様式Ｃ－１９

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：24402
研究種目：若手研究（B）
研究期間：2009～2011
課題番号：21791467
研究課題名（和文）　局所麻酔薬の抗炎症作用の解明-炎症性疼痛の治療への応用を目指して

研究課題名（英文）　Elucidation of anti-inflammatory effect of local anesthetic

研究代表者
長谷 一郎（　HASE ICHIRO　　）
大阪市立大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号：60325628

研究成果の概要（和文）：局所麻酔薬の抗炎症効果を解明するため研究を行った。まずこの研究には血中および組織内の局所麻酔薬濃度の解析が不可欠である。覚醒状態のラットに対してマイクロダイアライシス法を用いて、静脈内投与した局所麻酔薬の血中および組織内の濃度の定量に成功した。３種類の局所麻酔薬の脳組織中の濃度と血中濃度の比は等しく、定常状態における組織への移行は３種類の局所麻酔薬間で差が無いことが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：It is necessary for elucidation of anti-inflammatory effect of local anesthetic to the quantification of the concentration of the local anesthetics in the blood and in the tissue. So we established the method of the he quantification of the concentration of the local anesthetics by microdialysis using the retrodialysis calibration method. No differences in the ratio of total brain concentration to total plasma concentration among the three anesthetics, but the ratio of cerebral extracellular fluid concentration to plasma unbound fraction of bupivacaine was significantly higher than lidocaine and levobupivacaine.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合　計
2009 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
2011 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総　計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学
科研費の分科・細目：外科系臨床医学　麻酔・蘇生学
キーワード：アミド型局所麻酔薬　脳　組織内濃度　リドカイン　ブピバカイン　レボブピバカイン

１．研究開始当初の背景

局所麻酔薬は周術期に使用され特に、硬膜外投与外科手術の術後鎮痛法として汎用されている。患者の術後管理の上で、呼吸機能の回復や早期離床に有効であることは証明されている。これらの効果が、術後合併症の予防に

寄与し、予後を改善し、入院期間の短縮に貢献することが示されている。これらの効果には局所麻酔薬の抗炎症効果が関与している可能性が示唆される。局所麻酔薬は炎症性サイトカインのinterleukin(IL-6)やIL-8の産生を防止するとともに、炎症部位への顆粒球の集積や血管内皮への付着を抑制する。この作用によって抗炎症作用を呈し、1. 消化管壁の透過性の亢進の抑制し蠕動運動の回復を早める、２. Superoxideを含めたfree radicalの産生を抑制して血管内皮の損傷を防ぎ、肺機能を防ぐ、3. 炎症部位の血管の透過性の亢進を予防し血管内容量を維持して循環虚脱を防ぐ、4. 心筋の虚血再還流時の炎症を抑制することにより虚血心筋を保護し、梗塞巣を保護する、などの全身に置ける保護効果が認められている。局所麻酔薬は硬膜外投与を鎮痛目的でなされる機会が多いが近年の研究から硬膜外投与だけでなく静脈投与された場合も抗炎症作用を発現することが明らかになっている。一方、従来はリドカインによる研究がほとんどであり、それ以外の局所麻酔薬による研究はあまりなされていない。しかし、臨床上では抗炎症作用を得るためには長時間の持続投与が必要であり、また局所麻酔薬の抗炎症作用は神経遮断における力価には比例しないためその検討にあたっては長時間作用型局所麻酔薬を用いた研究が不可欠である。本研究では先ず急性期実験として、臨床で汎用されるリドカインおよびロピパカイン、ブピパカインを炎症モデルに動物に静脈投与し、炎症性サイトカインと局所麻酔薬の血中濃度、組織中濃度の関係を明らかにする。次に慢性痔痛実験として体内埋め込み型マイクロインフュージョンポンプを用いて、炎症性痔痛モデル動物に対して局所麻酔薬を長時間持続静脈投与し、炎症性サイトカイン濃度および痔痛を、生理食塩水を投与した対照や他の原因による疼痛モデルと比較検討する。

２．研究の目的

まず急性期実験を、次に慢性疼痛に関する実験を行う。(急性期実験)実験動物(ラット)を用いて炎症(熱傷)モデルを作成する。麻酔下でラットの動静脈にカテーテルを入れた後に覚醒させ、局所麻酔薬(リドカイン、ロピパカイン、ブピパカイン)を静脈内投与して血中濃度と炎症性サイトカインの変化を検討する。血液及び摘出臓器(肺、消化管、心臓)中の局所麻酔薬の濃度を定量する。(慢性疼痛実験)炎症性疼痛モデル、神経因性疼痛モデルを作成する。モデル動物の背部の皮下にマイクロインフュージョンポンプを埋め込み、局所麻酔薬を長時間持続投与し、血中サイトカインおよび疼痛の変化を検討する。実験終了後に組織を摘出・固定し、変性の度合を評価する。まず急性期実験を臨床で汎用されているリドカインおよびロピバカイン、ブピバカインを炎症性疼痛モデル動物に静脈投与する。リドカインは神経伝達の遮断に必要とされるよりも低濃度で抗炎症作用を発現するが、その際の血中濃度と組織濃度の閾値についても検討されていない。そこでそれぞれの局所麻酔薬を動物に投与し、血中濃度とともに組織中濃度を測定し、これらの関係を明らかにすることを目的とした。

３．研究の方法

局所麻酔薬の血中濃度、組織中濃度の関係を明らかにするために研究方法を計画した。覚醒状態のラット動静脈にカテーテルを留置したモデルを用い、硬膜外麻酔目的で持続投与を行った場合よりも血中濃度が低く保たれるよう、投与量の設定について検討した。局所麻酔薬としてリドカイン、ブピバカインおよびブピバカインの一方の光学異性体のみを含むレボブピバカインを用いた。

実験結果に基づき、投与速度はリドカイン0.5μg/kg/min、ブピバカインおよびレボブピバカインは 0.1 μg/kg/min とし、120 分間にわたる持続投与の後に血中濃度を求めた。次に、組織中の局所麻酔薬の濃度を測定するため、ラットより脳を摘出してホモジェネートを作成し、これに既知量の局所麻酔薬を加えて検量線を作成する。組織内の局所麻酔薬の濃度の正確な定量が可能であることを確認する。

血中濃度を測定した群とは別のラットに対してこれらの麻酔薬を同じ投与速度で 120 分間持続投与し、その後にチオペンタールの腹腔内投与により安楽死させ、脳組織を取り出した。表面の血管を慎重に除去した後に局所麻酔薬を定量する。

次に血液中および組織中の局所麻酔薬の定量が確立されたのち実験モデルとしてカラゲニン物質を後肢足底に皮下注入し、注入4時間に浮腫や痛覚過敏、アロディニアが生じたことを確認する。浮腫部位の皮膚に切開を加え遠心後の浸出液を採取し、浸出液をメスアップして凍結保存し、サイトカインおよびプロスタグランジンE2(PGE2)をELIZA 法によるキットで測定する。さらにBennetらの方法に従って大腿二頭筋の筋頭間直下で坐骨神経を露出し、分岐部の中枢側をchromic gutを用いてlmm間隔で4カ所緩く結致して作成する。結繋部分を摘出して標本を作成し、坐骨神経の変性を顕微鏡下で確認する。これらの実験モデル動物の血液中及び組織中の局所麻酔薬濃度を測定する。

４．研究成果

(1) リドカインは0.5μg/kg/min以下、ブピバカインおよびレボブピバカインは0.1μg/kg/min 以下では血行動態や呼吸状態に影響を及ぼさないことが明らかになった。

(2) 高速液体クロマトグラフ-質量分析装置を用いて 20μl の血漿で、リドカインは0.1-5μg/ml、ブピバカイン、レボブピバカインは 0.1-2μg/ml の範囲で血中濃度の測定が可能なことが明らかになった。

(3) 経時的に血中濃度を定量した結果、120分間の持続投与後には 3 種類の局所麻酔薬の血中濃度はほぼ一定に達することが明らかになった。また蛋白結合率はリドカインが約 50%、ブピバカイン・レボブピバカインが約 80%で、臨床における値とほぼ等しいことが明らかになった。

(4) リドカインについては 0 – 100 μg/ml、ブピバカイン、レボブピバカインについては、0 – 50 μg/ml の範囲で優れた直線性を有する検量線が作成され、組織内の局所麻酔薬の濃度の正確な定量が可能であることが示された。

(5) 血中濃度を測定した群とは別のラットに対してこれらの麻酔薬を同じ投与速度で 120 分間持続投与し、その後にチオペンタールの腹腔内投与により安楽死させ、脳組織を取り出し局所麻酔薬を定量したところ、リドカイン、ブピバカイン、レボブピバカインとも、脳組織中の濃度と血中濃度の比は等しく、長時間持続投与後、定常状態における組織への移行は３種類の局所麻酔薬間で差が無いことが明らかになった。

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 7 件）

（全て査読あり）

① 萩原千恵，長谷一郎，舟井優介，清水雅子，高橋陵太，宮田妙子，舟尾友晴，義元徳祥，西川精宣，浅田章：ガンマナイフ後に再発した三叉神経痛 4 症例に対する治療法の検討：ペインクリニック 32(8)： 1255-1229， 2011 http://jglobal.jst.go.jp/public/20090422/201102293797127113

② Yuko Ikeda, Yutaka Oda, Taketo Nakamura, Ryota Takahashi, Wakako Miyake, Ichiro Hase, Akira Asada: Pharmacokinetics of lidocaine, bupivacaine, and levobupivacaine in plasma and brain in awake rats: Anesthesiology112(6):1396-1403,2010 DOI:10.1097/ALN.0b013e3181d9cc54

③ 松浦正，長谷一郎，浅田章：輸血を拒否する患者:患者･家族との合意が重要、自己血輸血は心強い味方：Life Support and Anesthesia 17(7)：688-692，2010 http://jglobal.jst.go.jp/public/20090422/201002239619697354

④ 舟尾友晴，長谷一郎，小谷百合子，清水雅子，中村武人，高橋陵太，宮田妙子，浅田章：くも膜下フェノールブロックと仙骨部神経根高周波熱凝固術が著効した旧肛門部痛の1例：Palliative Care Research 5(2)： 314-316， 2010 DOI:10.2512/jspm.5.314

⑤ 清水雅子，舟尾友晴，長谷一郎，鳥山澄子，狩谷伸享，浅田章：脊髄くも膜下麻酔後に転換性障害による神経症状を呈した 1 症例：日本ペインクリニック学会誌 16(2)： 158-160， 2009 http://jglobal.jst.go.jp/public/20090422/200902254120444780

⑥ 長谷一郎：大学病院の緩和ケアチームにおける麻酔科医の活動　その2「徹底コンサルタント型」：日本臨床麻酔学会誌 29(5)：597-604，2009 http://jglobal.jst.go.jp/public/20090422/200902224948697677

⑦ 舟尾友晴，高橋陵太，宮田妙子，長谷一郎，坂本道治：診断に難渋した肩部 Glomus 腫瘍の 1 症例：ペインクリニック 30(9)：1265-1267，2009 http://jglobal.jst.go.jp/public/20090422/200902280167678747

〔学会発表〕（計 13 件）

① 清水雅子，舟尾友晴，池永十健，高橋陵太，長谷一郎，西川精宣，浅田章：右頬部痛の原因が右上顎癌であった右顔面神経帯状疱疹後神経痛の 1 症例：第 41 回　日本ペインクリニック学会関西地方会，大阪，2011

② 池永十健，長谷一郎，古川敦子，高橋陵太，舟尾友晴，西川精宣：同種骨髄移植後に発症した Calcineurin-inhibitor Induced Pain Syndrome にガバペンチンが奏効した 1 症例：日本臨床麻酔学会第 31 回大会，沖縄，2011

③ 宮田妙子，長谷一郎，高橋陵太，舟尾友晴，義元徳祥，西川精宣，浅田章：帯状疱疹後神経痛の経過中に多発性の関節炎を認めた 1 症例：第 40 回　日本ペインクリニック学会関西地方会，大阪，2010

④ 舟井優介，舟尾友晴，高橋陵太，宮田妙子，長谷一郎，浅田章：帯状疱疹痛、帯状疱疹後神経痛に対して投与した三環系抗うつ薬は QTc を有意に延長した：日本麻酔科学会第 57 回学術集会，福岡，2010

⑤ 中村武人，長谷一郎，古川敦子，清水雅子，高橋陵太，宮田妙子，舟尾友晴，

浅田章，鶴田理恵：フェンタニルパッチは周術期にも継続して使用することが有用である：第 15 回日本緩和医療学会学術大会，東京，2010

⑥ 清水雅子，長谷一郎，池上里美，鶴田理恵，星学，松井徳造，中尾吉孝，高橋陵太，宮田妙子，舟尾友晴，浅田章：癌性疼痛患者の神経障害性疼痛に対するガバペンチンの有効性の検討：第 15 回日本緩和医療学会学術大会，東京，2010

⑦ 池永十健，舟尾友晴，宮田妙子，清水雅子，高橋陵太，長谷一郎，西川精宣，浅田章：運動障害を伴う上肢帯状疱疹痛患者における治療方法の検討：日本ペインクリニック学会第 44 回大会，京都，2010

⑧ 松山大樹，長谷一郎，小谷百合子，高橋陵太，宮田妙子，舟尾友晴，浅田章：帯状疱疹により誘発された、たこつぼ型心筋症の一症例：日本ペインクリニック学会第 44 回大会，京都，2010

⑨ 池田奈保美，山間義弘，土屋正彦，小田裕，長谷一郎，浅田章：脊髄くも膜下麻酔による反復帝王切開術中にラテックスアレルギーを生じた 2 症例：第 56 回日本麻酔科学会関西支部学術集会，大阪，2010

⑩ 舟尾 友晴，舟井 優介，中村 武人，高橋 陵太，宮田 妙子，長谷 一郎，義元 徳祥，浅田 章：帯状疱疹痛、帯状疱疹後神経痛に 対して投与した三環系抗うつ薬 による QTc 延長効果の検討：第 39 回　日本ペインクリニック学会　関西地方会，大阪，2009

⑪ 長谷 一郎，鶴田 理恵，星 学，高田佳江，松井 徳造，宮田 妙子，高橋 陵太，舟尾 友晴，浅田 章：当院緩和ケアチームに紹介された骨転移症例に対する疼痛緩和方法についての検討：第 14 回日本緩和医療学会学術大会，大阪，2009

⑫ 池田 奈保美，宮田 妙子，長谷 一郎，義元 徳祥，浅田 章：鍼治療・指圧が原因と考えられる横紋筋融解症の 1 例：日本ペインクリニック学会　第 43 回大会，名古屋，2009

⑬ 萩原 千恵，長谷 一郎，舟井 優介，清水 雅子，高橋 陵太，宮田 妙子，舟尾 友 晴，義元 徳祥，西川 精宣，浅田 章：ガンマナイフ治療後に再発した三叉神経痛 5 症例：日本ペインクリニック学会　第 43 回大会，名古屋，2009

６．研究組織

(1)研究代表者

長谷 一郎（HASE ICHIRO）

大阪市立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：60325628

(2)研究分担者

該当なし

(3)連携研究者

該当なし