

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16日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592578

研究課題名（和文） 鎮痛作用を有するCa拮抗薬の全身麻酔への応用-麻薬に依存しない麻酔のために-

研究課題名（英文） The application of Ca²⁺ channel blockers having analgesic properties to general anesthesia -in order not to depend on narcotics in anesthesia-

研究代表者

怡土 信一（ITO SHINICHI）

九州大学大学院・歯学研究院・助教

研究者番号：00315095

研究成果の概要（和文）：

①術前カルシウム（Ca）拮抗薬服用が麻酔に与える影響

過去10年間の九州大学病院歯科麻酔科管理麻酔症例を検討した。術前L型Caチャンネル拮抗薬服用は、全身麻酔薬の作用に有意な影響を与えないことが示唆されたが、N型Caチャンネル拮抗薬は服用者が少なく検討できなかった。

②伝達物質放出に及ぼす麻酔薬の効果とCa拮抗薬の影響

ほとんどの興奮性シナプスが分布している樹状突起部シナプス前終末（ブートン）において、プロポフォールおよびペントバルビタールは脱分極刺激やアゴニスト刺激によるCa²⁺上昇を抑制した。しかし、抑制性ブートンが高率に分布している神経細胞体および樹状突起起始部においては抑制しなかった。プロポフォールやペントバルビタールは興奮性シナプス前終末におけるCa²⁺上昇を抑制することにより、神経伝達物質放出を抑制するのかもしれない。

研究成果の概要（英文）：

①Effects of preoperative taking Ca²⁺ channel blockers on anesthesia

We analyzed the anesthesia cases during a ten-year period in the department of dental anesthesiology, Kyushu university hospital. Our studies suggest that preoperative taking L-type Ca²⁺ channel blockers may not significantly affect the action of general anesthetics. This study did not examine the effects of N-type Ca²⁺ channel blockers on general anesthesia and intravenous sedation, because there were few patients who took such type of agents.

②Effects of anesthetics and Ca²⁺ channel blockers on neurotransmitter release

Almost all excitatory presynaptic boutons attach to dendritic spines, and the inhibitory boutons are largely located on the soma or at the base of the dendrite. Propofol and pentobarbital suppressed the high K⁺-induced increase in presynaptic calcium concentration ([Ca²⁺]_{pre}) in the boutons attached to the dendrite, they did not affect [Ca²⁺]_{pre} in the boutons attached to the soma or dendrite base. Propofol inhibited glutamate-induced increase in [Ca²⁺]_{pre} in the boutons attached to the dendrite. Propofol and pentobarbital may affect neurotransmitter release from the excitatory presynaptic nerve terminals due to inhibition of increase in [Ca²⁺]_{pre}.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：歯科麻酔学

1. 研究開始当初の背景

麻酔法は多様化、複雑化する傾向にあり、種々の麻酔薬や鎮痛薬などを組み合わせて用いることで、麻酔の質を高めるための努力が世界各地で試みられている。我が国においても、2007年に販売が開始されたレミフェンタニルをベースにして、静脈麻酔薬や吸入麻酔薬を併用するやり方が主流となりつつある。レミフェンタニルなどの麻薬は、強力な鎮痛作用を有するが、その副作用である呼吸抑制は麻酔科医にとって悩みの種であり、フェンタニルなどを術後鎮痛の目的で使用するには十分な注意が必要となる。レミフェンタニルは作用時間が非常に短く調節性に富むが、一方、その特徴のために術後鎮痛効果はあまり期待できず、さらに強力な呼吸抑制作用は、歯科領域における静脈内鎮静法での使用を困難にしている。また、麻薬はその取り扱いに極めて注意を要し、麻酔科医による不正使用がときに社会問題として取り上げられることもある。このように麻薬に依存した麻酔法にはいくつもの問題点があり、より質の高い麻酔を目指してさらに改良されていかなければならない。

神経細胞には種々のCaチャンネルが分布しており、刺激伝達の調節に関与している。その中でもN型Caチャンネルは痛覚伝導路での神経伝達物質放出の調節を司っており、N型Caチャンネル拮抗薬には、麻薬に匹敵する、あるいはそれ以上の鎮痛作用があることが明らかとなってきている。一方、神経細胞体に多く存在していると考えられているL型Caチャンネルについても、その拮抗薬には鎮痛作用があることや吸入麻酔薬の効果に影響を与えることが報告されている。しかし、鎮痛作用を有するCa拮抗薬の麻酔に及ぼす影響については、ほとんど検討されていないのが実情である。

2. 研究の目的

歯科領域で需要の多い日帰り全身麻酔や静脈内鎮静法では、より速やかな覚醒が求められる。そのためには、麻酔維持における麻酔薬などの使用量を可及的に減量することが必要となる。また、安定した麻酔維持と術後鎮痛の成否は、麻酔の質を評価する上で重要な要素であり、強力な鎮痛薬の使用は必須であると考えられる。これらの点から、全身麻酔に強力な鎮痛薬であるN型Ca拮抗薬を応

用できれば、独創的かつ画期的な麻酔法になることが期待できる。

本研究では、強力な鎮痛作用を有するCaチャンネル拮抗薬に着目し、麻酔における応用の可否について臨床的および生理学的・薬理学的実験による検討を加え、麻薬に依存した麻酔法の改善について考察する。

- N型Caチャンネル拮抗薬の持つ強力な鎮痛作用を利用した麻酔法についての検討
- L型Caチャンネル拮抗薬の麻酔作用に及ぼす影響の検証

以上の点より、麻酔におけるCa拮抗薬使用の意義・有用性を明らかにする。

3. 研究の方法

① 術前Caチャンネル拮抗薬服用患者群とコントロール群の臨床統計学的比較検討

九州大学病院歯科麻酔科が、口腔外科手術または歯科治療のために行った麻酔管理症例において、術前のCaチャンネル拮抗薬服用群とコントロール群に関して、麻酔作用および循環動態変化についての臨床統計学的比較検討を行う。

- 1) 術前Caチャンネル拮抗薬服用患者の症例をピックアップし、Caチャンネル拮抗薬の種類、Caチャンネル拮抗薬単剤服用、Caチャンネル拮抗薬以外の多剤服用などの観点からグループを決定する。
- 2) Caチャンネル拮抗薬を服用していないコントロール群を定める。
- 3) これらのグループにおける、a. 単位時間あたりの麻酔薬使用量(手術開始前、手術中)、b. 鎮痛薬などの麻酔補助薬使用量、c. 麻酔薬および鎮痛薬などの使用量と血圧・心拍数およびBIS値との相関関係、d. 覚醒時間、e. 術後疼痛などについて比較検討する。
- 4) グループ分けには、年齢・性別・診断・術式・麻酔時間などを考慮することが必要である。麻酔薬の必要量は、BISモニターを使用していない症例では、主に循環動態の変動を考慮して決められる。よって、手術侵襲が同程度の時間帯における比較を行う必要がある。

以上より、術前Caチャンネル拮抗薬服用が麻酔作用に与える影響について検討する。

② ラット海馬ニューロンを用いた生理学的・薬理学的基礎研究：神経細胞体内およびシナプス前終末におけるCa²⁺濃度測定を中心とした蛍光イメージング

1) 実験方法

(1) シナプス前終末付着ニューロンの単離

ラットをペントバルビタールで麻酔後、断頭して脳を摘出し、厚さ約 400 μ m のスライス標本を作成する。ガラス微小電極と同様のピペットの先端をスライスに接触、振動させて機械的にニューロンを単離する。酵素処理を行わないこの方法により、神経終末部の付着した細胞が得られる。

(2) 蛍光イメージング

単離したニューロンに Fluo 3-AM をロードし、共焦点顕微鏡下で Ca²⁺ 蛍光指示薬の測光を行う。また高 K⁺ 溶液中で膜電位感受性色素 FM1-43 をロードすることによりシナプス前神経終末部位を同定する。

2) 明らかにする事項

(1) ラット海馬ニューロン神経細胞体および神経終末部における、高 K⁺ 溶液およびグルタミン酸による Ca²⁺ 濃度変化に対する、各種静脈麻酔薬の効果 (容量-作用曲線の作成)。静脈麻酔薬として、プロポフォール、バルビトレートを使用する。これまでの成果より、神経細胞体において各静脈麻酔薬はグルタミン酸による Ca²⁺ 上昇を濃度依存性に抑制するが、その抑制する phase は麻酔薬によって異なり、NMDA 受容体阻害薬であるケタミンは、初期の Ca²⁺ 上昇には関与しないことが示唆されている。また、神経終末部における作用については、明確な結論はまだ出ていない。

(2) グルタミン酸による Ca²⁺ 濃度変化に対する、各種 Ca 拮抗薬の効果 (容量-作用曲線の作成)。強力な鎮痛作用を有する N 型 Ca 拮抗薬として ω -MVIIIA (ジコノチド)、 ω -CVID などを用いる。また、ある程度の鎮痛作用が期待できる L 型 Ca チャネル拮抗薬との比較検討も行う。

(3) グルタミン酸による Ca²⁺ 濃度変化に対する、静脈麻酔薬による抑制効果は、Ca チャネル拮抗薬によって影響されるか。Ca チャネル拮抗薬としては、(2) において抑制作用を示さなかった濃度での使用、あるいは全く抑制作用を示さなかった種類の薬剤についても検討する。

4. 研究成果

① 術前 Ca 拮抗薬服用が麻酔作用に及ぼす効果に関する臨床統計学的検討

過去 10 年間の九州大学病院歯科麻酔科管理麻酔症例 (全身麻酔 4674 例、静脈内鎮静法 1218 例) を対象として、術前 L 型 Ca 拮抗薬服用症例 (472 例) より、Ca 拮抗薬単剤服用症例 (204 例) を抽出し検討した。全身麻酔、静脈内鎮静法の各々において、L 型 Ca 拮抗薬服用症例とコントロール症例間で、術中の循環動態変化、プロポフォール・ミダゾラム・フェンタニル使用量、吸入麻酔薬平均使用濃度

に有意差は認められなかった (第 37 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2009, 名古屋)

(第 20 回九州歯科麻酔シンポジウム, 2010, 宮崎)。N 型 Ca チャネル拮抗作用を有するシルニジピンについては、使用症例が不足していたため検討できなかった。これまで Ca 拮抗薬が麻酔効果に与える影響については、一致した見解が得られていなかったが、今回の結果から、術前 L 型 Ca チャネル拮抗薬服用は、全身麻酔薬の作用に有意な影響を与えないことが示唆された。

N 型 Ca チャネル拮抗薬は、現在、開発が進められている段階の薬である。静脈内投与できる薬剤が未だに存在していないため、臨床的な応用はこれからの課題となる。

② 伝達物質放出に及ぼす静脈麻酔薬の効果と Ca 拮抗薬の影響

シナプス前終末からの伝達物質放出に及ぼす全身麻酔薬の作用については、これまでいくつもの報告があるが、未だに結論は出ていない。ラット海馬 CA1 領域錐体細胞において、5-90mM 高 K⁺ 溶液は濃度依存性にシナプス前終末内 Ca²⁺ 濃度を上昇させた。ほとんどの興奮性シナプスが分布している樹状突起部ブートンにおいて、10 μ M プロポフォールおよび 300 μ M ペントバルビタールは 60mM K⁺ 溶液による Ca²⁺ 上昇を抑制したが、抑制性ブートンが高率に分布している神経細胞体および樹状突起起始部においては抑制しなかった (Euroanaesthesia 2010, Helsinki, Finland) (J Anesth, 2011)。3-100 μ M グルタミン酸はラット海馬シナプス前終末内 Ca²⁺ 濃度を濃度依存性に上昇させ、3-30 μ M プロポフォールは 30 μ M グルタミン酸による樹状突起部ブートンの Ca²⁺ 上昇を濃度依存性に抑制した (IFDAS, 2012, Hawaii, USA)。N 型 Ca チャネルは、シナプスブートンにおける主要な Ca チャネルタイプである。プロポフォールやペントバルビタールはシナプスブートンにおける GABA_A 受容体に作用することにより、N 型を含む Ca チャネルを抑制する可能性が考えられる。そして、シナプスブートンにおける Ca²⁺ 上昇の抑制は、神経伝達物質放出に影響を及ぼすことが推測できる (日歯麻酔, 2010) (J Anesth, 2011)。中枢神経系における麻酔作用は、これまで重視されていた神経細胞体における調節だけでなく、神経伝達物質放出の調節も含めて考察していかなければならない。

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 3 件)

- ① Shinichi Ito, Hitomi Sugiyama, Seiko Kitahara, Yoshimi Ikemoto, Takeshi Yokoyama. Effects of propofol and pentobarbital on calcium concentration in presynaptic boutons on a rat hippocampal neuron. *Journal of Anesthesia* 2011; 25: 727-733. (査読有)
- ② Shinichi Ito, Hitomi Usuda, Seiko Kitahara, Yoshimi Ikemoto, Takeshi Yokoyama. Effects of propofol and pentobarbital on calcium concentration changes in presynaptic boutons on the rat hippocampal neuron. *European Journal of Anaesthesiology* 2010; 27: 117. (査読無)
- ③ 怡土信一. 中枢神経細胞のシナプス前終末に対する全身麻酔薬の効果. Mechanisms of actions of general anesthetic in presynaptic terminals of central nervous system neurons. *日本歯科麻酔学会雑誌* 2010; 38: 256-261. (総説: 査読無)

[学会発表] (計 6 件)

- ① 今田弘記, 怡土信一, 横山武志. 九州大病院歯科麻酔科における過去 6 年間の麻酔症例に関する検討. 第 22 回九州歯科麻酔シンポジウム, 2012 年 3 月 10 日; 長崎市.
- ② Shinichi Ito, Hitomi Sugiyama, Seiko Kitahara, Takeshi Yokoyama. Effects of propofol on glutamate-induced calcium mobilization in presynaptic boutons on a rat hippocampal neuron. 13th International Dental Congress on Anesthesia, Sedation, and Pain Control (the International Federation of Dental Anesthesiology Societies: IFDAS), 29/February-2/March/2012; Kohala Coast, Big Island, Hawaii, USA.
- ③ Shinichi Ito, Hitomi Usuda, Seiko Kitahara, Yoshimi Ikemoto, Takeshi Yokoyama. Effects of propofol and pentobarbital on calcium concentration changes in presynaptic boutons on the rat hippocampal neuron. *Euroanaesthesia* 2010, 12-15/June/2010; Helsinki, Finland.
- ④ 中村愛, 怡土信一, 赤尾絢, 臼田仁美, 北原誠子, 横山武志. 術前に服用されたカルシウム拮抗薬の麻酔作用への影響. 第 20 回九州歯科麻酔シンポジウム, 2010 年 3 月 6 日; 宮崎.
- ⑤ 中村愛, 怡土信一, 赤尾絢, 臼田仁美, 北原誠子, 横山武志. 術前に服用されたカルシウム拮抗薬の麻酔作用への影響.

第 37 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2009 年 10 月 8-10 日; 名古屋.

- ⑥ 怡土信一. 中枢神経細胞のシナプス前終末に対する全身麻酔薬の効果. 第 37 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2009 年 10 月 8-10 日; 名古屋. (宿題報告: 招待講演)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

怡土 信一 (ITO SHINICHI)
九州大学大学院・歯学研究院・助教
研究者番号: 00315095

(2) 研究分担者

北原 誠子 (KITAHARA SEIKO)
九州大学大学院・歯学研究院・助教
研究者番号: 60363339
2009、2010 年度のみ (2011 年度は退職)

(3) 連携研究者