10-20 mg/kg/day

8. グルコン酸カルシウム 500mg/kg/day(経口)

9. 10%硫酸マグネシウム 1ml/kg/day

注意点

*特に未熟児においては脳出血の危険があるため高浸透圧のブドウ糖投与、高血糖を避ける。痙攣状況下では脳内グルコースが低下するため十分な血糖維持(70-100 mg/dl)が必要。

**フェニトインの半減期は日齢数によって著しく変化する(生後1週間以内は60時間、生後4週では20時間)ため血中濃度に注意する。投与前後では2ml程度の生理的食塩水を静注し結晶の析出を防ぐ。静脈炎、血管からの漏出による組織壊死に注意。アシドーシスが強い場合など不整脈や血圧低下を来たしやすい。アルブミン結合でビリルビンと競合する。ミダゾラムにより血中濃度が低下する。

***リドカインは痙攣を誘発する可能性があり。不整脈にも注意。半減期が短く中止後速やかに消失するが活性代謝産物が蓄積する。

****ペントバルビタール、チオペンタールとも効果は迅速であるが急激な血圧低下をきたしやすく、昇圧剤を使用する必要がある場合が多い。

*****8.5%グルコン酸カルシウム静注時は不整脈に注意。フェノバルビタールにより低カルシウム血症

*****筋力低下・低緊張をきたすため必要以上の投与は避ける。

前方視的研究プロトコール作成のための救急病院での痙攣重積症の実態調査

分担研究者 松倉 誠 熊本大学医学部小児発達学講座 助教授

研究要旨：後方視的研究にてミダゾラムが痙攣重積治療薬として一定の薬効があることは示されたものの、後方視的研究が故に使用プロトコールが一定ではなく、エビデンスとしては限界があった。

そこで、前方視的研究の構築が必要となって来る訳であるが、プロトコール作成に当たっての痙攣重積症について、小児救急を主に行っている病院での過去2年間の実態を調査した。2年間に繰り返し痙攣重積を起こし、入院治療を受けた患者数は少なく、一番多かったのは熱性痙攣重積であった。症例数確保や痙攣重積症の重症度など考えるに当たってこのデータは利用出来ると考えた。

A. 研究目的

後方視的研究によりミダゾラムは痙攣重積状態に有効であるとの一定程度のエビデンスが得られた。しかし、使用プロトコールが必ずしも一致しておらず、評価の方法にも後方視的研究がゆえの問題点もあった。つまり、症例のカテゴリーがはっきりせず、使用に当たっての適応がまちまちであった。これらの問題点を克服すべく、前方視的研究の必要性が考えられた。

今後、前方視的研究を構築するに際して、2～3年の間に臨床的研究を多施設間で行う条件として一般救急病院で痙攣重積がどのように来しているかを検討し、ミダゾラム使用のプロトコール作成、同意の取得法の検討などに役立てる。

B. 研究方法

入院を要する痙攣患者を対象にし、ミダゾラム使用の同意取得、副作用チェック、血液検査上の変動、血中濃度検査と遺伝子多型検査の同意取得をするのに入院が必要と考えられた。そこで、痙攣発作を認め、熊本

市地域医療センターにおける救急患者として受診し、入院を要した患者を過去2年間にわたり検討した。患者氏名、病名（最終診断名）、などを調査し、患者氏名を知ることによって痙攣発作を2年間で繰り返した症例数と診断名を検討した。

患者氏名は熊本市地域医療センター内で協力医師（地域医療センター常勤医）の元で閲覧し、繰り返しているかどうかを検討し、氏名他の患者を識別出来るものはデータとして持ち出さなかった。

C. 研究結果

熊本市地域医療センターは熊本市及び周辺地域をカバーする一次及び二次救急センターであり、24時間小児科医による診療が受けられる医療機関である。熊本市及び近郊の開業小児科医と大学病院小児科医により夜間・祝祭日の時間外診療と24時間救急受付を行っている。年平均約22,000名の外来と1,800名の入院患者がいる。

最も入院患者で多かったのは熱性

痙攣で2003年90件、2004年92件であった。痙攣重積症は2003年11件、2004年16件であった。重積症の中で熱性痙攣重積は2003年8件、2004年10件と62.5%~72.7%を占めていた。良性乳児痙攣、小児良性痙攣は2003年それぞれ3件ずつ、2004年は6件、3件であった。てんかんは2003年4件、2004年1件であった。他に難治性てんかん、泣き入りひきつけ、機会性けいれん、憤怒けいれんが2年間で1件入院を要している。

2年間で2回以上入院を要する痙攣は痙攣重積1名、痙攣重積と熱性痙攣を一回ずつ1名、てんかん発作3名(全て2回)、良性乳児痙攣1名(3回入院)、熱性痙攣と良性乳児痙攣を各一回が1名であり、総計7名であった。

D. 考察

繰り返し救急で受診し、入院を要した痙攣患者は予想されたより少なかった。このことは熊本地域医療センターが救急病院で、慢性疾患であるてんかんを対象に診療を行っていないことに主に起因すると思われる。前方視的研究を行う場合、施設により異なるこのような実態を反映したプロトコールでないと、対象となる痙攣患者の数が限られると考えられる。今後の前方視的研究では、一定期間に対象患者数を一定数以上確保しなければ信頼性のある研究とはならないので、プロトコール作成は重要であり、この種のデータはプロトコール作成に欠かせない。

多施設間共同研究はこれからの臨床研究の軸となる方法であり、

Evidence-Based Medicine を実行するのに不可欠である。今回のデータは臨床研究の基礎となると考えられ、社会的意義があると思われる。

今後、多施設間前方視的臨床研究へと発展させていく事が求められる。

E. 結論

難治性てんかんでの痙攣重積症のみをミダゾラムの前方視的研究で対象とすることは、痙攣重積症の実態を反映しておらず、対象のばらつきを生み、症例数も限定されると考えられる。

F. 参考文献

1) 松倉 誠、大谷宜伸・鎮静催眠薬、神経疾患薬 小児の臨床薬理学・小児科診療・増刊号 67 巻・402-409, 2004

2) 三浦寿男、飯沼一字、佐々木望、大澤真木子、岩本弘子、平田善章、山野恒一、川脇寿、岡 金英 二、満留昭久、松石豊次郎、泉達郎、松倉誠、福山幸夫・てんかん患者を対象にした新規バルプロ酸ナトリウム徐放錠の多施設共同臨床試験成績・小児科臨床・57 巻・1729-1738, 2004
学会発表

松倉 誠 「薬理作用からみた痙攣重積の治療」第46回日本小児神経学会(平成16年7月16日) イブニングトーク
「よりよい痙攣重積治療を求めて、ガイドライン作成」

厚生労働科学研究費補助金（小児疾患臨床研究事業）
小児のけいれん重積に対する薬物療法のエビデンスに関する臨床研究

分担研究報告書

小児のけいれん重積に対する midazolam 治療計画
—midazolam の体内動態検討—

分担研究者 三浦寿男 北里大学名誉教授・重症心身障害児施設相模原療育園施設長

研究要旨

近年、小児のけいれん重積を抑制するために midazolam (MDZ) が使用されているが、その効果と安全性を確立するためには、体内動態を明らかにする必要がある。すでにわれわれは、高速液体 chromatography (HPLC) による簡便で感度、精度の高い MDZ の血中濃度測定法の開発を行い、ほぼ満足すべき測定系を確立した。しかし、MDZ の効果と体内動態を明らかにするためには、主代謝物 1-hydroxymidazolam (1-OHMDZ) の血中濃度を合わせて測定する必要がある。そこで、改めて HPLC による MDZ と 1-OHMDZ の血中濃度を同時に測定する方法の検討を行い、両者共に回収率ならびに測定値の再現性が優れた測定法を開発した。

A. 研究目的

小児のけいれん重積を抑制するために、midazolam (MDZ) が静注で使用されているが、その効果と安全性を確立するためには、体内動態を明らかにする必要がある。そこで、高速液体 chromatography (HPLC) による MDZ ならびに主代謝物 1-hydroxymidazolam (1-OHMDZ) の同時血中濃度測定法の検討を行い、十分な感度、精度で血中濃度の測定を可能にし、MDZ をけいれん重積などに使用する場合の薬物動態学的背景を明らかにする臨床研究に役立てることを目的とする。

B. 研究方法

既存の血中 MDZ 濃度測定法（平成 14 年度本臨床研究分担研究報告書参照）を基本に、1-OHMDZ 濃度との同時測定法の検討を行った。シクロヘキサンを抽出溶媒とした

測定法では、1-OHMDZ の抽出率は約 70% と不十分であった。

C. 研究結果

カラムは Mightysil RP - 18GP 3.0 × 250mm, ガードカラムは Mightysil RP - 18GP 4.6 × 5mm を使用した。

抽出溶媒はシクロヘキサン、ベンゼン、ジエチルエーテル、ジクロロメタン、クロロホルム、1-クロロブタンならびに 2-プロパノールを用い、それぞれの各種混合溶媒を試用した。その結果、シクロヘキサンと 2-プロパノールの 19:1 の混合溶媒による抽出が良好であった。最初、9:1 の混合比で抽出を試みたが、蒸発乾固後の残渣溶解液に微小固形物があり、ろ過が必要であった。これに対処するために、両者の混合比を 19:1 に変更し、良好な回収率（抽出率）を得た。

1-OHMDZ ならびに内部標準 (IS) として用いる塩酸フルラゼパムのピーク位置は、移動相の僅かの pH 変動により大きく移動する。そこで、移動相は頑健性を考慮し、pH をコントロールせず、メタノール：アセトニトリル：2-プロパノール：0.05M リン酸一カリウム溶液=42：4：1：53 とした。また、流速 0.8mL/min, 測定波長は 220nm で良好な分離が得られた (HPLC の条件ならびに別紙クロマトグラム参照)。

前処理は検体、コントロール検体 (標準血清) 0.1mL をシリル化試験管に取り、これに精製水 0.3mL, 内部標準溶液塩酸フルラゼパム (1 μg/mL) 0.1mL, 0.5M 炭酸ナトリウム 0.5mL を加えて混和する。次に、前記抽出溶媒 5mL を加えて 5 分間振とう後、2,500rpm (5°C) で 5 分間遠心を行い、ここで得た上層溶媒を他のシリル化試験管に分取して、40°C 空気流下で蒸発乾固する。残渣を移動相 150 μL で溶解した後、溶解液 100 μL を HPCL に注入し、波長 220nm で測定した。

測定法評価

1. 回収率 (抽出率)

3 濃度 (100, 500, 1,000ng/mL) のコントロール検体 (各 n=6) を用いて、前処理および測定を行い、回収率を求めた。MDZ 添加濃度 100ng/mL の回収率は $96.7 \pm 4.69\%$ 、変動係数 (CV) は 4.9%、500ng/mL では回収率 $99.3 \pm 2.56\%$ 、CV2.6%、1,000ng/mL では回収率 $101.5 \pm 0.95\%$ 、CV0.9%でいずれも良好であった。また、

1-OHMDZ 添加濃度 100 ng/mL の回収率は $96.6 \pm 4.17\%$ 、CV4.3%、500 ng/mL では回収率 $96.6 \pm 2.48\%$ 、CV2.6%、1,000 ng/mL では回収率 $99.7 \pm 1.52\%$ 、CV1.5%であった。

2. 再現性

3 濃度 (100, 500, 1,000ng/mL) のコントロール検体 (各 n=5) について、前処理および測定を行い、同時に作成した検量線より併行精度を評価した。MDZ ならびに 1-OHMDZ の真度はそれぞれ $\pm 15\%$ 以内で、CV も 2.4~2.5%、1.6~2.8%と良好であった。

3. 定量限界

5, 7, 10ng/mL のコントロール検体 (各 n=2) を調整して前処理および測定を行い、同時に作成した検量線より濃度を算出した。定量限界は、真度と精度を満足する濃度として、MDZ, 1-OHMDZ 共に 10ng/mL とした。

4. 直線性

ブランク血清に MDZ ならびに 1-OHMDZ それぞれの標準溶液を正確に添加して調整した MDZ 8 濃度 (10, 50, 100, 500, 1,000, 2,000, 5,000, 10,000ng/mL)、1-OHMDZ 6 濃度 (10, 50, 100, 500, 1,000, 2,000 ng/mL) の標準血清を前処理、測定して検量線を作成した。MDZ の直線式は $Y (\text{MDZ/IS}) = 8.112 \times 10^4 X (\text{ng/mL}) - 0.014$ 、相関係数 $r=0.9999$ 、1-OHMDZ の直線式は $Y = 9.817 \times 10^4 X - 0.012$ 、 $r=0.9988$ で、検量線は共に良好な直線性を示し、真度も $\pm 15\%$ 以内であった。

D. 考 察

既に確立した血中 MDZ 濃度の測定法を基本として、主要代謝経路の第一次代謝物 1-OHMDZ 濃度との同時測定法を検討した。シクロヘキサンを抽出溶媒とした従来の測定法では、1-OHMDZ の抽出率は約 70%と不十分であったが、このシクロヘキサンと 2-プロパノールの混合溶媒（混合比 19:1）で良好な回収率（抽出率）を得た。

次に、移動相の組成比を種々変更し、ブランク血清（健常人血清）ならびに MDZ および 1-OHMDZ 500ng/mL を含む標準血清を用いて、クロマトグラム上の MDZ ならびに 1-OHMDZ のピークの分離ならびに形状を検討した。そして、血清中の他の夾雑物とよく分離し、MDZ ならびに 1-OHMDZ 共に急峻なピークが得られるメタノール：アセトニトリル：2-プロパノール：0.05M リン酸一カリウム溶液=42：4：1：53 を移動相として採用した。

1-OHMDZ は、抽出過程で、予想したよりも安定であった。蒸発乾固も、40℃での空気と窒素ガス吹き付けで差異を認めなかった。また、凍結融解を 5 回まで行ったコントロール検体（MDZ ならびに 1-OHMDZ 500ng/mL の標準血清）、4℃ならびに室温で 5 日間まで保存した

コントロール検体の測定値は MDZ、1-OHMDZ 共に安定していた。

1-OHMDZ については、薬理学的活性の有無に関して両論があるが、MDZ の体内動態を一層明確にし、MDZ の効果と安全性をより明確にするためには、1-OHMDZ の血

E. 結 論

抽出溶媒ならびに移動相に検討を加え、サンプリング量が 0.1mL で可能な、良好な MDZ ならびに主代謝物 1-OHMDZ の同時測定法が構築できた。今後、MDZ 使用例を対象に、MDZ ならびに 1-OHMDZ の血中濃度を測定し、MDZ の体内動態を明らかにして、これを小児のけいれん重積への臨床応用につなげたいと考えている。

F. 研究協力者

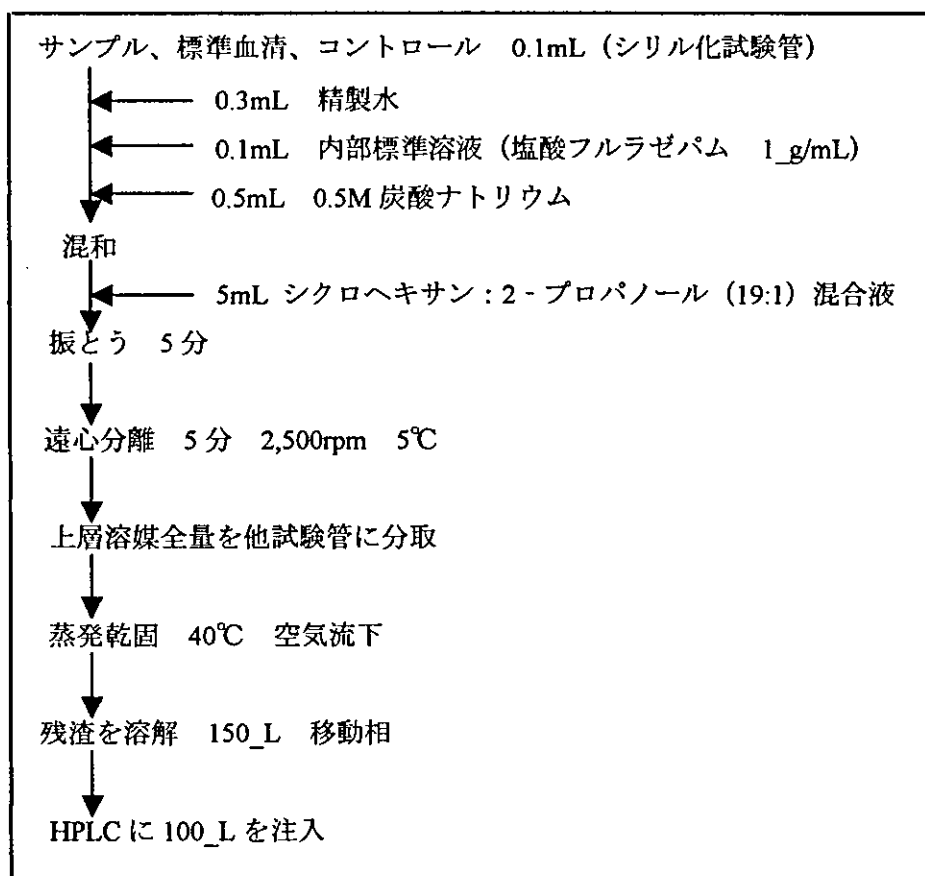
1. 岩崎俊之 北里大学医学部小児科
2. 小舘慎哉 SBS（株）研究開発課

G. 参考文献

- 1) Vree TB, Baars AM, Booij LHD, et al. Simultaneous determination and pharmacokinetics of midazolam and its hydroxymetabolites in plasma and urine of man and dog by means of high-performance liquid chromatography. *Arzneim-Forsch/Drug Res* 1981 ; 31 (II) : 2215 - 2219.
- 2) Puglisi CV, Pao J, Ferrara FJ, et al. Determination of midazolam (Versed[®]) and its metabolites in plasma by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 1985 ; 344 : 199 - 209.
- 3) Chan K, Jones RDM. Simultaneous determination of flumanil, midazolam and metabolites in human biological fluids by liquid chromatography. *J Chromatogr* 1993 ; 619 : 154 - 160.

- 4) Mastey V, Panneton A - C, Donati F, et al. Determination of midazolam and two of its metabolites in human plasma by high - performance liquid chromatography . J Chromatogr B 1994 ; 655 : 305 - 310.
- 5) Ma F, Lau CE. Determination of midazolam and its metabolites in serum microsamples by high - performance liquid chromatography and its application to pharmacokinetics in rats. J Chromatogr B 1996 ; 682 : 109 - 113.
- 6) Carrillo JA, Ramos SI, Agundez JAG, et al. Analysis of midazolam and metabolites in plasma by high - performance liquid chromatography : probe of CYP3A. Ther Drug Monit 1998 ; 20 : 319 - 324.
- 7) 岩崎俊之, 三浦寿男, 砂押 渉, ら. けいれん重積に対する midazolam の血中濃度測定に関する検討 (予報) - 測定法を中心に -. TDM 研究 2004 ; 21 : 191 - 192.

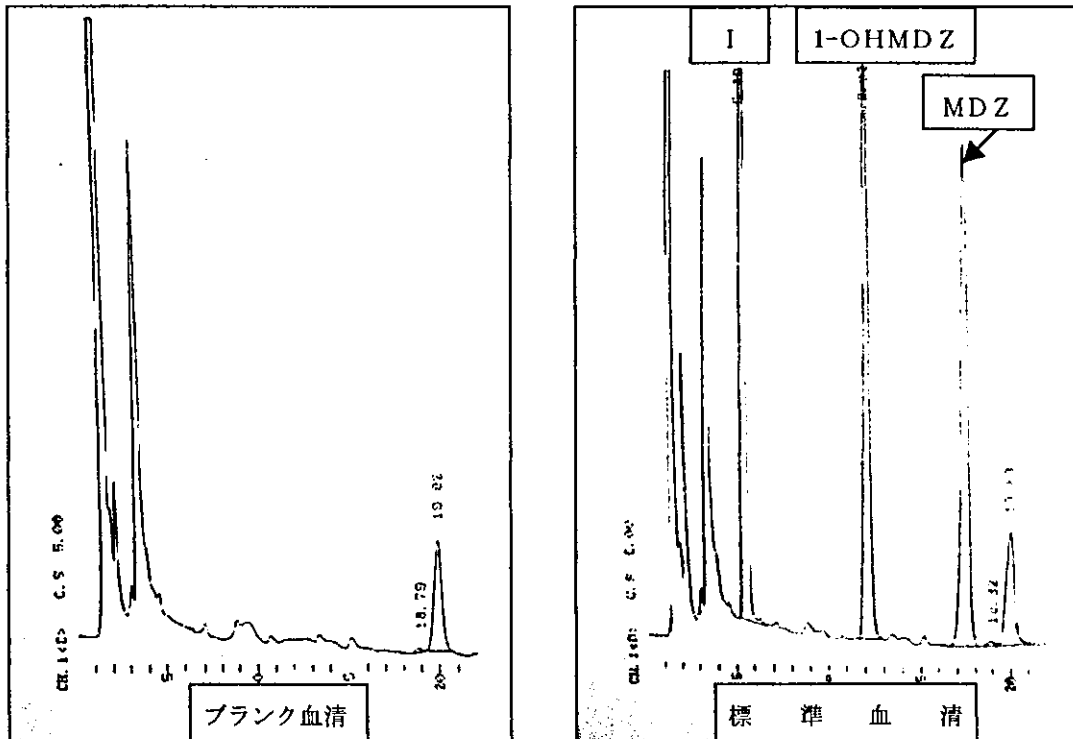
測定法フローチャート



HPLCの条件

| | |
|--------|--|
| カラム | Mightysil RP-18GP ϕ 3.0 \times 250mm |
| ガードカラム | Mightysil RP-18GP ϕ 4.6 \times 5mm |
| 移動相 | メタノール：アセトニトリル：2-プロパノール：0.05M リン酸-カリウム溶液=42：4：1：53 |
| 流速 | 0.8mL/min |
| 検出器 | UV 220nm |
| 注入量 | 100 μ L |
| カラム温度 | 55 $^{\circ}$ C |

ブランク血清および標準溶液添加血清のクロマトグラム



厚生労働科学研究費
小児疾患臨床研究事業
分担研究報告書

小児のけいれん重積に対する薬物療法のエビデンスに関する臨床研究

分担研究者 加藤 郁子 東京女子医科大学衛生学公衆衛生学教室(二) 助手
主任研究者 大澤真木子 東京女子医科大学小児科 主任教授

研究課題

後方視的多施設共同研究のデータ解析、血中濃度測定における倫理問題の検討

研究要旨

けいれん重積症例のけるミダゾラム血中濃度測定の情報収集に関して、症例の個人情報、検体取り扱いについて、日本疫学会「疫学研究を実施するに当たっての倫理指針」2005年4月施行の「個人情報の保護に関する法律」を検討し、適切な取扱いがなされるよう考慮した。

目的

ミダゾラム血中濃度測定における検体、患者情報の取扱いに関して適正な取扱いを目指す。

研究内容・結果

日本疫学会の「疫学研究を実施するにあたっての倫理指針」は日本疫学会会員が実施する研究が対象となるが、個人データを取り扱う今回のミダゾラム血中濃度測定に当たっては倫理問題が生じる恐れもあり、再度確認が必要と考えられた。指針によれば以下のとおりである。

<インフォームド・コンセント>

研究を実施するにあたっては、対象者に対して研究の意義、目的、方法、予想される結果、対象者の負担などを十分に説明した上で、対象者本人の自由意志に基づく研究参加の同意を得る

こと(以下「インフォームド・コンセントを得る」とする)を原則とする。この場合の対象者への説明や、対象者の同意の意思表示の方法は対象者に与える可能性がある危険や負担と比較して均衡を逸したものであってはならない。インフォームド・コンセントを得る手順は次のとおりとする。

(1) 曝露に関して対象者に介入を行う研究(以下、「介入研究」)

研究者が対象者個人に対して曝露状態を指定する介入研究では、文書によるインフォームド・コンセントを得ることを原則とする。ただし集団単位で割付を行う介入研究では研究実施についての情報公開を行い、かつ、研究対象になることを拒否できるものとするれば、対象者個人のインフォームド・コンセントまでは必要としない。

(2) 介入研究以下の研究(以下「観

察研究]とする)

インフォームド・コンセントを得ることを原則とする。侵襲性を有するデータ収集や臓器保存など、将来にわたり情報量が増加する可能性があるデータを曝露資料として含む研究では文書によるインフォームド・コンセントを原則とする。これ以外の人体から採取された試料を用いる観察研究では文書によるインフォームド・コンセントは必要ないが、説明の内容および同意に関する記録が研究者によって作成されなければならない。人体から採取された試料をもちいない観察研究では研究実施についての情報公開を行い、かつ、研究対象となることを拒否できるものとするれば対象者個人のインフォームド・コンセントは必要ない。

(3) 既存データのみ用いる研究
既存データのみを用いる研究では、データを収集した段階でのインフォームド・コンセントの範囲を超える利用について、可能な限りインフォームド・コンセントを再度得る努力を行う。しかしこれが事実上不可能な場合には、研究実施についての情報公開を行えば、研究対象者からのインフォームド・コンセントは必ずしも必要とはしない。

(4) 研究開始以前に人体から採取された試料を用いる研究
研究開始前に人体から採取された試料を用いる研究では、試料採取時又は研究開始時に対象者からインフォームド・コンセントを得ることを原則と

する。ただし、インフォームド・コンセントを得ることができない場合又はきわめて困難な場合には、次のどちらかによるものとする。

- a. 試料から氏名、住所など対象者を同定できる情報(個人同定情報)を除去して使用する
 - b. 次のすべてを実施する
 - (ア) 研究の実施についての情報公開を行う
 - (イ) 対象者となることを拒否できることを保障する
- (5) 対象者本人のインフォームド・コンセントを得ることができない研究または極めて困難な研究

対象者本人のインフォームド・コンセントを必要とする研究で、インフォームド・コンセントを得ることが研究の性質上不可能または極めて困難な場合、あるいは法的に有効な意思表示ができない場合には次の手順で研究を行う。

- a. 対象者が成人で説明の内容を理解できない、または意思表示ができない場合は対象者の法定代理人など、代諾者のインフォームド・コンセントで代用する。
- b. 対象者が未成年である場合
対象者が 15 歳以上である場合には本人のインフォームド・コンセントとともに、親権者のインフォームド・コンセントを得ることを原則とする。対象者が 14 歳以下

の場合には親権者のインフォームド・コンセントをもって本人のインフォームド・コンセントとみなすが、対象者本人にも理解力に応じた説明を行い、承諾を得る努力をおこなわなければならない。今場合の本人への説明と承諾はインフォームド・コンセントを得る場合に求められている方法に従う必要はない

c. 既に対象者が死亡している場合

生前における明示的な意思に反していない場合にはインフォームド・コンセントを得たものとする。

(6) 他の機関からデータや試料の提供を受けて行う研究

他の機関からデータや試料の提供を受けて研究を行う場合には、対象者の同意を得ることを原則とする。対象者の同意を得ることができない場合には次のいずれかの方法で提供を行う。

a. データや試料から個人同定情報はせずして匿名化する

b. 次の2項目を満たす

(ア) 当該研究の実施について情報公開を行う

(イ) 対象者に協力拒否の機会を保障する

(7) 上記の原則でインフォームド・コンセントを得ることができない研究

研究の性質に鑑み、上記(1)から(6)の方法でインフォームド・コンセントを得られない社会的に重要な研究の場

合には、次の要件を満たす場合に限り、原則と異なるインフォームド・コンセントを得る方法(軽減・免除を含む)を採用することができる。

a. 研究対象者に対して、通常の日常生活や、通常の診療上の生理学的・心理学的検査によるものを超えると予想される危害や不快感を与えないこと

b. その研究を行うことが対象者の不利益とならないこと

c. その研究によらなければ、事実上、研究の目的を達成できないこと

d. 可能な場合には、次のいずれかの措置が講じられること

(ア) 研究対象者が含まれる集団に対して、データの収集・利用の目的を、方法も含めて広報すること

(イ) できるだけ早い時期に、対象者に事後的説明(集団に対するものも可)を行うこと

(ウ) データ収集や利用が長期間にわたって継続的に行われる場合には、その実状をデータ収集や利用の方法も含めて広報し、社会へ周知するように努めること

<対象者の参加拒否の意思表示があった場合の取扱>

インフォームド・コンセントを得た後、あるいは研究についての情報公開を行った後に、参加者(候補者を含む)から拒否の意思表示があった場合には、既に収集された当該対象者のデータや試料を破棄することを原則とする。

ただし既に集団としての解析結果が出ているものについては、結果を破棄する必要はない。

拒否を認めることにより研究が成立しなかったり、科学的妥当性が損なわれることにより、著しく社会的に不利益を及ぼす場合には引き続き当該対象者のデータや試料を利用することができる。この場合には拒否を認めることができない理由について、当該対象者および社会に対して説明を尽くすものとする

＜守秘管理＞

対象者から収集した個人に関するデータ、試料の保管については、不当にアクセス(入手、修正、削除、利用)されない、また、紛失や盗難が起こらないよう管理する義務を負う。

＜研究結果の公表＞

研究結果は可能な限り速やかに、適切な方法で公表されなければならない。この場合、本人のインフォームド・コンセント(文書に限る)がある場合を除いて、対象者個人を特定できる形式での発表は認められない。

＜個々の研究が本指針に適合するかの判断＞

個々の研究が本指針に適合するかの判断は、日本疫学会倫理審査委員会、または会員の所属する施設における倫理問題を審査する組織(倫理審査委員会など)に委ねるものとする。

上記において他の機関からデータや試料の提供を受けて行う研究については、それぞれの提供機関において倫理審査委員会などの承認を得る必要

があるが、これを行うことができない場合には提供機関の依頼により他の倫理審査委員会などの承認でもよい。

＜国の倫理指針との関係＞

本指針は文部科学省および厚生労働省の「疫学研究に関する倫理指針」(平成14年6月17日)に準拠しており、本指針を満たす研究は国の指針においても問題はない。

一方、4月から施行される「個人情報の保護に関する法律」は、個人情報取扱事業者に対して適切な個人特定情報の取り扱い方を求める法であって、上記疫学研究を実施するにあたっての倫理指針を参考に対処すれば問題は生じないと考えられる。

参考図書

- 1) Kenneth J. Rothman Sander Greenland Modern epidemiology: Lippincott Williams & Wilkins
- 2) R. A. Fisher Statistical methods experimental design and scientific inference : oxford science publications
- 3) 日本疫学会:「疫学研究を実施するにあたっての倫理指針」(2002年10月25日)
- 4) 個人情報の保護に関する法律
- 5) これだけは知っておきたい個人情報保護法: 日本経済新聞社

**けいれん遷延状態および発作頻発状態における
ミダゾラム静注療法の有効性・安全性に関する研究
—前方視的多施設共同研究プロトコル（案）—**

厚生労働科学研究 効果的医療技術の確立推進臨床研究事業

小児のけいれん重積症に対する薬物療法のエビデンスに関する臨床研究

東京女子医科大学小児科

大澤真木子

大阪市立大学大学院医学研究科発達小児医学

山野恒一

ver 0.30

作成日：2004年 2月27日

改訂日：2004年12月17日

改訂日：2005年 2月18日

目 次

1. 治験実施計画の概略
2. 治験スケジュール
 - 2.1 治験のフローチャート
 - 2.2 治験の観察項目
3. 治験実施体制
 - 3.1 治験実施医療機関及び自ら治験を実施する者（治験責任医師）
 - 3.2 治験調整医師
 - 3.3 効果安全性評価委員会
 - 3.4 臨床薬理学者
 - 3.5 治験事務局
 - 3.6 監査責任者
 - 3.7 開発受託機関（CRO）
4. 開発の経緯
5. 治験の目的
6. 対象
 - 6.1 選択基準
 - 6.2 除外基準
 - 6.3 中止基準
7. 被験者への説明及び同意
 - 7.1 同意説明文書の作成
 - 7.2 治験内容等の説明及び同意取得
 - 7.3 新たな情報の入手、同意説明文書の改訂
 - 7.4 その他の事項
8. 治験薬等
 - 8.1 名称及び組成
 - 8.2 製造番号
 - 8.3 治験薬の包装及び表示
 - 8.4 治験薬提供者
 - 8.5 治験薬の管理
9. 治験方法
 - 9.1 治験のフローチャート
 - 9.2 治験のスケジュール
 - 9.3 治験の種類、デザイン
 - 9.4 投与方法及び投与量
 - 9.5 目標症例数
 - 9.6 治験期間
 - 9.7 治験実施期間
10. 前治療・併用禁止薬・併用薬
 - 10.1 前治療
 - 10.2 併用禁止薬
 - 10.3 併用薬
11. 治験への登録