

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 30 日現在

機関番号：32404

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591987

研究課題名（和文） 麻酔薬の各種悪性細胞に対するオートファジー誘導活性

研究課題名（英文） Autophagy-inducing activity of anesthetics against various malignant cells

研究代表者

長坂浩（NAGASAKA HIROSHI）

明海大学歯学部・教授

研究者番号：10189110

研究成果の概要（和文）：麻酔薬は悪性腫瘍患者の手術に用いられるが、悪性腫瘍細胞に及ぼす影響は不明な点が多い。1) 局所麻酔薬、2) 静脈麻酔薬、3) アドレナリン作動薬を用いてヒト白血病細胞（HL-60）、口腔扁平上皮癌細胞(OSCC)に対して細胞傷害活性について検討し、細胞死のタイプを検討してみた。その結果、各麻酔薬は正常細胞よりも悪性腫瘍細胞に対しての方が高い細胞傷害活性を示した。細胞死のタイプはHL-60では麻酔薬によってアポトーシスを誘導したが、OSCCではネクローシスであった。

研究成果の概要（英文）：Anesthetics have been administered to malignant tumors and surrounding tissues during the surgery, their effects on oral tissues is not well understood. In the present studies, the cytotoxicity of 1) local anesthetics, such as dibucaine 2) intravenous anesthetics, such as midazolam and 3) adrenergic agonists, such as dexmedetomidine against oral tumor and normal cells was compared among each group. Tumor-specificity index was determined by the ratio of mean 50% cytotoxic concentration against normal cells to that for tumor cells. Apoptosis induction was monitored by internucleosomal DNA fragmentation and caspase-3, -8, and -9 activation. Fine cell structure was observed under transmission electron microscopy. Dibucaine, midazolam and dexmedetomidine did not induce apoptosis in oral squamous cell carcinoma (OSCC) cells although they induced apoptosis in HL-60 (human promyelocytic leukemia). Autophagy inhibitors did not reduce the cytotoxicity induced by these drugs. The necrosis may be involved in the induction of antitumor activity by local anesthetics, intravenous anesthetics and adrenergic agonists in OSCC cells. However, further study is needed for another tumor cell lines

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 21 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
平成 22 年度	900,000	270,000	1,170,000
平成 23 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学

キーワード：麻酔・蘇生学

1. 研究開始当初の背景

麻酔薬が細胞傷害活性を有していることは知られているもののその細胞死のタイプについては不明な点が多い。細胞死のタイプについては現在のところ少なくともネクローシス、アポトーシス、オートファジーが知られているが、麻酔薬とオートファジーに関する研究はほとんどない。

2. 研究の目的

- 1) 麻酔薬の腫瘍選択性を調べるために各種ヒトガン細胞（口腔ガン、肺がん、乳がん、脳腫瘍、白血病など）と正常細胞（歯肉線維芽細胞、歯髄細胞、歯根膜線維細胞など）に対する細胞傷害活性をMTT法で比較検討する。
- 2) 麻酔薬は静脈麻酔薬として抗癌作用を有することが報告されているプロポフォール、チオペンタール、ケタミン、デクスメドミジン、ミダゾラム、レミフェンタニル、局所麻酔薬として抗癌作用を有することが報告されているジブカイン、リドカイン、カルボカイン、メピバカインなどで検討する。さらに、デクスメドミジン、アドレナリンなどのアドレナリン作動性薬物も同様に検討した。
- 3) アポトーシス、及び、オートファジー誘導の検証：アポトーシスのマーカーとしてはヌクレオゾーム単位のDNAの断片化とカスパーゼの活性化を用いる。オートファジーのマーカーとしては電子顕微鏡下で空胞、オートファゴゾームの形成（電子顕微鏡で観察）、LC3の成熟型への変換（ウエスタンブロット解析）の観察、これらがオートファジー抑制薬である3-メチルアデニンによる抑制制度を用いる。

3. 研究の方法

- (1) MTT法による生細胞数の測定：悪性腫瘍細胞を96-microwell plateにウエルあたり 1×10^4 個播種する。24時間後に新鮮な培養液

に置換後、種々の濃度に試料を溶かし、更に48時間培養する。その後、MTT試薬で4時間培養し、Multiskan (BICHROMATIC)を用いて540 nmの吸光度を測定し、相対的細胞数を求める。

- (2) 腫瘍選択性の高い麻酔薬の探索：ヒトがん細胞（口腔がん、白血病など）と正常細胞（歯肉線維芽細胞、歯髄細胞、歯根膜線維細胞など）を種々の濃度の試料あるいは対照の各種抗腫瘍薬と培養し、50%細胞傷害濃度 (CC_{50}) を求める。正常細胞に対する CC_{50} 値の総和を癌細胞に対する CC_{50} 値の総和で割り、細胞数を補正して、腫瘍選択係数TSをもとめる。
- (3) オートファジー誘導の検証：ヒトがん細胞を標的とし、各種細胞死のマーカーを用いてオートファジー誘導を検証する。アポトーシスのマーカーとしては、ヌクレオゾーム単位のDNAの断片化（TUNEL法、及び、アガロース電気泳動により検出する）、カスパーゼ-3, -8, -9の活性化（基質の切断活性により測定する）、アポトーシス小体の出現と微絨毛の消失（透過型電子顕微鏡によって観察する）、ミトコンドリアからのチトクロームCの放出（ELISAで定量する）、アポトーシス関連タンパク質 (Bcl-2, Bax, Bad, リン酸化したBad) の発現変動（ウエスタンブロット解析）を用いる。オートファジーのマーカーとしては、空胞化及びオートファゴゾームの形成（透過型電子顕微鏡観察）、LC3 (Atg8) タンパク質のオートファゴゾームへの集積（共焦点顕微鏡）、LC3の成熟化（ウエスタンブロット解析）を用いる。LC3-GFP融合タンパク質発現プラスミドは既に構築済みであり、トランスフェクション可能な状態である。また、細胞傷害がオートファジーの抑制薬である3-methyladenineで抑制されるかどうか観察する。

- (4) 受容体遮断薬の効果：ナロキソン、フルマゼニル、ヨヒンビン等の受容体遮断薬を用いる。

4. 研究成果

ヒト口腔扁平上皮癌細胞 (HSC-2, HSC-3, HSC-4)、ヒト白血病細胞 (HL-60) を用いた。

静脈麻酔薬に関して悪性腫瘍細胞に対してプロポフォールの影響を見てみると臨床使用濃度となって初めて悪性腫瘍細胞と正常細胞の双方に細胞傷害活性がみられた(腫瘍選択係数1.2)。ミダゾラムとジアゼパムの方が細胞傷害活性は高く(腫瘍選択係数2.2)、抗がん作用が強かった。また、チアミラールはHSCで比較的感受性が高かった。局所麻酔薬ではHSC細胞に対して細胞傷害活性がジブカイン>テトラカイン>ブピバカイン>リドカイン>メピバカイン=プロカインの順で高かった。アドレナリン作動性薬物では、イソプロテレノール>デクスメデトミジン>アドレナリン>クロニジン=フェニレフリンの順に細胞傷害活性が高かった。デクスメデトミジンの腫瘍選択係数は2.1であった。細胞傷害の機序はHSCでは透過型電子顕微鏡でどの使用薬物も空胞化及びオートファゴゾームの形成が観察されず、また、オートファジーの阻害剤(3MA, BAF)で前処置しても細胞傷害活性は抑制されなかった。また、アポトーシスマーカー(DNAの活性化、カスパーゼの活性化)を誘導せず、ネクローシスに特徴的なスメア状のDNAの断片化を誘導した。細胞傷害活性に対してナロキソン、フルマゼニル、ヨヒンビンなどの各受容体の拮抗薬は影響を与えなかった。HL-60では、静脈麻酔薬と局所麻酔薬でアポトーシス活性を容易に誘導した。今回の研究では口腔ガン細胞に対して麻酔薬はオートファジー誘導活性が観察されなかった。しかし、HL-60に対して静脈麻酔薬、局所麻酔薬はアポトーシスを誘導したところから、悪性腫瘍細胞によって細胞死のタイプが異なる可能性が分かった。今後の研究課題として肺ガン細胞や乳ガン細胞などを用いて検討すべきであると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

[雑誌論文](計16件)

1) 小貫和之, 山西優一郎, 竹内菊子, 小宅宏史, 今村敏克, 内田茂則, 長坂浩: 環状20番染色体症候群を合併した歯科患者における全身麻酔経験. 日本歯科麻酔学会雑誌 37 巻: 586-7, 2009

2) 竹内菊子, 小貫和之, 山西優一郎, 今村敏克, 小宅宏史, 今村敏克, 内田茂則, 小貫典子, 中島丘, 長坂浩: 歯学部入学時学生の救急蘇生法講習に関するアンケート調査—2007年度と2009年度との比較—. 日本歯科麻酔学会雑誌 37 巻: 588-9, 2009

3) 長坂浩, 大野聖加, 小林克江, 坂上宏: 麻酔薬の悪性腫瘍細胞に及ぼす影響について—麻酔薬, 麻酔方法は転移再発に影響を与えるか?—. 麻酔 58 巻: 1216-25, 2009

4) Ariyoshi-Kishino K, Hashimoto K, Amano O, Saitoh J, Kochi M, Sakagami H: Tumor-specific cytotoxicity and type of cell death induced by benzaldehyde. Anticancer Res. 30:5069-76, 2010

5) 宮澤有美子, 小貫和之, 今村敏克, 長坂浩, 長谷川彰彦, 嶋田淳: 歯科領域の全身麻酔に対する患者満足度に関する研究. 臨床麻酔 34 巻: 1551-7, 2010

6) 小貫和之, 小宅宏史, 山西優一郎, 内田茂則, 今村敏克, 塚本真規, 吉川秀明, 田島徹, 嶋田淳, 長谷川彰彦, 長坂浩: 亜酸化窒素・セボフルラン全身麻酔下でのペンタゾシンが auditory evoked potential と bispectral index に及ぼす影響. 日本歯科麻酔学会雑誌 39 巻: 628-32, 2011

7) Onuki K, Onuki N, Imamura T, Yamanishi Y, Yoshikawa S, Hagihira S, Shimada J, Nagasaka H: Pentazocine increases bispectral index without surgical stimulation during nitrous oxide-sevoflurane anesthesia. J Anesth. 25:946-9, 2011

8) 竹内菊子, 大木良蔵, 大野聖加, 今村敏克, 小貫和之, 中島丘, 高平修二, 長谷川彰彦, 町野守, 嶋田淳, 長坂浩: BLS (Basic life support) 講習会における関心度,モチベーション,技術講習状況についての調査—歯科医療従事受講者と歯科以外の医療従事受講者の比較検討—. 明海歯学 40 卷:55-61, 2011

9) Onuki N, Oyake H, Onuki K, Tsukamoto M, Hori K, Nagasaka H: Effects of pentazocine on cardiovascular and plasma catecholamine responses in surgical patients. *Anesthesia and Resuscitation* 47:35-40, 2011

10) Uesawa Y, Mohri K, Kawase M, Ishihara M, Sakagami H: Quantitative structure-activity relationship (QSAR) analysis of tumor-specificity of 1, 2, 3, 4-tetrahydroisoquinoline derivatives. *Anticancer Res.* 31:4231-8, 2011

11) 小宅宏史, 小貫和之, 山西優一郎, 浅見剛史, 小貫典子, 吉川秀明, 嶋田淳, 長坂浩: セボフルラン全身麻酔下ペンタゾシン静脈内投与の BIS 値に及ぼす影響について. *麻酔* 60 卷, 1128-34, 2011

12) 小貫和之, 深井俊一, 吉川秀明, 田島徹, 龍田恒康, 長谷川彰彦, 嶋田淳, 長坂浩: 全身麻酔導入時少量の誤嚥であったにもかかわらず術後肺炎を生じた障害者歯科治療患者の 1 例. *日本歯科麻酔学会雑誌* 40 卷:42-3, 2012

13) 小貫和之, 小貫典子, 長尾泰好, 小宅宏史, 吉川秀明, 森一将, 龍田恒康, 竹島浩, 嶋田淳, 長谷川彰彦, 長坂浩: 亜酸化窒素セボフルラン全身麻酔下ペンタゾシン静脈内投与が BIS 値に及ぼす影響について. *明海歯学* 41 卷:44-8, 2012

14) Horii H, Suzuki R, Sakagami H, Umemura N, Ueda JY, Shirataki Y: Induction of

non-apoptotic cell death in human oral squamous cell carcinoma cell lines by *Rhinacanthus nasutus* extract. *In Vivo.* 26:305-9, 2012

15) 小貫典子, 小貫和之, 長尾泰好, 長坂浩, 長谷川彰彦, 嶋田淳: 亜酸化窒素-セボフルラン麻酔下ペンタゾシン静脈内投与前後の BIS 値に及ぼす性差の影響. *臨床麻酔* 36 卷(7):2012 印刷中

16) Kobayashi K, Ohno S, Uchida S, Amano O, Sakagami H, Nagasaka H: Cytotoxicity and Type of Cell Death Induced by Local Anesthetics against Human Oral Normal and Tumor cells. *Anticancer Res.* in Press.

[学会発表] (計 43 件)

1) 小宅宏史, 竹内菊子, 今村敏克, 内田茂則, 長坂浩: 全身麻酔下でペンタゾシンが Bispectral index に及ぼす影響. 第 37 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2009

2) 竹内菊子, 小貫和之, 小宅宏史, 今村敏克, 内田茂則, 大木良蔵, 宮澤有美子, 小貫典子, 長谷川彰彦, 長坂浩: 歯学部入学時学生の救急蘇生法講習に関するアンケート調査. 第 37 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2009

3) 小貫和之, 山西優一郎, 今村敏克, 浅見剛史, 小貫典子, 長坂浩: 環状 20 番染色体症候群を合併した歯科患者における全身麻酔経験. 第 37 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2009

4) 小林克江, 大野聖加, 内田茂則, 坂上宏, 長坂浩: ジブカインはヒト口腔扁平上皮癌細胞に非アポトーシスを誘導する. 第 37 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2009

5) 大野聖加, 小林克江, 内田茂則, 坂上宏, 長坂浩: ミダゾラムによりヒト口腔扁平上皮

癌細胞に誘導される細胞死のタイプの検討.
第 37 回日本歯科麻酔学会総会・学術集
会, 2009

6)小宅宏史, 小貫和之, 今村敏克, 長坂浩: 全
身麻酔下でペンタゾシンが Bispectral
index に及ぼす影響. 日本臨床麻酔学会第
29 回大会, 2009

7)Nagasaka H, Onuki K, Oyake H, Takenouchi
K, Uchida S: Effects of pentazocine on
cardiovascular and catecholamine
responses in surgical patients. 6th
Congress of the European Federation of
IASP Chapters Pain in Europe VI, 2009

8)Oyake H, Onuki K, Yamanishi
Y, Takenouchi K, Uchida S, Nagasaka H:
Pentazocine increases bispectral index
values during nitrous oxide-sevoflurane
anesthesia. 12th International Dental
Congress on Modern Pain Control, 2009

9)Kobayashi K, Ohno S, Uchida S, Sakagami
H, Nagasaka H: Cytotoxicity of local
anesthetics against human normal and
tumor cells. 12th International Dental
Congress on Modern Pain Control, 2009

10)Ohno S, Kobayashi K, Uchida S, Sakagami
H, Nagasaka H: Type of cell death induced
by midazolam, intravenous anesthetic, in
several tumor cell. 12th International
Dental Congress on Modern Pain
Control, 2009

11)Hoshijima H, Takeuchi R, Araki
R, Nagasaka H, Kikuchi H: Predictor of
perioperative pulmonary complications
of malignant tumor in oral surgery. 12th
International Dental Congress on Modern
Pain Control, 2009

12)Oki R, Nagasaka H: Anesthetic
management of a patient with

Prader-Willi Syndrome. 12th
International Dental Congress on Modern
Pain Control, 2009

13)Takenouchi K, Oki R, Tsukamoto S,
Maruyama K, Nagasaka H: The case report of
pharyngeal cancer inducing the critical
low oxygen level due to tracheal
intubation difficulty. 12th
International Dental Congress on Modern
Pain Control, 2009

14)Nakamura S, Suzuki M, Nagasaka H,
Kitamura A, Kikuchi H: JM-1232, a novel
benzodiazepine agonist, retains phrenic
activity, not hypoglossal at sedative
dose. The Annual Meeting of American
Society of Anesthesiologists, 2009

15)Miyazawa Y, Nagasaka H: Patients
satisfaction after general anesthesia in
dentistry and oral surgery.
International Anesthesia Research
Society Annual Meeting, 2010

16)Nagasaka H, Onuki K, Oyake H :
Pentazocine increases bispectral index
values during nitrous
oxide-sevoflurane anesthesia. 13th World
Congress on Pain, 2010

17)Nakamura S, Suzuki M, Nagasaka H,
Kitamura A: A benzodiazepine site agonist,
JM-1232(-) retains carotid
chemoreceptor respiratory reflex in
rabbit. American Society of
Anesthesiologists Annual Meeting, 2010

18) 竹内菊子, 長坂浩: BLS(Basic Life
Support)講習会における受講者の興味, 関
心度, 技術習得状況についての調査-大学病
院と地域歯科医師会受講者との比較検討-.
第 29 回日本歯科医学教育学会学術大
会, 2010

19) 内田茂則, 大野聖加, 小林克江, 坂上宏, 長坂浩: アドレナリン作用薬と dexmedetomidine によってヒト口腔扁平上皮癌細胞に誘導される細胞死の検討. 第 38 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2010

20) 大野聖加, 小林克江, 内田茂則, 坂上宏, 長坂浩: ミダゾラムによりヒト口腔扁平上皮癌細胞に誘導される細胞死のタイプの検討. 第 38 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2010

21) 香西都容子, 長坂浩: プロポフォールによる全身麻酔中および術後 ICU 管理中に悪性高熱症亜型様の症状を呈した症例. 第 38 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2010

22) 宮澤有美子, 山西優一郎, 小貫和之, 今村敏克, 大木良蔵, 浅見剛史, 小貫典子, 長坂浩: 悪性症候群の既往歴を持つ統合失調症患者の歯科治療時の全身麻酔経験. 第 38 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2010

23) 竹内菊子, 大木良蔵, 今村敏克, 中島丘, 長坂浩: BLS (Basic Life Support) 講習会における受講者の興味, 関心度, 技術習得状況についての調査-大学病院と地域歯科医師会受講者との比較検討-. 第 38 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2010

24) 塚本真規, 大木良蔵, 長坂浩, 菊池博達: ペースメーカー装着患者の静脈内鎮静法の経験. 第 38 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2010

25) 長坂浩, 小貫和之, 小宅宏史: セボフルラン全身麻酔下でのペンタゾシンの聴覚誘発電位 (AEP) に及ぼす影響. 日本臨床麻酔学会第 30 回大会, 2010

26) 小貫和之, 小宅宏史, 長坂浩: ペンタゾシンとフェンタニールの Bispectral Index モニターに及ぼす影響について. 日本臨床麻酔学会第 30 回大会, 2010

27) 岩崎妙子, 中島丘, 浅野倉栄, 山本真樹,

遠見治, 溪 裕司, 磯部博行, 長坂浩: 介護予防を目的として歯科診療室でおこなった口腔ケアの一例. 日本老年歯科医学会第 22 回学術大会, 2011

28) 岩崎妙子, 中島丘, 浅野倉栄, 三宅一徳, 岡田春夫, 白井仁之, 加藤喜夫, 長坂浩: 訪問歯科診療で歯科衛生士が行った患者、介護者への支援. 日本老年歯科医学会第 22 回学術大会, 2011

29) Nagasaka H, Onuki K, Oyake H, Imamura T, Yamanishi Y, Yoshikawa S, Shimada J, Tsukamoto M: Comparative effects of pentazocine on bispectral index and auditory evoked potentials under nitrous oxide sevoflurane anesthesia. 7th Congress of the European Federation of IASP® Chapters (EFIC®), 2011

30) Oyake H, Onuki K, Nagasaka H, Yamanishi Y, Yoshikawa S, Shimada J: The effects of pentazocine on the bispectral index values during nitrous oxide-sevoflurane. 7th Congress of the European Federation of IASP® Chapters (EFIC®), 2011

31) Onuki K, Oyake H, Imamura T, Yamanishi Y, Yoshikawa S, Shimada J, Nagasaka H: Pentazocine, but not fentanyl, increases bispectral index values during nitrous oxide sevoflurane anesthesia-No sex differences in opioid induced-BIS index changes. 7th Congress of the European Federation of IASP® Chapters (EFIC®), 2011

32) Nakamura S, Suzuki M, Nishida M, Nagasaka H, Kitamura A: Oxygen-rich moderate hyper-capnic condition seems to have significantly reduced diazepam-induced respiratory inhibition

in hypoglossal, but not phrenic, nerve activity. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists, 2011

33) 深井俊一, 川野竜太郎, 下山哲夫, 長坂造: プロポフォール鎮静下に顎関節脱臼の整復を行った1例. 第39回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2011

34) 竹内菊子, 宮澤有美子, 今村敏克, 小宅宏史, 大野聖加, 鈴木正二, 長坂造: 血管腫を疑い低磁場MRI検査を実施した8歳女兒に鎮静に苦慮した1例. 第39回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2011

35) 田島徹, 長坂造, 水野貴公男, 嶋田淳: フルマゼニル投与による不穏症状を呈した2症例. 第39回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2011

36) 田島徹, 長坂造, 水野貴公男, 嶋田淳: 歯学部5学年学生に対する笑気吸入実習の教育効果について. 第39回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2011

37) 小貫和之, 小宅宏史, 山西優一郎, 内田茂則, 今村敏克, 田島徹, 嶋田淳, 長谷川彰彦, 長坂造: セボフルラン全身麻酔下ペンタゾシンとフェンタニルのBISモニターに及ぼす影響. 第39回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2011

38) 塚本真規, 小貫和之, 小宅宏史, 星島宏, 竹内梨紗, 長坂造, 土井克史, 松本延幸: セボフルラン全身麻酔下でのペンタゾシンの聴性誘発電位(aepEX)とBIS値に及ぼす影響. 第39回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2011

39) 宮澤有美子, 長坂造: 重症筋無力症を合併症した統合失調症の全身麻酔経験. 第39回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2011

40) 小貫和之, 長坂造, 小宅宏史, 吉川秀明, 嶋田淳: セボフルラン全身麻酔下オピオイドのBISモニターに及ぼす影響: 性差が存

在するか? 日本臨床麻酔学会第31回大会, 2011

41) 長坂造, 小貫和之, 小宅宏史: セボフルラン全身麻酔下でのペンタゾシンの聴性誘発電位(aepEX)に及ぼす影響. 日本臨床麻酔学会第31回大会, 2011

42) 吉川秀明, 田草川徹, 山田遼, 清水良昭, 小貫和之, 長坂造, 竹島浩, 嶋田淳: 脊髄性筋委縮症患者における局所麻酔下での智歯抜歯の1症例. 日本臨床麻酔学会第31回大会, 2011

43) 中島丘, 山本真樹, 浅野倉栄, 三宅一徳, 平柳誠, 白井仁之, 磯部博行, 加藤喜夫, 長坂造: アンケートからみた地域歯科医師会会員・スタッフの「医療安全」に係る認識について. 第21回日本有病者歯科医療学会総会・学術大会, 2012

[図書] (計 6件)

1) 長坂造 (分担執筆): こんな事故が起きたらポケットブックトラブル VS リカバリー, 山口秀紀 (編), 治療中に蕁麻疹・かゆみなどが現れた, 20-1, デンタルダイアモンド社, 2010

2) 長坂造 (分担執筆): 歯科診療室での医療安全実践ガイド, 石川雅彦, 平田創一郎, 中島丘 (編), 医歯薬出版, 2010

3) 池上敬一, 長坂造, 高橋誠治, 中島丘 (共著): 歯科診療室での患者急変対応ガイド, 医歯薬出版, 2010

4) 長坂造 (分担執筆): 歯科麻酔学 7版, 金子讓 監修, 福島和昭, 原田純, 嶋田昌彦, 一戸達也, 丹羽均 (編), 医歯薬出版, 2011

5) 長坂造 (分担執筆): 臨床歯科麻酔学 第4版, 丹羽均, 澁谷徹, 城茂治, 梶山加綱, 深山治久 (編), 2011

6) 谷口省吾, 長坂造, 吉田和子, 飯島毅彦 (共著): 麻酔・生体管理学 第3版, 学建書院, 2012

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長坂浩 (NAGASAKA HIROSHI)
明海大学・歯学部・教授
研究者番号：10189110

(2) 研究分担者

坂上宏 (SAKAGAMI HIROSHI)
明海大学・歯学部・教授
研究者番号：50138484

(3) 連携研究者

()

研究者番号：