

運動障害や過眠症についてはさらに独立した治験計画が必要である。

#### 不眠治療の効果判定と評価の問題点

睡眠薬の効果判定には睡眠障害についての患者の主観的評価と終夜ポリグラフ (PSG) による客観的評価があげられる。不眠症患者において主観的評価は睡眠の改善が得られることの第一の指標である。睡眠導入作用として主観的、客観的評価には睡眠潜時が用いられ、睡眠維持作用として入眠後の覚醒回数と中途覚醒時間

が使われる。総睡眠時間と睡眠効率を導入作用と維持作用の両方を反映するものである。睡眠の質に関しては起床時の自覚的睡眠感、睡眠深度、総合的自覚評価などが使われる。PSG では睡眠段階の正常化が基準になり、浅睡眠、深睡眠、レム睡眠の出現率、睡眠サイクルの規則性、睡眠中の異常行動や無呼吸がないことなどがあげられる。しかし、PSG 所見と自覚的睡眠感が必ずしも一致しておらず、薬効の評価でも問題になる。従来の睡眠薬で得られた PSG の変化を表 4 に示した。

表4 睡眠薬が睡眠構築に与える影響

薬物系列	バルビツール系睡眠薬		非バルビツール系睡眠薬		ベンゾジアゼピン系睡眠薬								非ベンゾジアゼピン系睡眠薬		
	AMB	PTB	GTM	MTQ	長時間～中間作用型				短時間～超短時間型				ZPC	ZPD	
薬剤名	AMB	PTB	GTM	MTQ	NZP	FZP	EZM	TZM	ETZ	BZM	RMF	LMZ	BAHS	ZPC	ZPD
覚醒段階	↓	↓	→	→	↓	→↓	↓	→↓		↓↓	↓↓	→↓	→	↓↓	↓
第1段階	→	→	→	↓	↓↓	→↓	↓	→↓	→	↓↓	↓	↓	↓	↓↓	↓
第2段階	↑↑	↑	↑↑	→	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑	→↓	↑	→	↓	→	→
第3+4段階	↓	↓↓	↓	→	↓↓	↓↓	↓↓	→	→	→	↓	→	→	↑↑	↑↑
REM段階	↓↓	↓	↓↓	↓	↓↓	↓→	→	→↓	↓↓	→↓	→	→↓	↑↑	→	→
REM段階 (離脱夜)	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↓→	↑	→↑	→	→	→	→	↑	→	→

AMB: Amobarbital 200mg PTB: Pentobarbital 100mg GTM: Glutethimide 500mg MTQ: Methaqualone 300mg NZP: Nitrazepam 5mg  
 FZP: Flurazepam 30mg EZM: Estazolam 2mg TZM: Triazolam 0.25mg ETZ: Etizolam 2mg BZM: Brotizolam 0.25-0.6mg  
 RMF: Rilmezapone hydrochloride 1-2mg LMZ: Lormetazepam 1-2mg BAHS: Butoclamide semisuccinate 600mg  
 ZPC: Zopiclone 10mg (アモバン) ZPD: Zolpidem 10mg (マイスリー)

#### BZ系睡眠薬の有用性

これまでにBZ系睡眠薬の有用性について多くの報告があり、メタ解析でも明らかにされているが、実施期間が短期間である (Holbrook, et al, 2000, 内山真、2006)。これまでの報告をまとめると、BZ系睡眠薬では睡眠時間を短縮し、総睡眠時間を延長させる。中途覚醒回数や中途覚醒時間など睡眠維持に関する作用につ

いては、半減期の長いもの、高用量使用によりその効果がみられる。

BZ薬物の催眠作用は臨床有効血中濃度に達して入眠するまでの時間と臨床的有效血中濃度を上回っている時間 (作用持続時間) が関連する。前者は最高血中濃度に達するまでの時間、後者は血中半減期が参考になる。表5には現在わが国で広く使用されているBZ系薬物を作用時間別に列記した。

表5 わが国で使用されているベンゾジアゼピン系睡眠薬

作用時間	一般名	商品名	臨床用量 (mg)	消失半減期 (時間)
超短時間作用型	トリアゾラム	ハルシオン	0.125~0.375	2~4
	ゾピクロン	アモバン	7.5~10	4
	ゾルピデム	マイスリー*	5~10	2
短時間作用型	エチゾラム	デパス	1~3	8
	プロチゾラム	レンドルミン	0.25~0.5	7
	リルマゼポン	リスミー	1~2	10
	ロルメタゼパム	エバミール・ロラメット	1~2	10
中間作用型	ニメタゼパム	エリミン	3~5	21
	フルニトラゼパム	ロヒプノール・サイレース	0.5~2	24
	エスタゾラム	ユーロジン	1~4	24
	ニトラゼパム	ベンザリン・ネルボン	5~10	28
長時間作用型	フルラゼパム	ダルメート・ベンゾール	10~30	85
	ハロキサゾラム	ソメリン	5~10	85
	クアゼパム	ドラル	15~30	36

\*非ベンゾジアゼピン系睡眠薬

### 長期使用による問題点

睡眠薬使用はその原因や状況により長期継続使用となる場合がある。慢性の身体疾患、精神生理性不眠、うつ病などの精神疾患に伴う不眠、交代勤務による不眠などに多くみられる。BZ系睡眠薬は耐性の形成がなく、同じ条件で使用すればいつでも同じ効果がみられるとされていた。しかし長期使用により弱い耐性・依存の形成がみられ、中断により離脱症状が出現する臨床常用量依存に移行する場合がある。

長期に服用した場合、薬を急に中断すると軽度の自律神経症状、精神的不安や興奮などの症状がみられる場合もあることから、少量の服用を継続している状況である。今後の臨床治療において薬物の使用期間、用量、アルコールとの併用なども考慮すべき課題である。

高齢者における使用の問題点としても加えられる長期使用の要因として、生活習慣や睡眠の要求水準があげられる(内山、2006)。入院、施設入所患者では21時頃の消灯、入床となっている場合や、なかなか眠れないからと夕方早い時刻から入床し朝まで10時間以上も臥床している場合もある。介護側も入床時間中に睡眠をとるため過剰な睡眠薬投与が継続される場合もある。患者も医療側もこのような誤った考えを訂正すべきである。

### 高齢者における睡眠薬使用の問題点

筋弛緩作用の強いBZ睡眠薬や長時間作用型BZは夜間の覚醒時や昼間の転倒などのリスクを高める(Herings, 1995)。Kelly(2003)は高齢者の服用薬を7種に分類し、転倒の危険性について検討した。そのなかで有意に危険性の高い薬物は麻酔薬、抗うつ薬、抗けいれん薬であった。Eusrud(2002)らは同様の研究で抗うつ薬、抗けいれん薬、BZをあげている。まとめてみると、睡眠薬のみならず多様の中樞神経作用薬が高齢者における転倒の危険性を高めており、特に抗うつ薬で危険性が高いことに注意すべきである。

さらに最近の調査によると睡眠障害が高齢者における転倒のリスクを高めていることが指摘されている。大規模コミュニティ調査では睡眠薬の使用ではなく、自覚的な睡眠の問題が転倒の危険因子であった(Brassington, 2000)。

BZの長期使用による高齢者の認知機能低下が報告されている(Allard, 2003、Curran, 2003、PatMcAndrews, 2003、Paterniti, 2002)。しかしこれらの研究報告は横断的、後方視的研究であり、薬物と認知障害の因果関係についての結論は得られていない。

このように高齢者の睡眠薬使用についてさまざまな問題点があげられているが、加齢による睡眠の生物学的変化とともに睡眠薬の薬理作用や合併身体疾患、さらに生活習慣などを総合的に検討すべきであろう。

### D. 考察

#### 睡眠薬開発今後の問題点

以上のような睡眠薬開発の歴史からその臨床評価に関して抽出される課題を挙げる。

#### i. 患者の選択

さまざまな精神疾患治療薬と同様に睡眠薬はその症状の改善が主たる指標であ

るが、不眠症治療薬治験にはその対象患者の選択が困難な場合がある。原発性不眠とされる精神生理性不眠が対象患者として選択されるが、患者の睡眠環境、生活条件などから治験エントリーの導入検査で脱落する患者が多い。さらに長期化した重症例では睡眠時間を過小評価する睡眠誤認の症例もみられる。高齢者は睡眠薬使用の最も多い年齢層であり、薬物効果に影響する生物学的老化を判定する方法が十分に開発されていない。体内での薬物動態に若年者のデータを利用することは不適切であり、加齢に即した薬物動態調査が必要である。

## ii. 効果判定について

主観的、客観的評価が一致しない場合があったり、また PSG 睡眠段階評価が薬効発現にどの程度関与しているかがいまだ明らかにされていないことなどがあげられる。これらの評価をより適切に行うための基礎研究も必要である。

## 3) プラセボ効果

これまでの治験においての睡眠薬のプラセボ治験効果が大きいことが報告されている (Buscemi et al, 2007)。今後の短期試験、長期試験においてもプラセボ効果を考慮したうえで適切な被験者を選択することも重要である。

## E. 結語

近年の睡眠、睡眠障害に関する疫学調査から睡眠薬の需要は今後ますます増大する傾向が明らかにされている。睡眠薬の使用者の年齢層は若年者から高齢までの広域にわたることから、年齢を考慮した薬物の動態とともに副作用についての検討が必要である。近來のベンゾジアゼピン系睡眠薬の改善とともに新規概念の睡眠薬の開発が期待される。

## F. 健康危険情報

特になし

## 文献

1. 平成8年度健康づくりに関する意識調査報告書. 財団法人健康・体力づくり事業財団; 1998.
2. Doi Y, Minowa M, Okawa M, et al: Prevalence of sleep disturbance and hypnotic medication use in relation to sociodemographic factors in the general Japanese adult population. *J Epidemiol.* 10: 79-86, 2000.
3. Kaneita Y, Uchiyama M, Takemura S, et al: Use of alcohol and hypnotic medication as aids to sleep among the Japanese general population. *Sleep Med* 8: 723-732, 2007.
4. Rothschild AJ: Disinhibition, amnestic reactions, and other adverse reactions secondary to triazolam: a review of the literature. *J Clin Psychiatry* 53 Suppl: 69-79, 1992.
5. Oswald LM, Roache JD, Rhoades HM. Predictors of individual differences in alprazolam self-medication. *Exp Clin Psychopharmacol* 7: 379-390, 1999.
6. 村崎光邦: 睡眠薬. *医学と薬学* 38: 63-73, 1997.
7. Miyamoto M, Nishikawa H, Doken Y, et al: The sleep-promoting action of ramelteon (TAK-375) in freely moving cats. *Sleep* 27:1319-1325. 2004.
8. Fava M, McCall WV, Krystal A, et al: Eszopiclone co-administered with fluoxetine in patients with insomnia coexisting with major depressive disorder. *Biol Psychiatry* 59: 1052- 1060, 2006.
9. Walsh JK, Krystal AD, Amato DA, et al: Nightly treatment of primary

- insomnia with eszopiclone for six months: effect on sleep, quality of life, and work limitations. *Sleep* 30:959-968, 2007.
10. Holbrook AM, Crowther R, Lotter A, et al: Meta-analysis of benzodiazepine use in the treatment of insomnia. *CMAJ* 162:225-233, 2000.
  11. 内山 真: 睡眠薬に関する臨床治験の現状と課題. *臨床精神薬理* 9: 41-48, 2006.
  12. Kelly KD, Pickett W, Yiannakoulis N, et al: Medication use and falls in community-dwelling older persons. *Age Ageing* 32:503-509, 2003.
  13. Herings RM, Stricker BH, de Boer A, et al: Benzodiazepines and the risk of falling leading to femur fractures. Dosage more important than elimination half-life. *Arch Intern Med* 155: 1801-1807, 1995.
  14. Ensrud KE, Blackwell TL, Mangione CM, et al: Central nervous system-active medications and risk for falls in older women. *J Am Geriatr Soc* 50: 1629- 1637, 2002.
  15. Brassington GS, King AC, Bliwise DL: Sleep problems as a risk factor for falls in a sample of community-dwelling adults aged 64-99 years. *J Am Geriatr Soc* 48:1234-1240, 2000.
  16. Allard J, Artero S, Ritchie K: Consumption of psychotropic medication in the elderly: a re-evaluation of its effect on cognitive performance. *Int J Geriatr Psychiatry* 18:874-878, 2003.
  17. Curran HV, Collins R, Fletcher S, et al: Older adults and withdrawal from benzodiazepine hypnotics in general practice: effects on cognitive function, sleep, mood and quality of life. *Psychol Med* 33:1223-1237, 2003.
  18. Pat McAndrews M, Weiss RT, Sandor P, et al: Cognitive effects of long-term benzodiazepine use in older adults. *Hum Psychopharmacol.* 18:51-57, 2003.
  19. Paterniti S, Dufouil C, Alperovitch A: Long-term benzodiazepine use and cognitive decline in the elderly: the Epidemiology of Vascular Aging Study. *J Clin Psychopharmacol* 22:285-293, 2002.
  20. Buscemi N, Vandermeer B, Friesen C, et al: The efficacy and safety of drug treatments for chronic insomnia in adults: a meta-analysis of RCTs. *J Gen Intern Med* 22:1335-1350, 2007.

#### 参考図書

1. 臨床睡眠学 睡眠障害の基礎と臨床 . 日本臨牀 66 増刊号 : 2008.
2. Kryger MH, Roth T, Dement WC: Principles and practice of sleep medicine. Saunders, 2005.
3. 日本睡眠学会 (編) : 睡眠学. 朝倉書店、東京、2009.

#### G. 研究発表

##### G-1. 論文発表

1. Tabata R, Yin M, Nakayama M, Ikeda M, Hata T, Shibata Y, Itasaka Y, Ishikawa K, Okawa M, Miyazaki S: A preliminary study on the influence of obstructive sleep apnea upon cumulative parasympathetic system activity. *Auris Nasus Larynx* 35: 242-246, 2008.

2. Yamahara M, Noguchi T, Okawa M, Yamada N: The relationship between subjective sleep disturbance and complexity of 24-hour activity utilizing fractal theory in psychiatric inpatients. *Sleep and Biological Rhythms* 7: 11-16, 2009.
3. Gergely V, Pallos H, Mashima K, Miyazaki S, Tanaka T, Okawa M, Yamada N: Evaluation of the usefulness of the SleepStrip for screening obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome in Japan. *Sleep and Biological Rhythms* 7: 43-51, 2009.
4. Iwamitsu Y, Mikan O, Konishi M, Aoki T, Okawa M, Yamada N: Schizophrenic patients have a preference for symmetrical rectangles: A comparison with preferences of university students. *International Journal of Psychiatry in Clinical Practice* 13: 147-152, 2009.
5. Ozeki Y, Fujii K, Kurimoto N, Yamada N, Okawa M, Aoki T, Takahashi J, Ishida N, Horie M, Kunugi H: QTc prolongation and antipsychotic medications in a sample of 1017 patients with schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 34: 401-405, 2010.
6. Arimura M, Imai M, Okawa M, Fuzimura T, Yamada N: Sleep, mental health status, and medical errors among hospital nurses in Japan. *Industrial Health* 48: 811-817, 2010.
7. 池本桂子、東梅ひろ子、渋谷治男、高橋清久、大川匡子: 精神遅滞の不眠と行動障害に対する治療としての日光浴: 1 著効例. *福島医学雑誌* 58: 113~118, 2008.
8. 稲垣貴彦、辻川知之、森田幸代、山田尚登、大川匡子: 認知療法的かかわりにより腹部症状の緩解維持効果が得られた、うつ病を併発した潰瘍性大腸炎の1症例. *精神医学* 52: 27~32, 2010.
9. 大川匡子: 眠気メカニズム. *睡眠医療* 2: 124-129, 2008.
10. 大川匡子、井上雄一: 睡眠障害と経済的影響. *臨床睡眠学 睡眠障害の基礎と臨床*. *日本臨牀* 66 増刊号: 63-72, 2008.
11. 大川匡子: 睡眠奪取による精神・身体機能への影響. *臨床脳波* 50: 703-709, 2008.
12. 大川匡子: 睡眠障害の現状. *Clinical Neuroscience* 27: 138-140, 2009.
13. 大川匡子: サマータイム制度と健康について. *HOPPOKEN* 147: 40-43, 2009.
14. 大川匡子: 睡眠研究の最前線とこれからの社会との関わり. *北海道医学雑誌* 84: 149-153, 2009.
15. 宮崎総一郎、加根村 隆、大川匡子: 第Ⅲ部 治療における最近の新薬の位置付け<薬効別>~新薬の広場~新しいタイプの睡眠薬. *医療ジャーナル増刊号 新薬展望* 46: 523-528, 2010.
16. 大川匡子: 子どもの睡眠と脳の発達 - 睡眠不足と夜型社会の影響 -. *学術の動向* 4月号: 34-39, 2010.
17. 今井 眞、大川匡子: 第1部睡眠障害臨床の基礎知識 3. 睡眠のDSM診断とICSD診断. *臨床精神医学* 39: 509-515, 2010.
18. 大川匡子: 睡眠障害と糖尿病. *Diabetes Journal (糖尿病と代謝)* 38: 34-39, 2010.
19. 大川匡子: 高齢者の睡眠特性と睡眠障害の疫学. *Geriatric Medicine* 48: 729-734, 2010.
20. 大川匡子: 認知症患者の睡眠障害と生体リズムの異常. *循環器内科* 68: 489-495, 2010.

G-2. 学会発表

1. Okawa M, Mishima K: Endogenous melatonin profile and role of exogenous melatonin in the treatment of insomnia in aging. FASEB Summer Research Congress, Snowmass, 2008年8月.
2. Okawa M, Murakami J: Circadian rhythm disorders and innovative therapies. ESRS, Glasgow, 2008年9月.
3. 吉村 篤、松尾雅博、今井 眞、金井裕彦、大川匡子、山田尚登：リスペリドン内用液が健常被験者の睡眠に及ぼす影響。不眠研究会 第24回研究発表会、東京、2008年12月.
4. 山原真理、野口俊文、大川匡子、山田尚登：フラクタル理論に基づいた精神障害患者における主観的睡眠障害と24時間の活動パターンの複雑性との関係。第104回近畿精神神経学会、大阪、2009年12月.
5. 加根村 隆、宮崎総一郎、大川匡子、小池茂文：OSASスクリーニング検査におけるPMP300Eの有用性。第43回睡眠呼吸障害研究会、東京、2009年7月.
6. 相良雄一郎、今井 眞、大川匡子、宮崎総一郎、山田尚登：頑固な不眠においてSAS（睡眠時無呼吸症候群）が判明した症例。第106回近畿精神神経学会学術集会、奈良、2010年2月.
7. 相良雄一郎、今井 眞、大川匡子、山田尚登：統合失調症に併発した非24時間睡眠覚醒リズム障害の一例。第17回時間生物学会学術大会、東京、2010年11月.
8. 今井 眞、稲垣貴彦、相良雄一郎、大川匡子、山田尚登：18時間周期の活動休止リズムを呈した特異な概日リズム睡眠障害の症例。第17回時間生物学会学術大会、東京、2010年11月.
9. 相良雄一郎、今井 眞、大川匡子、山田尚登：睡眠関連摂食障害に睡眠時無呼吸症候群とムズムズ脚症候群/周期性四肢運動障害が合併した症例。不眠研究会 第26回研究発表会、東京、2010年12月.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

## ベンゾジアゼピンの依存形成性 - 1, 4-及び 1, 5-ベンゾジアゼピンの比較研究

分担研究者 大熊 誠太郎

研究協力者 黒川 和宏、水野 晃治、芝崎 真裕

川崎医科大学薬理学教室

**研究要旨** 1, 4-及び 1, 5-ベンゾジアゼピン (BZ) の依存形成性を $[^{45}\text{Ca}^{2+}]$ 細胞内流入及びL型Caチャンネル $\alpha 1c$ 及び $\alpha 1d$ サブユニットの発現変化の観点からこれらBZを連続曝露した初代培養大脳皮質神経細胞を用いて比較検討した。1, 4-BZであるジアゼパム及びプロチゾラム、1, 5-BZであるクロバザムはいずれも用量依存性及び曝露時間依存性に高K刺激による細胞内 $[^{45}\text{Ca}^{2+}]$ 流入を増加させ、そのEC50値はジアゼパムが最も低く、クロバザムが最も高値であった。これらのBZによる高K誘発性細胞内 $[^{45}\text{Ca}^{2+}]$ 流入の増加はL型Caチャンネル阻害薬であるニフェジピンにより有意に抑制されたが、N型およびP/Q型Caチャンネル阻害薬は何ら影響を及ぼさなかった。さらに、これらのBZによる連続曝露はWestern blot方による解析により $\alpha 1c$ 及び $\alpha 1d$ サブユニットの発現を有意に増加させたが、 $\alpha 1a$ 及び $\alpha 1b$ サブユニットの発現には変化が観察されなかった。これらの結果から1, 4-及び1, 5-BZはいずれもL型Caチャンネル $\alpha 1c$ 及び $\alpha 1d$ サブユニットの発現増加を誘発することが明らかとなり、またこの増加がBZによる身体依存形成に関与することが推測される。

### A. 研究目的

1, 4-ベンゾジアゼピン (BZ) は鎮静催眠薬、抗不安薬、筋弛緩薬、及び抗けいれん薬として使用される代表的薬物であり、その作用はGABAA受容体を介して発揮されることが知られている。BZはBZの臨床応用に広く鎮静催眠薬及び抗不安薬として使用されていたバルビツール酸誘導体に比して依存誘発性は低いとされているが、短時間作用性の1, 4-BZの長期使用は作用時間のより長い1, 4-BZよりも依存形成が生じやすいことが報告されており<sup>2)</sup>、投与量が多いほど、投与期間が長いほど身体依存が形成されることが知られている<sup>15)</sup>。一方、1, 5-BZであるクロバザムは抗てんかん

薬として使用されるが、使用による依存形成が指摘されている。しかし、これらのBZの依存形成機序やその相違点についてはほとんど明らかとなっていない。

一方、電位開口性Caチャンネルは興奮性細胞および非興奮性細胞の多くの細胞で発現しており、神経細胞を含む多くの活動性細胞の機能維持や炎症・感染などの病態生理学的変化に伴う細胞の機能変化に大きく関与している<sup>1)</sup>。Caチャンネルは細胞膜上に $\text{Ca}^{2+}$ を透過させる $\alpha 1$ と呼ばれるpore形成subunitと、これに付随する $\alpha 2/\delta$ 、 $\beta$ および $\gamma$ subunitから構成されている。カルシウムチャンネルを介して細胞内に流入した $\text{Ca}^{2+}$ は、生理物質の調節機能の1つとして作用して

おり、筋収縮をはじめ神経伝達物質やホルモンの放出、遺伝子転写、細胞の増殖や分化などに関与している。現在までに、当教室において依存性薬物である覚せい剤、コカイン、モルヒネ、アルコール、ニコチンを処置することにより、L型Caチャネルのup-regulationが認められることを報告しており、このL型Caチャネルの変化が依存形成に共通した機構で起こることを明らかにしている<sup>5, 6, 16)</sup>。したがって、BZによる依存形成にL型Caチャネルが関与する可能性が考えられる。そこで本研究では、BZ処置によるL型Caチャネルの変化と1,4-及び1,5-BZの相違について比較検討した。

## B. 方法

マウス大脳皮質由来神経細胞の単離および初代培養

マウス大脳皮質神経細胞の単離および初代培養は、既報に従い調整した。すなわち、胎齢15日目のddY系マウス(日本SLC, 浜松)胎児より新皮質を分画し、トリプシン処理などを加えて神経細胞を単離した。得られた神経細胞は15%牛胎児血清を含むDulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)にて3日間の培養を行った。Cytosine arabinoside (10  $\mu$ M)および10%馬血清を含むDMEMで24時間処理することにより非神経細胞の増殖を阻止したのち、10%馬血清を含むDMEMに交換し培養を継続した。実験には培養13日目の神経細胞を使用した。なお、この方法により得られた細胞の95%以上が神経細胞であることを確認した<sup>12)</sup>。

## 細胞内Ca<sup>2+</sup>動態の測定

細胞内への<sup>[4, 5Ca<sup>2+</sup>]</sup>流入の測定は、神経細胞をCa<sup>2+</sup>-free KRB (pH7.4)中で10分間のpreincubationを行った後、<sup>[4, 5Ca<sup>2+</sup>]</sup>Cl<sub>2</sub> (1  $\mu$ Ci <sup>[4, 5Ca<sup>2+</sup>]</sup> Cl<sub>2</sub>/dish)を含むKRB中で、30mM KCl刺激添加後2分間

に細胞内に取り込まれた<sup>[4, 5Ca<sup>2+</sup>]</sup>放射活性を測定することにより行った<sup>11)</sup>。なお、 $\omega$ -agatoxin VIA、 $\omega$ -conotoxin GIVA およびnifedipineは、1,4-及び1,5-BZの処置15秒前に添加した。

## Western blot 法

神経細胞をlysis buffer (10 mM Tris-HCl (pH 7.5), 150 mM NaCl, 0.5mM EDTA, 10 mM NaF, 0.5 % Triton X-100 with a protease inhibitor cocktail (Roche Diagnostics, Indianapolis, USA))と共に、テフロン-ガラスホモジナイザーにてホモジナイズした。サンプルにelectro-phoresis sample buffer (2 % sodium dodecyl sulfate (SDS) and 10 % glycerol with 0.2 M dithiothreitol)を加え、SDS-PAGE法に従って、7.5%のポリアクリルアミドゲル中の各レーンに標品20  $\mu$ g 蛋白を適用し分離した。分離後、ニトロセルロースメンブランに転写させた。メンブランを5 % nonfat dried milkを含むphosphate-buffered saline (PBS)中でブロッキングし、一次抗体として、それぞれ200倍希釈したanti- $\square\square$ la subunit (Alomon Labs Ltd., Jerusalem, Israel)、anti- $\square\square$ lb subunit (Alomon Labs Ltd., Jerusalem, Israel)、anti- $\square\square$ lc subunit (Alomon Labs Ltd., Jerusalem, Israel)、anti- $\square\square$ ld subunit (Alomon Labs Ltd., Jerusalem, Israel)と共に、反応させるため、1時間室温で反応させた後、二次抗体を加え室温にて更に1時間反応させた。反応後、発色性基質を用いて目的とするタンパク質を同定した。

## 統計的検討

実験成績は全て平均値 $\pm$ 標準誤差で表示し、統計的有意差の検定は、一元配置分散分析(one-way ANOVA)の後にBonferroni's test またはDunnnett's



test を用いて行った。

### C. 結果

ジアゼパム (0-3  $\mu$ M)、プロチゾラム (0-3  $\mu$ M)、クロバザム (0-3  $\mu$ M) をそれぞれ神経細胞に3日間連続曝露した時の細胞外から細胞内への  $\text{Ca}^{2+}$  流入量の変化について検討した。ジアゼパム、プロチゾラム、クロバザムのいずれにおいても、用量依存的な  $\text{Ca}^{2+}$  流入量の増加が観察された (図1)。このような条件下、 $\text{EC}_{50}$  値を算出したところ、ジアゼパムが最も低く、クロバザムが最も高値であった (図2)。そこで、関連する Ca チャネルのサブタイプについて検討する目的で、P/Q 型電位開口性カルシウムチャネルの阻害薬である  $\omega$ -agatoxin VIA、N 型電位開口性 Ca チャネルの阻害薬である  $\omega$ -conotoxin GIVA ならびに L 型高電位開口性 Ca チャネル阻害薬である nifedipine を用いて検討を行った。その結果、ジアゼパム、プロチゾラム、クロバザムの連続曝露により認められる  $\text{Ca}^{2+}$  流入量の増加は、L 型電位開口性 Ca チャネル阻害薬である nifedipine の処置によってのみ、完全に抑制された (図3)。したがって、1,4-及び 1,5-BZ の連続曝露により、L 型 Ca チャネルの up-regulation が誘導されると推察される。そこで、1,4-及び 1,5-BZ 連続曝露による電位開口性カルシウムチャネルの発現変化について、Western blot 法により検討した。その結果、ジアゼパム、プロチゾラム、クロバザムのいずれの連続曝露においても、 $\alpha_{1c}$  ならびに  $\alpha_{1d}$  サブユニット蛋白質の有意な発現増加が認められた (図4)。

### D. 考察

本研究結果より、1,4-および 1,5-BZ の連続曝露により、 $\alpha_{1c}$  ならびに  $\alpha_{1d}$  サブユニット蛋白質の有意な発現増加が認められた。現在までに、当教室にお

いて覚せい剤、コカイン、モルヒネ、アルコール、ニコチンを処置することにより、L 型 Ca チャネルの up-regulation が引き起こされ、精神および身体依存形成に重要な役割を果たすことを明らかにしている<sup>5, 6, 16)</sup>。一般に、細胞内における遊離  $\text{Ca}^{2+}$  は  $\text{Ca}^{2+}$  結合蛋白質と結合することにより種々の作用を誘導することが知られており、特に、calcium/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII) や protein kinase C (PKC) は、薬物依存形成において重要な役割を担っていることが報告されている<sup>9, 10)</sup>。また、CaMKII や PKC などの  $\text{Ca}^{2+}$  依存性蛋白質は細胞内情報伝達系において神経の可塑的变化に関与することが報告されている<sup>3, 13)</sup>。したがって、本研究結果より、BZ による依存形成は、L 型カルシウムチャネルを介して細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  応答の増強が誘導され、薬物依存形成における神経の可塑的变化を引き起こしていると推察される。

現在までにジアゼパムおよびクロバザムを、熱性けいれんに使用した場合、両薬物に効果に差はないが、副作用はクロバザムの方が少ないことが報告されている<sup>7)</sup>。また、 $\alpha_3\beta_3\gamma_{2L}$  あるいは  $\alpha_3\beta_3\delta$  を発現させた細胞では、 $\alpha_3\beta_3\delta$  については、ジアゼパムおよびクロバザムによる GABA の反応性に違いはないが、 $\alpha_3\beta_3\gamma_{2L}$  についてはジアゼパムに比べクロバザムの方が、反応性が低いことが報告されている<sup>4)</sup>。一方、 $\alpha_1$  サブユニットは鎮静、健忘、抗痙攣作用に関与し、 $\alpha_2$ 、 $\alpha_3$ 、 $\alpha_5$  サブユニットは抗痙攣作用、抗不安作用、筋弛緩作用、運動障害、エタノール作用の増強効果に関与することが報告されており<sup>8)</sup>、さらに、GABA 受容体を構成する各サブユニットは、各脳部位における発現量や細胞内における局在に違いがあると考えられている<sup>14)</sup>。したがって、1,4-および 1,5-BZ の作用発現の相違に、GABA 受容体を構成するサ

ブユニットの種類や脳部位が関与する可能性が想定される。

#### E. 結語

以上の結果から 1,4-及び 1,5-BZ はいずれも L 型 Ca チャネル  $\alpha 1c$  及び  $\alpha 1d$  サブユニットの発現増加を誘発することが明らかとなり、またこの増加が BZ による身体依存形成に関与することが推測される。

#### 参考文献

1. Calin-Jageman, I. and Lee, A. : Ca(v)1 L-type  $Ca^{2+}$  channel signaling complexes in neurons. *J. Neurochem.*, 105, 573-583 (2008).
2. Chouinard, G. : Issues in the clinical use of benzodiazepines: potency, withdrawal, and rebound. *J. Clin. Psychiatry*, 65 Suppl 5, 7-12 (2004).
3. Colbran, R. J. : Protein phosphatases and calcium/calmodulin-dependent protein kinase II-dependent synaptic plasticity. *J. Neurosci.*, 24, 8404-8409 (2004).
4. Fisher, J.L. : Interactions between modulators of the GABA(A) receptor: Stiripentol and benzodiazepines. *Eur. J. Pharmacol.*, 654, 160-165
5. Hayashida, S., Katsura, M., Torigoe, F., et al. : Increased expression of L-type high voltage-gated calcium channel  $\alpha 1a$  and  $\alpha 2/\delta$  subunits in mouse brain after chronic nicotine administration. *Brain Res. Mol. Brain Res.*, 135, 280-284 (2005).
6. Katsura, M., Torigoe, F., Hayashida, S., et al. : Ethanol physical dependence is accompanied by up-regulated expression of L-type high voltage-gated calcium channel  $\alpha 1a$  subunits in mouse brain. *Brain Res.*, 1039, 211-215 (2005).
7. Khosroshahi, N., Faramarzi, F., Salamati, P., et al. : Diazepam versus clobazam for intermittent prophylaxis of febrile seizures. *Indian J. Pediatr.*, 78, 38-40
8. McKernan, R.M., Rosahl, T.W., Reynolds, D.S., et al. : Sedative but not anxiolytic properties of benzodiazepines are mediated by the GABA(A) receptor  $\alpha 1a$  subtype. *Nat. Neurosci.*, 3, 587-592 (2000).
9. Narita, M., Matsumura, Y., Ozaki, S., et al. : Role of the calcium/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII) in the morphine-induced pharmacological effects in the mouse. *Neuroscience*, 126, 415-421 (2004).
10. Narita, M., Mizuo, K., Shibasaki, M., et al. : Up-regulation of the G(q/11 $\alpha$ ) protein and protein kinase C during the development of sensitization to morphine-induced hyperlocomotion. *Neuroscience*, 111, 127-132 (2002).
11. Ohkuma, S., Katsura, M., Hibino, Y., et al. : Multiple actions of nitric oxide on voltage-dependent  $Ca^{2+}$  channels in mouse cerebral cortical neurons. *Brain Res. Mol. Brain Res.*, 54, 133-140 (1998).
12. Ohkuma, S., Tomono, S., Tanaka, Y., et al. : Development of taurine biosynthesizing system in

- cerebral cortical neurons in primary culture. *Int. J. Dev. Neurosci.*, 4, 383-395 (1986).
13. Pilpel, Y. and Segal, M.: Activation of PKC induces rapid morphological plasticity in dendrites of hippocampal neurons via Rac and Rho-dependent mechanisms. *Eur. J. Neurosci.*, 19, 3151-3164 (2004).
  14. Rudolph, U., Crestani, F. and Mohler, H.: GABA(A) receptor subtypes: dissecting their pharmacological functions. *Trends Pharmacol. Sci.*, 22, 188-194 (2001).
  15. Schweizer, E. and Rickels, K.: Benzodiazepine dependence and withdrawal: a review of the syndrome and its clinical management. *Acta Psychiatr. Scand. Suppl.*, 393, 95-101 (1998).
  16. Shibasaki, M., Kurokawa, K. and Ohkuma, S.: Upregulation of L-type Ca(v)1 channels in the development of psychological dependence. *Synapse*, 64, 440-444 (2010).
- Ca(v)1.2 subunit via facilitating trafficking induced by Vps34 on morphine-induced place preference in mice. *Eur J Pharmacol.* 651:137-145, 2011.
3. Kurokawa K, Mizuno K, Shibasaki M, Ohkuma S.: Regulation of ryanodine receptors by dopamine D1 receptors during methamphetamine-induced place conditioning. *J Neurochem.* 115:1206-1214, 2010.
  4. Shibasaki M, Inoue M, Kurokawa K, Ogou S, Ohkuma S.: Expression of serotonin transporter in mice with ethanol physical dependency. *J Pharmacol Sci.* 114:234-237, 2010.
  5. Kurokawa K, Shibasaki M, Ohkuma S.: up-regulation of  $\alpha_2/d$  subunit of voltage-gated calcium channels is regulated by DA receptors. *Synapse.* 64:822-828, 2010.
  6. Shibasaki M, Kurokawa K, Ohkuma S.: Upregulation of L-type Ca(v)1 channels in the development of psychological dependence. *Synapse.* 64:440-444, 2010.

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### G-1. 論文発表

1. Kurokawa K, Shibasaki M, Mizuno K, Ohkuma S.: Gabapentin blocks methamphetamine-induced sensitization and conditioned place preference via inhibition of  $\alpha_2/d$ -1 subunits of the voltage-gated calcium channels. *Neuroscience.* (in press) 2010.
2. Shibasaki M, Kurokawa K, Mizuno K, Ohkuma S.: Up-regulation of

### G-2. 学会発表

1. 芝崎 真裕、黒川 和宏、水野 治晃、大熊 誠太郎: Methamphetamine 誘発精神依存形成における actin depolymerizing factor の役割, 第 83 回日本薬理学会年会, 大阪 2010 年 3 月
2. 黒川 和宏、芝崎 真裕、水野 治晃、大熊 誠太郎: Methamphetamine 誘発精神依存形成における高電位開口性 L 型カルシウムチャンネル機能亢進機序に対する ryanodine receptor の関与, 第 83 回日本薬理学会年会, 大阪 2010 年 3 月

3. 水野 治晃、黒川 和宏、芝崎 真裕、大熊 誠太郎：初代培養大脳皮質神経細胞を用いた $\alpha$ -adrenergic receptor ( $\alpha$ -AR) blockade による $\alpha$ -AR の up-regulation 機序の解明，第 117 回日本薬理学会近畿部会，徳島 2010 年 7 月
4. 黒川 和宏、水野 治晃、芝崎 真裕、大熊 誠太郎：Cocaine 誘発報酬効果形成機構における ryanodine receptor (RyRs) の関与，第 40 回日本神経精神薬理学会年会，仙台 2010 年 9 月
5. 芝崎 真裕、大熊 誠太郎：依存と離脱のメカニズムを識る アルコール依存症の離脱メカニズム，第 45 回日本アルコール・薬物医学会総会，小倉 2010 年 10 月
6. 芝崎 真裕、大熊 誠太郎：アルコール・薬物の基礎研究の動向 アルコール依存症と気分障害の機能的相関性，第 45 回日本アルコール・薬物医学会総会，小倉 2010 年 10 月
7. 芝崎 真裕、黒川 和宏、水野 治晃、大熊 誠太郎：アルコール依存形成における actin depolymerizing factor の役割，第 118 回日本薬理学会年会，大阪 2010 年 11 月

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

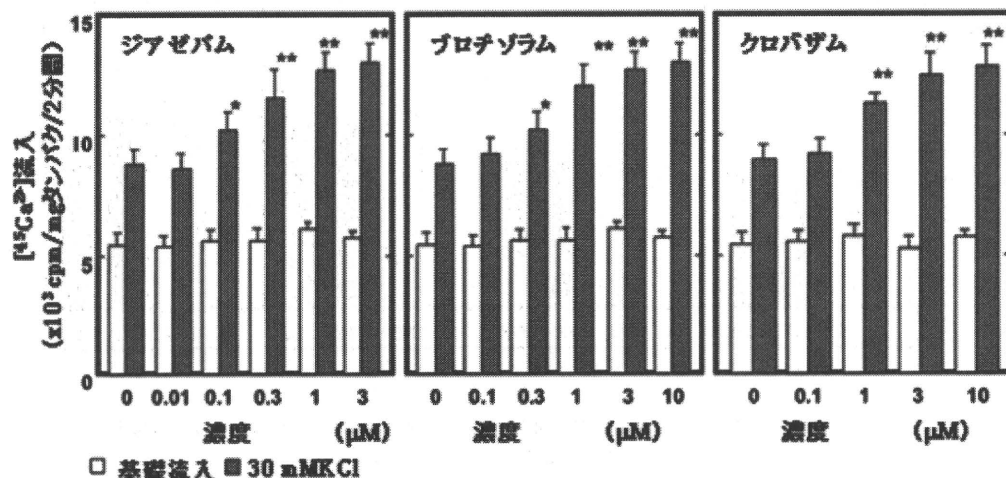


図1 ジアゼパム、プロチゾラム、クロバザムの連続曝露時のCa<sup>2+</sup>の細胞内へのCa<sup>2+</sup>流入量の変化  
\*P<0.05, \*\*P<0.01 VS. 基礎流入

	EC <sub>50</sub> 値 (nmol/L)
ジアゼパム	220.7 ± 13.2
プロチゾラム	892.2 ± 447*
クロバザム	2100.3 ± 189.6*

図2 ジアゼパム、プロチゾラム、クロバザム3日間連続曝露のCa<sup>2+</sup>の細胞内流入量に対するEC<sub>50</sub> 値  
\*P<0.05 VS. ジアゼパム

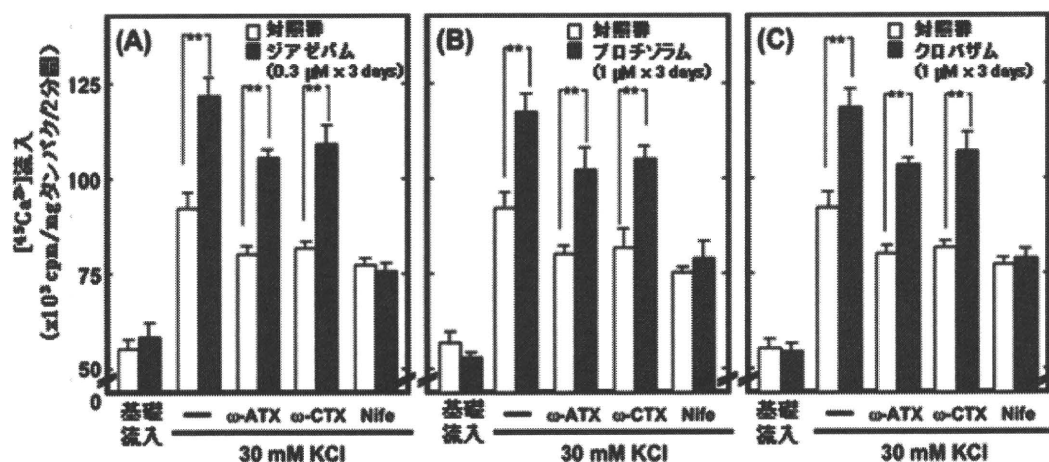


図3ジアゼパム、プロチゾラム、クロバザムの連続曝露により認められるCa<sup>2+</sup>の細胞内流入量の増加に対するCaチャンネル阻害薬の効果  
ω-ATX: ω-agatoxin VIA, ω-CTX: ω-conotoxin GIVA, Nife: nifedipine  
\*\*P<0.01 VS. 対照群

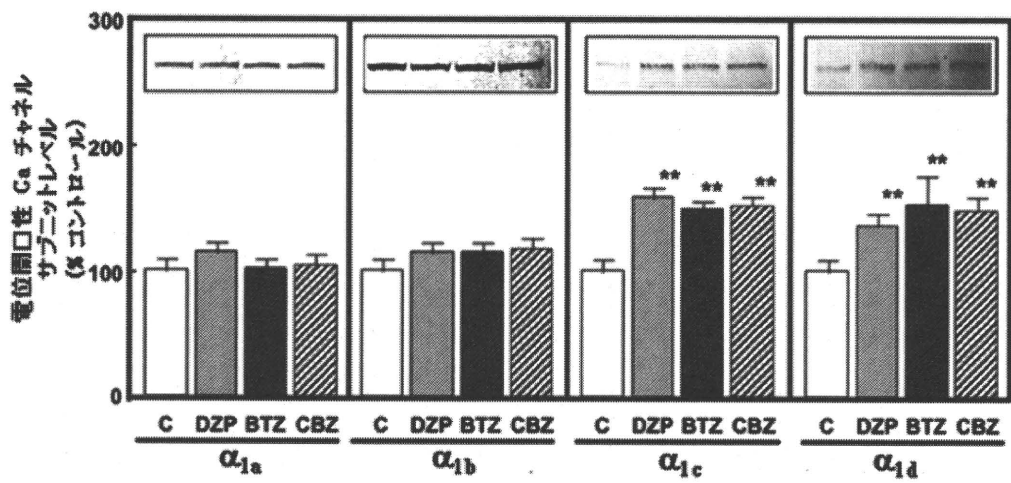


図4 1,4-及び1,5-BZ 連続環による電位開口性カルシウムチャネルの発現変化  
 C:対照群, DZP:ジアジパム, BTZ:プロチゾラム, CBZ:クロバザム  
 \*\*P<0.01 VS. 対照群

## 不眠症の臨床評価方法のあり方に関する検討 (客観的評価指標)

分担研究者 清水徹男

秋田大学大学院医学系研究科精神科学講座

研究要旨 本研究の目的は、睡眠薬の臨床評価ガイドラインを改定するに当たり PSG の位置づけを検討する際の基礎資料を提供することにある。本研究ではまず、不眠症の臨床的評価に関する客観的指標として睡眠ポリグラフ検査(PSG)をとりあげ、睡眠薬の臨床的評価に関する EU と、米国および我が国のガイドラインを用いてその現状と問題点を比較・検討した。次いで、最近のベンゾジアゼピン受容体を作用部位とする睡眠薬と、それ以外の機序を有する睡眠薬の臨床開発試験に関する文献を調査し、それらにおける PSG の運用の実際と位置づけを検討した。その結果、PSG の位置づけや方法論について既存のガイドライン間で一致している部分と異なる部分が抽出された。また、最近の睡眠薬の臨床開発試験では被験者候補者を試験に組み込む前にスクリーニング夜を設けて PSG に基づく除外基準・選択基準により被験者を抽出していること、その基準が各研究において統一されていないことが明らかになった。最後に、我が国の実情を踏まえた PSG による臨床評価のあり方に関する提言を行い、残された課題についても言及した。

### A. 研究目的

不眠は日本人の約 20%に認められるきわめて頻度の高い症状である。慢性不眠は患者の昼間の作業能力や QOL に大きな影響を与えるだけでなく、肥満、高血圧、糖尿病などのメタボリック症候群とうつ病の発症リスクを高める要因となっている。したがって、不眠の治療は国民の心身の健康増進のために極めて重要である。そのためには不眠に対する有効で安全な薬物療法の開発が必要であることは言うまでもない。その開発に当たっては睡眠についての主観的評価と並び、あるいはそれを客観的に裏付けるものとして、睡眠ポリグラフ検査(以下、PSG と略す)が有用である。本研究の目的は睡眠薬開発のための臨床研究ガイドライン改定にむけて臨床評

価における PSG に関連する基礎資料を提供することにある。

睡眠ポリグラフ検査は被験者の自覚的睡眠評価を客観的に裏付け、薬物の睡眠に及ぼす効果を客観的に定量化するものであるが、単独で睡眠薬の評価に用いられるものではない。なぜならば、PSG は検査室で各種の電極を装着した状態で行うものであり、被験者の日常の睡眠をそのまま反映するものではないという限界があるからである。また、煩雑で費用のかかる検査であることも無視しがたい。このような限界を踏まえた上で、睡眠薬の臨床評価における PSG の位置づけに関する現状と問題点を抽出し、今後の睡眠薬の臨床評価における PSG のあり方について提言を行うとともに、残された問題点と今後の課題を示

すこととする。さらに、今後は従来のベンゾジアゼピン受容体アゴニスト作用を持つ睡眠薬に加えて、異なる機序によって睡眠を改善させる新薬が開発されることが予想されるので、それに対応する PSG のあり方についても考察する。

## B. 研究対象と方法

睡眠薬の臨床評価についての欧米と我が国のガイドライン(GL)として、「睡眠薬の臨床評価法に関するガイドライン」(JPV1988:以下 JPV と略す)、EU の European Medicines Agency による Medicinal products for the treatment of insomnia (ref no:3CC27A) 2009 (以下 EMEA と略す)、アメリカ合衆国の FDA による Guidance for clinical evaluation of hypnotic drugs (HEW 78-3051) 1977 (以下、FDA と略す) をとりあげ、各 GL における PSG の位置づけを抽出し、それらの比較・検討を行った。また、最近報告されたベンゾジアゼピン受容体アゴニスト作用を持つ睡眠薬 (Zolpidem-MR, Eszopiclon など) と、それ以外の作用機序を持つ睡眠薬 (Ramelteon, mifepristone など) の PSG を用いた臨床評価、臨床研究における PSG の用いられ方をも検討した。

### [倫理面への配慮]

なお、本研究はすべて公表された文献に基づいてなされたものであり、倫理面および個人情報保護の観点に照らして何ら問題のないものである。

## C. 結果

1, 3つのガイドラインにおける PSG のまとめ

1) 各ガイドラインにおける PSG の位置づけ

a. 前期第 II 相試験

必須(JPV)。

b. 後期第 II 相試験

EMEA, FDA, JPV とも必須とする。短期試験 (FDA, JPV)、中期試験 (JPV)、長期試

験 (JPV)。

c. 第 III 相試験

中期試験 (FDA)、長期試験 (FDA)

d. その他

EMEA では第 II 相試験における睡眠作用の存在確認と容量設定試験では PSG を有効性の直接的指標と位置づけ、第 III 相試験では主観的指標の客観的裏付けと二義的に位置づけている。

2) 測定項目

脳波、眼球運動、おとがい筋筋電図は必須。目的に応じ心電図、呼吸曲線、皮膚電気活動、体動などの同時記録を行う (JPV)。

3) 評価項目

入眠潜時 (FDA, JPV)、入眠後の夜間覚醒回数 (FDA, JPV)、早朝覚醒「最後の覚醒から記録終了までの時間」(FDA, JPV)、睡眠開始後の覚醒時間 (FDA, JPV)、全睡眠時間 (FDA, JPV)、睡眠効率 (JPV)、睡眠段階に関連した変化 (FDA, JPV)、各睡眠段階出現時間/出現率 (JPV)、レム密度 (JPV)、レム活動 (JPV)、REM 睡眠潜時 (JPV) など。

諸パラメータは、1夜の記録全体、1夜の中の諸時間帯たとえば睡眠 3 分法などによって整理する (JPV)。

4) その他

FDA :

必ず複数施設で記録したデータを用いることを必須としている。第 II 相試験短期試験ではプラセボ投与連続 4 夜以上を adaptation と治療前の baseline (BL) データ取得に当て、5-7 夜の薬物投与夜の連続データを初期効果と短期効果の判定に用い、その後連続最低 3 日のプラセボ夜のデータを離脱効果の判定に用いる (合計で最低連続 12-14 日)。

第 III 相試験では中期 PSG 試験、長期試験を行う。試験方法は短期試験に準ずるが、薬物投与期間は中期試験で最低 2 週間、長期試験で最低 4 週間必要である。長期試験では全夜の PSG は不要であるが、再順応のため最低 3 夜は adaptation が必要である。



JPV :

後期第 II 相試験短期試験では治験薬投与前の adaptation と基準夜値計測のためのプラセボ投与夜連続 3-4 夜、治療薬投与 3-7 連続夜、退薬後の 3-4 日のプラセボ夜のデータを取得することが必要。

後期第 II 相試験中期試験では基準夜と離脱のデータ取得の方法は短期試験と同じ。治験薬を 14 夜連続に投与し、投与 1-3 夜の PSG データを短期効果、同 12-14 夜の PSG データを中期効果の指標とする。検査室記録をある期間中止した後に記録を行う時には、被験者を検査室に再順応させるために記録夜に選考して 1-2 夜の再順応措置を行う必要がある。

後期第 II 相試験長期試験は中期試験に準じて行い、治療薬投与 12-14 夜の PSG データを長期効果の指標とする。

## 2. 最近の臨床研究における PSG の実情

### 1) 測定項目

脳波、眼球運動、おとがい筋筋電図、心電図、呼吸曲線、前頸骨筋筋電図を同時記録。

### 2) 基準夜における除外基準

スクリーニング夜を別に設けている研究が多い。

睡眠関連呼吸障害の除外基準として、AHI or RDI $>$ 10 or 15 を、周期性四肢運動障害の除外基準として、PLMI $>$ 10 or 15 が用いられているが、統一化はなされていない。

原発性不眠の基準として PSG による入眠潜時が平均 20 分以上 (かつ、どの夜も 15 分以上)、総睡眠時間の平均が 420 分未満、WASO が平均 20-40 分以上 (かつ、どの夜も 15-30 分以上) を用いるものが多いが、基準は一定しない。

### 3) 記録時間

普段の就床時刻から 8 時間というものがもっとも多い。しかし、就床時刻を指定するもの、記録の終了を被験者の最終自然覚醒とするものなど、一定していない。

## 4) その他

多施設共同研究では共通のフォーマットを用いて記録した PSG データを中央施設で一括して判定する臨床研究が国内外で増えている印象を持つ。

除外基準に抵触する被験者をあらかじめ見つけるために基準夜のデータを記録するに先立ってスクリーニングのための 2-3 夜連続 PSG を行っている研究が最近増えている。さらに、スクリーニングの後に試験の前段階としてプラセボを用いた 1-2 週の run in period (washout period) を設けて被験者の compliance の確認や治療前データの安定化を図る試験も散見される。

## D. 考察

### 1) 現状のまとめ

PSG はすべてのガイドラインで一致して前期第 II 相試験 (効果確認と容量設定) では必須かつ第一義的指標に位置づけられている。後期第 II 相と第 III 相試験では PSG データの役割は主観的データに基づく臨床試験を客観的に裏付ける位置づけに後退する。我が国のガイドラインでは PSG 試験を第 II 相までに限定しているが、FDA では第 III 相試験にも行うこととしている。

FDA JPV のガイドラインでは検査条件への順応と基準データの取得のために 3-4 夜のプラセボ投与夜を設けているが、いずれにおいても睡眠関連呼吸障害などの除外基準、原発性不眠の PSG による診断基準は示されていない。また、基準データの取得手続きも示されていない。

短期試験のみならず、中期試験 (FDA では長期試験においても) で PSG が必須とされること、離脱症状の評価にもプラセボを用いた 3 夜連続の PSG が必須とされることは FDA JPV のガイドラインで共通している。

PSG データの評価項目は FDA と JPV ではほぼ共通している。しかし、今後新たな作

用機序による睡眠薬の臨床試験において GL に記載された評価項目が適正か否かは個別に検討する必要がある。

被験者の PSG による選択・除外基準、記録時間、PSG データの判定方法、スクリーニング夜、run in period の設定については既存の GL には記載されていない。

## 2) 今後の臨床試験における PSG の位置づけに関する提言

我が国では PSG を適切に行える睡眠医療機関が少数に限られている現状と前述した最近の臨床試験の現状を踏まえて以下のように提言する。

### a. PSG の位置づけ

PSG を薬剤の効果確認・用量設定を目的とする早期第 II 相試験では主たる評価法と位置づける。また、後期第 II 相試験においても PSG は臨床効果の主観的指標を裏付ける客観的指標として短期試験、中期試験、必要に応じ長期試験において必須のものとする。第 III 相試験においては PSG を行うことが望ましいが、必須の項目とはしない。

### b. スクリーニング、基準データの取得法

同意取得前にスクリーニングのための最低2夜連続の PSG を行うことは被験者の選択・除外を効率的に行うために有用な手段であるが、必須とはしない。

試験薬投与に先立ち連続4日のプラセボ投与夜の PSG を行い、adaptation (第1夜) と基準データ (第2-4夜の平均) を取得することは必須である。

Run in period (washout period) の設定は必須とはしない。

### c. 試験薬投与期の PSG

短期試験 (約1週間) では全夜の PSG が必要。中期と長期試験では PSG は全夜には必要ではないが、治験薬投与第1-3夜の PSG を短期効果、第12-14夜の PSG を中期効果、第26-28夜の PSG を長期効果の指標とすることを推奨する。検査室記録のある期間中止した後に記録を行う時には、被験

者を検査室に再順応させるために記録夜に先行して1-2夜の再順応措置を行う必要がある。

### d. 離脱試験

治験薬投与期の終了に引き続いて連続3夜のプラセボ投与と PSG を行うことは退薬時変化をみるためには必須のものである。

### e. 被験者の選択・除外基準

原発性不眠を対象とする睡眠薬の開発試験では睡眠関連呼吸障害、周期性四肢運動障害を除外する必要がある。しかし、あまりに厳格な基準 (たとえば AHI < 5) を用いると被験者の脱落が多くなりすぎる。AHI < 10, PLMI < 10 が現実的であろうが、さらに検討を要する。

睡眠状態誤認の除外し、薬物の効果を適正に評価できる被験者を選択するためには PSG による不眠の評価と、それに基づく除外基準を設けることが必要である。残念ながら、その基準について統一されたものはない。また、原発性不眠においては入眠潜時や中途覚醒時間、総睡眠時間が一定しない方が通常であり、強い不眠がみられた翌日にはかえってよい眠りが得られることはむしろ自然である。従って除外基準を設ける場合には基準夜の連続3夜の PSG データの平均値を用い、さらにそれよりも緩い基準を連続3夜のすべての PSG データが満たすこととするのが現実的であろう。一例を挙げると、連続3夜の入眠潜時の平均が30分以上であり、かつ、いずれの夜の入眠潜時も20分以上であること、というような基準を設ける必要がある。

### f. 記録時間

被験者の日常の生活習慣に準拠して就床時刻を設定する。交替勤務者や深夜労働に従事するなど日常の就床時刻が著しく早い、あるいは遅い、または不規則な被験者は除外すべきである。被験者の翌朝の最終自然覚醒まで記録を行うと、レム睡眠時間や%が大きな影響を受ける可能性がある。臨床試験の性質にもよるが原則

8時間のPSGとすることが勧められる。

#### g. 評価項目

JPVの現在の評価項目はおおむね適正である。少なくともスクリーニングの段階では睡眠関連呼吸障害と周期性四肢運動障害を検出するための呼吸曲線や前頸骨筋筋電図は必須であろう。

今後、新たな作用機序を持つ睡眠薬の評価を行う際には、第II総試験において睡眠関連呼吸障害と周期性四肢運動障害を誘発したり増悪させる作用がないかを検討する必要がある。

#### h. 判定方法

現状では Rechtschaffen & Kales の原法、あるいはそれを一部修正した AASM の睡眠段階判定基準を用いるべきである。自動判定や、その他の解析を行うときはその方法論についての有用性の照明が必要である。複数の機関から PSG データを収集する場合には記録手順・フォーマットを標準化した上で判定者間のばらつきを最小とするために中央機関で一括判定することが望ましい。判定者が複数の場合には、標準データを用いた睡眠段階判定の一致率の評価などの手段を執るべきである。

### 3) 未解決の問題・今後の課題

現状のGLではPSGは必ず検査室で行うこととなっている。携帯型機器を用いた在宅でのPSGについては、まだ標準化された手順はない。在宅故にadaptationに必要な記録が少なくてすむのか、基準夜のデータを得るために連続何夜の記録が必要か等の点は今後明らかにすべき課題である。

PSGの判読をよりスムーズに、かつ客観的に行うためには自動判定の導入も検討すべき今後の課題である。

睡眠関連呼吸障害と周期性四肢運動障害による被験者の除外基準を統一すること、PSGによる臨床試験に組み入れるべき原発性不眠の基準の統一化も重要な課題である。

#### E. 結語

睡眠薬の開発試験においてPSGの重要性は論を待たない。新たな作用機序を持つ睡眠薬の開発に当たってはその重要性はますます高まることと思われる。しかし、PSGの記録と判定について精度を落とすことなくより簡便に行える方法を確立すること、PSGによる被験者の選択・除外基準を統一することが今後の課題であると考える。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### G-1. 論文発表

1. Inoue Y, Kuroda K, Hirata K, Uchimura N, Kagimura T, Shimizu T. Efficacy, safety and dose-response of pramipexole in Japanese patients with primary restless legs syndrome: randomized trial. *Neuropsychobiology*. 63:35-42. 2011.
2. Inoue Y, Kuroda K, Hirata K, Uchimura N, Kagimura T, Shimizu T. Long-term open-label study of pramipexole in patients with primary restless legs syndrome. *J Neurol Sci*. 294:62-66. 2010.
3. Hojo Y, Echizenya M, Ohkubo T, Shimizu T. Drug interaction between St John's wort and zolpidem in healthy subjects. *J Clin Pharm Ther*. doi: 10.1111/j.1365-2710.2010.01223.x. 2010.
4. Fushimi M, Shimizu T, Saito S, Kudo Y, Seki M, Murata K. Prevalence of and risk factors for psychological distress among employees in Japan. *Public Health*. 124:713-715. 2010.

5. Inoue Y, Hirata K, Kuroda K, Fujita M, Shimizu T, Emura N, Uchimura N, Kagimura T, Sha K, Nozawa T. Efficacy and safety of pramipexole in Japanese patients with primary restless legs syndrome: A polysomnographic randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Sleep Med.* 11:11-16. 2010.
  6. Sato S, Kanbayashi T, Kondo H, Matsubuchi N, Ono K, Shimizu T. Rapid increase to double breathing rate appears during REM sleep in synchrony with REM - a higher CNS control of breathing? *Adv Exp Med Biol.* 669:249-252, 2010.
  7. Kanbayashi T, Shimohata T, Nakashima I, Yaguchi H, Yabe I, Nishizawa M, Shimizu T, Nishino S. Symptomatic narcolepsy in patients with neuromyelitis optica and multiple sclerosis: new neurochemical and immunological implications. *Arch Neurol.* ; 66: 1563-1566, 2009.
  8. Kanbayashi T, Kodama T, Kondo H, Satoh S, Inoue Y, Chiba S, Shimizu T, Nishino S. CSF histamine contents in narcolepsy, idiopathic hypersomnia and obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep.* 32:181-187, 2009.
  9. Kusanagi H, Hida A, Satoh K, Echizenya M, Shimizu T, Pendergast JS, Yamazaki S, Mishima K. Expression profiles of 10 circadian clock genes in human peripheral blood mononuclear cells. *Neurosci Res.* 61:136-142. 2008.
  10. 清水徹男 生活習慣病と睡眠・うつとの深い関係-睡眠が根幹か?. *医学のあゆみ* 236:39-43, 2011.
  11. 清水徹男 睡眠と体温調節 *脳* 2 1 13:408-413, 2010.
  12. 清水徹男 不眠 治療 92:122-126, 2010.
  13. 清水徹男 不眠 総合臨床 59: 685-689, 2010.
  14. 清水徹男 臨床現場における不眠治療の実際 *睡眠医療* 4:143-148, 2010.
  15. 清水徹男 睡眠と精神疾患のかかわりを探る *Life Style Medicine* 3: 221-227, 2009.
  16. 清水徹男 高齢者のうつ病と睡眠障害 *Geriatric Medicine* 47:1445-1448, 2009.
  17. 清水徹男 高齢者の転倒予防と睡眠障害 *ねむりと医療* 1:111-122, 2008.
  18. 清水徹男 *せん妄* 総合臨床 57:1462-1463, 2008.
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし