

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18239

研究課題名（和文）長時間作用型ステロイド添加による局所麻酔薬作用延長効果の解明

研究課題名（英文）Elucidation about mechanism of prolonged analgesic effect of sciatic nerve block with perineural dexamethasone

研究代表者

松田 敬一郎（MATSUDA, KEIICHIRO）

新潟大学・医歯学総合病院・専任助教

研究者番号：10816961

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：神経ブロックを行う際に、長時間作用型ステロイドであるデキサメタゾンを経路麻酔薬に添加すると局所麻酔薬の作用時間が延長することが知られているが、そのメカニズムは未だに明らかになっていない。本研究ではマウス術後痛モデルを用いて、坐骨神経ブロックに対する長時間作用型ステロイド添加による局所麻酔薬作用延長効果を、行動学的および組織学的に検討した。神経ブロック後のマウスの後根神経節に対して免疫染色による組織学的な検討を行った結果、神経ブロック後早期の段階では、長時間作用型ステロイド添加群において神経型の一酸化窒素合成酵素の減少が見られ、延長効果の機序への関与が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経ブロックを行う際に、長時間作用型ステロイドであるデキサメタゾンを経路麻酔薬に添加すると局所麻酔薬の作用時間が延長することが知られているが、そのメカニズムは未だに明らかになっていない。しかし、本手法は臨床の現場では頻繁に行われる方法であり、今回の研究結果を基に詳細な作用機序が解明されれば、より根拠を持って臨床で活用できると考える。

研究成果の概要（英文）：It is known that the addition of dexamethasone, a long-acting steroid, to local anesthetics during nerve block prolongs the duration of action of local anesthetics, but the mechanism of this effect remains unclear. In the present study, we examined the effect of prolongation of local anesthetic action by the addition of long-acting steroids on sciatic nerve block using a mouse model of postoperative pain, both behaviorally and histologically. Histological examination of the dorsal root ganglia of mice after nerve block using immunostaining revealed a decrease in neurogenic nitric oxide synthase in the long-acting steroid group in the early phase after nerve block, which may be involved in the mechanism of the prolongation effect.

研究分野：麻酔科学

キーワード：局所麻酔薬作用延長効果 デキサメタゾン添加 神経ブロック 一酸化窒素合成酵素

## 1. 研究開始当初の背景

神経ブロックを行う際に、長時間作用型ステロイドであるデキサメタゾンに添加すると局所麻酔薬の作用時間が延長することが知られている。しかし、ステロイドの鎮痛作用と局所麻酔薬の神経遮断効果との関連性は解明されておらず、局所麻酔薬の作用延長効果についてのメカニズムは未だに明らかになっていない。

## 2. 研究の目的

本研究ではマウス術後痛モデルを用いて、坐骨神経ブロックに対する長時間作用型ステロイド添加による局所麻酔薬作用延長効果を、行動学および組織学的、生化学的に検討することを目的とする。本研究により、神経ブロックにステロイドを併用する理論的背景が明らかにすることを期待している。

## 3. 研究の方法

### ・行動実験

6-8週齢の C57BL/6 マウスを 2% イソフルラン麻酔下に腹臥位とし、左大腿後面を 5mm 切開し坐骨神経ブロックを行った。坐骨神経ブロックはハミルトンシリンジと 30G 針を用いて行い、閉創は 5-0 ナイロン糸で行った。坐骨神経ブロックから 10 分後にブロック側の後肢足底に 5mm の切開を加え、足底筋腱を剥離後に 5-0 ナイロン糸で閉創した。イソフルラン麻酔から覚醒後に熱刺激法である Hargreaves 法を用いた疼痛閾値評価を行った。ブロック施行から 30、60、120、240、360 分後の時点において熱刺激を行い、坐骨神経ブロックの効果を検討した。

### ・実験グループ

ブロック時に投与する薬液の種類で以下の様に実験群を設定した。

(1) control group (Paw incision); 生理食塩液、(2) R group; Ropivacaine (15mg/kg)、(3) RSD group; Ropivacaine (15mg/kg) + Dexamethasone (1.5mg/kg、右大腿に筋注)、(4) RPD group; Ropivacaine (15mg/kg) + Dexamethasone (1.5mg/kg)、(5) PD group; Dexamethasone (1.5mg/kg)。

局所麻酔薬の延長効果が glucocorticoid receptor を介しているかどうかを検証するために、そのアンタゴニストである mifepristone (50mg/kg、ブロック 30 分前に腹腔内投与) を用いた実験群も設定した。

(6) MIF-control group; 生理食塩液、(7) MIF-R group; Ropivacaine (15mg/kg)、(8) MIF-RPD; Ropivacaine (15mg/kg) + Dexamethasone (1.5mg/kg)。

続いて、後の免疫組織学的な検討から一酸化窒素合成酵素 (NOS) の抑制が延長効果に関わることが示唆されたため、NOS の inhibitor である L-NAME を用いた行動実験を行った。L-NAME を神経周囲に投与した時に鎮痛効果のない最大濃度を検証するために 3.125-50mg/kg の範囲で L-NAME の投与を行い、行動実験に適正な濃度を確定後に RPD group との比較を行った。

### ・免疫組織学的実験

上記の行動実験の結果から、坐骨神経ブロックから 30、240 分後の時点での組織採取を行った。各時点において、深麻酔下にマウスを安楽死させ、パラホルムアルデヒドによる灌流固定後にブロック側の後根神経節 (DRG) を採取した。採取した DRG 組織から 5µm の薄切切片を作成し各々の免疫染色を行った。

免疫染色は phospho-p38 MAPK に対する蛍光免疫染色と neuronal NOS (nNOS)、endothelial NOS (eNOS)、inducible NOS (iNOS) に対する Diaminobenzidine (DAB) 染色を行い染色陽性細胞のカウントを行った。

## 4. 研究成果

### ・行動実験結果 (Figure 1)

生理食塩液でブロックを行った群と Dexamethasone を神経周囲に単独投与した群では 30~360 分に渡り疼痛閾値の低下を認め局所麻酔作用は認めなかった。Ropivacaine 単独でブロックした群では 120 分後まで疼痛閾値の上昇を認めた。一方、Dexamethasone を添加した群では 360 分後まで局所麻酔作用の延長を認めた。全身性に Dexamethasone を投与した群では延長作用が見られなかった。

Mifepristone を神経ブロック前に投与すると RPD group で見られていた局所麻酔作用の延長効果が見られなくなったため、これらの現象は glucocorticoid receptor を介した作用であることが示唆された。

### ・免疫組織染色結果

**( phospho-p38 MAPK に対する免疫染色結果 [Figure 2] )**

神経ブロックから 240 分後の時点で、p-p-38 MAPK の発現は生理食塩液でブロックした群と Dexamethasone 単独でブロックした群で有意に上昇していた。一方、Ropivacaine を用いて神経ブロックを行った群では Dexamethasone の添加、非添加に関わらず両群ともに p-p38 MAPK の発現を抑えることができた。

**( NOS subtype に対する免疫染色結果 [Figure 3] )**

nNOS と eNOS はナীবマウスでも発現しており、足底切開から 30 分後の組織ではともに発現数の上昇を認めた。一方、240 分後の組織では nNOS、eNOS ともに発現数は減少していた。また、iNOS の発現はどちらの時間帯においても発現数が非常に少なかった。

**( 各群における nNOS、eNOS 発現数の比較 [Figure 4, 5] )**

nNOS の発現は足底切開を行うと迅速に増えることがわかった。Ropivacaine 単独で神経ブロックを行うとその発現量を減少させることができ、Dexamethasone 添加によりさらに発現量を抑えることができた。またその nNOS 発現減少作用は Mifepristone 投与により拮抗されることがわかった。神経ブロックから 240 分後の時点ではどの群においてもナীবマウスと同様の発現数まで低下していた。

eNOS の発現は nNOS と同様にナীবマウスでも見られたが、足底切開に伴う発現数の上昇は認めなかった。Ropivacaine 単独投与群でも発現数に差異はなかったが、Dexamethasone 添加群では有意な発現数低下を認めた。240 分後の時点では nNOS 同様にナীবマウスと同等の発現数まで減少していた。

**・ L-NAME 投与後の行動実験結果 (Figure 6)**

L-NAME の神経周囲への投与量の検討から、6.25mg/kg 未満の投与であればナীবマウスに近い行動実験結果が得られることがわかった。Dexamethasone 添加と同様に L-NAME を Ropivacaine に添加して神経ブロックを行ったところ、Ropivacaine + Dexamethasone で神経ブロックを行った時と同様の延長効果を得ることができた。

以上の実験結果から、Dexamethasone を局所麻酔薬に添加して神経ブロックを行うと glucocorticoid receptor を介してブロック効果を延長させることができ、さらに足底切開直後の nNOS 発現上昇を抑制することも延長効果に寄与する可能性が示唆された。

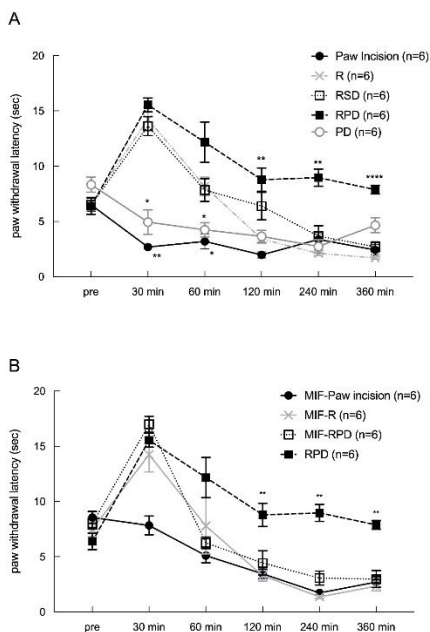


Figure 1

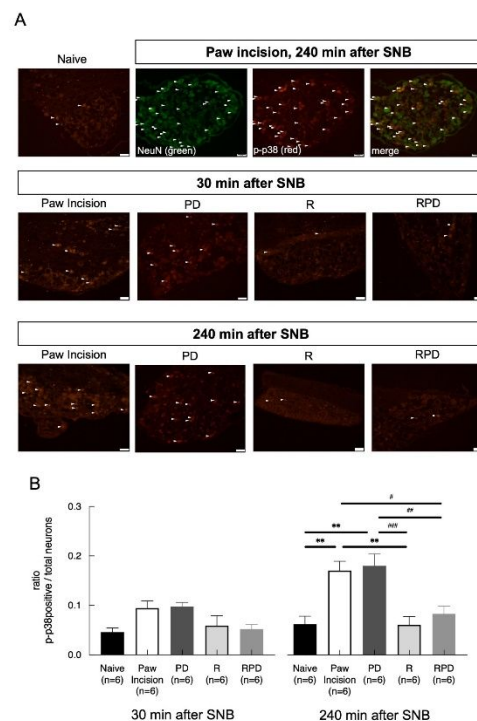


Figure 2

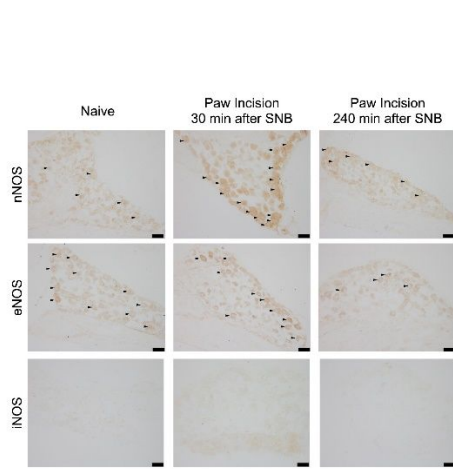


Figure 3

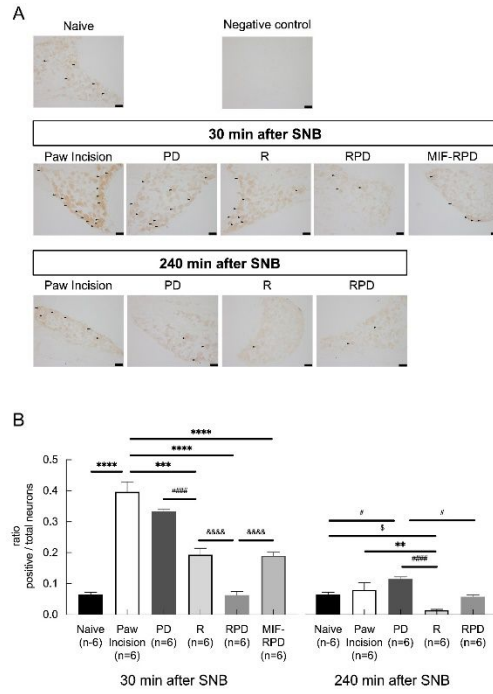


Figure 4

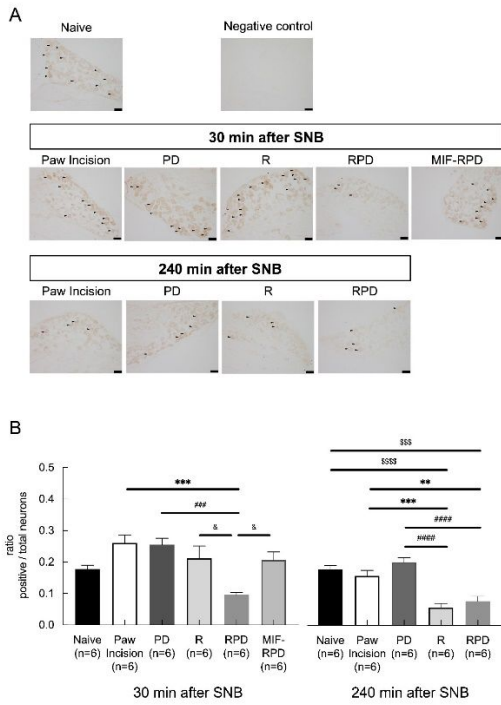


Figure 5

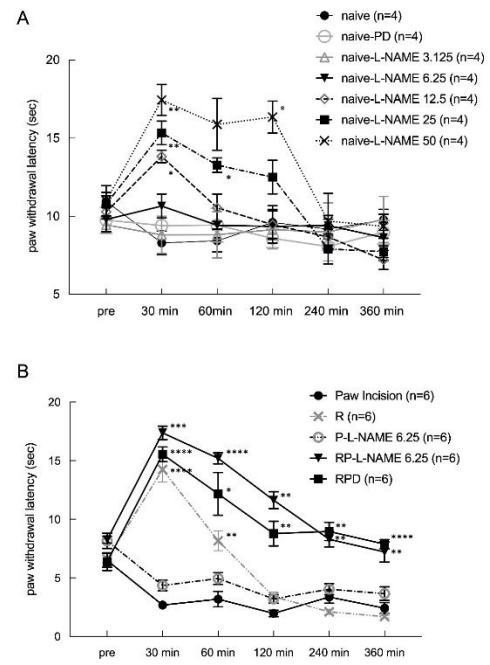


Figure 6

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------