

氏名	大 森 潤
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	歯 学
学位授与の番号	博 甲 第 2 9 8 3 号
学位授与の日付	平 成 1 7 年 3 月 2 5 日
学位授与の要件	医歯学総合研究科機能再生・再建科学専攻(学位規則第4条第1項該当)
学位論文題名	高速液体クロマトグラフィーを用いたミダゾラムおよび代謝産物の血中濃度測定と蛋白結合に関する研究

論文審査委員 教授 北山 滋雄 教授 菅原 利夫 教授 嶋田 昌彦

## 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

### 【緒言】

歯科治療時のストレス、不安および恐怖を緩和する目的で、精神鎮静法（以下鎮静と略す）が適用されることがある。鎮静に用いられる薬物（以下鎮静薬と略す）には、緩和精神安定薬、静脈麻酔薬および鎮痛薬などがあるが、複数の鎮静薬を併用する方法では、それぞれの薬理効果が相乗的に増加する場合や、予想以上の副作用が生じる場合が報告されている。近年、特にミダゾラムとプロポフォールを併用する方法の有用性が報告されているが、作用の相乗発現に関しての薬物動態は十分に評価されていない。そこで、本研究では、ミダゾラムの薬物動態に焦点をあて、ミダゾラムとその代謝産物の血中濃度の測定方法について、さらに他の鎮静薬を併用した場合の薬物動態への影響について検討した。

### 【方法】

#### 実験1. ミダゾラムとその代謝産物の血中濃度の測定方法について

- 1) 高速液体クロマトグラフィー（以下 HPLC と略す）を用いて、ミダゾラム（以下 MDZ と略す）とその代謝産物  $\alpha$  ヒドロキシミダゾラム（以下 HMDZ と略す）の血中濃度の測定方法を設定した。MDZ、HMDZ および内部標準物質（ジアゼパム）を含有した標準濃度血漿を、ジエチルエーテルにより前処理を行った後、HPLC 装置に注入し、検量線の作成、測定精度、回収率および測定限界を調べた。
- 2) 同意が得られた健康成人に MDZ (0.075mg/kg) を静脈注射した後、経時的に採血し、標準濃度血漿の検量線を用いて、血漿中の濃度を測定した。

#### 実験2. 他の鎮静薬の併用がミダゾラムの蛋白結合に及ぼす影響について

- 1) ヒト血清由来の4%アルブミンをリン酸緩衝液 (pH7.4) で溶解し、試料として用いた。MDZ 濃度を50-1000ng/mLに調整した試料を、37°Cの恒温槽に1時間反応させた後、限外濾過器にて濾過し、濾液中の MDZ 濃度を総濃度で割って、蛋白に対する非結合率を求めた。
- 2) MDZ 濃度が100ng/mLの血清アルブミンに、プロポフォール（最終濃度1または5  $\mu$ g/mL）、ケタミン（最終濃度2または10  $\mu$ g/mL）、デクスメドミジン（最終濃度 0.3または1.5ng/mL）を添加し、蛋白に対する非結合率を求めた。併用薬を添加していない試料の蛋白に対する非結合率をコントロール値として、統計学的分析には、分散分析とDunnett法を用いた。

## 【結果】

### 実験1.

HPLC によるクロマトグラムで HMDZ と MDZ はいずれも良好な分離ピークが得られた。血漿 MDZ と HMDZ は1.25-100ng/mLの範囲で良好な直線性が得られ、日内精度および日間精度とも変動係数は 2.5、5、10、50および100ng/mLにおいて、10%未満であった。回収率は、MDZ、HMDZ とも、10、50および100ng/mLで良好な結果が得られた。さらに、測定限界は、MDZ が0.5 ng/mL、HMDZ が1.0ng/mLであった。MDZ を静脈注射した後の経時的変化では、MDZ は投与2分後に269ng/mL、5分後に119ng/mL、60分後にng/mLとなり、300分後には13ng/mLであった。HMDZ は投与10分後の9ng/mL が最高で、240分後には1ng/mL未満となった。

### 実験2.

MDZは4%血清アルブミン溶液中で、用量依存性に蛋白に対する非結合率は増加したが、500ng/mL以上でプラトーとなった。プロポフォルは用量依存性に MDZ の蛋白に対する非結合率を上昇させ、5  $\mu$ g/mLではコントロール値と比較して有意差が認められた。ケタミンおよびデクスメデトミジンは MDZ の蛋白結合に影響を与えなかった。

## 【考察】

HPLC を用いた本測定法は、MDZ および HMDZ の血中濃度を低濃度まで測定でき、精度、回収率とも良好であったことから、臨床での MDZ の血中動態解析を行う上で有用であると考えられた。HMDZ は MDZ と同様の作用があるものの、血中HMDZ濃度は比較的低かったことから、臨床への影響は少ないものと考えられた。しかしながら、HMDZ の測定は MDZ の代謝の評価に有用であると考えられた。MDZ とプロポフォルを併用した場合、プロポフォルは用量依存性に MDZ の蛋白に対する非結合率を上昇させることが示されたことから、高濃度でのプロポフォル使用時には留意する必要があると考えられた。

## 【結論】

本研究によって確立した方法によって、低濃度のミダゾラムとその代謝産物 ( $\alpha$  ヒドロキシミダゾラム) の測定が可能になった。ミダゾラムに他の薬物を併用した場合、併用薬の種類、濃度によって、ミダゾラムの蛋白結合に影響を及ぼすことが示唆された。

## 論文審査結果の要旨

歯科における静脈内鎮静法に、ベンゾジアゼピン系薬物のミダゾラムと静脈麻酔薬のプロポフォールが使用されている。ミダゾラムは作用発現が速く、健忘効果があり、血管刺激性が少ないこと、またプロポフォールは投与方法において調節性がよく、覚醒が速いことなどの特性を持つ。近年、ミダゾラムとプロポフォールの併用による作用の相乗効果が報告されており、臨床効果の予測には、相乗効果を生じる要因を把握することが重要であるが、現状では十分に評価されていない。本研究は、他の鎮静薬を併用した場合のミダゾラムの血中での蛋白結合に及ぼす影響を検討することを目的として、まず、ミダゾラムおよび同様の鎮静作用をもつ代謝産物 $\alpha$ ヒドロキシミダゾラムの血中濃度の測定方法を確立し、つぎに他の鎮静薬を併用した場合のミダゾラムの血中での蛋白結合に及ぼす影響について検討した。

高速液体クロマトグラフィーを用いた本測定法の検量線の作成、測定精度、回収率および測定限界はいずれも良好な結果を示し、これにより、被験者における血中濃度を正確に測定することができた。よって、本測定法は、ミダゾラムおよび代謝産物 $\alpha$ ヒドロキシミダゾラムの血中濃度を低濃度まで測定可能にし、ミダゾラムの血中動態の解析を行う上で有用であると考えられた。

他の鎮静薬の併用がミダゾラムの蛋白結合に及ぼす影響について、静脈内鎮静法で用いる濃度のプロポフォール、ケタミンおよびデクスメデトミジンを用いて検討した。その結果、プロポフォールのみが用量依存性にミダゾラムの蛋白非結合率を上昇させることを明らかにした。これは、ミダゾラムとプロポフォールの併用による相乗効果発現の一因である可能性を示唆する。

これらのことから、本研究の内容は歯科治療における静脈内鎮静法で使用する薬物の血中動態を把握するにあたり、重要な結果が得られ、価値あるものであると考えられる。

よって、本申請論文は博士（歯学）の学位授与に値するものであると判定した。