

科学研究費補助金研究成果報告書

平成 22 年 5 月 21 日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2007～2008

課題番号：19890229

研究課題名（和文） 塩酸デクスメドトミジン添加塩酸リドカインの局所麻酔効果

研究課題名（英文） Local anesthetic effect of lidocaine with dexmedetomidine

研究代表者

筒井（中野） 友花子（TSUTSUI (NAKANO) YUKAKO）

日本歯科大学・生命歯学部・助教

研究者番号：20434144

研究成果の概要（和文）： α_2 受容体作動薬である塩酸デクスメドトミジン(DEX)はリドカインの麻酔効果を増強する。しかし、その作用については明らかでない。今回われわれは、DEX が末梢神経の活動電位（Action Potential: AP）を直接抑制することでリドカインの麻酔効果を増強し、作用時間を延長することを証明した。さらに Isobologram 解析を行ない、リドカインと DEX の AP 抑制効果は相乗的に働くことを示した。

研究成果の概要（英文）：Recent reports have examined that α_2 -adrenoceptor agonist enhanced the local anesthesia effect of lidocaine in peripheral nerve. Dexmedetomidine (DEX) is known that a selective α_2 -adrenoceptor agonist. We therefore hypothesized that lidocaine with DEX enhance the local anesthesia effect without unacceptable cardiovascular side effect. We investigated to effect of DEX on peripheral nerve. In addition, we determine local anesthetic effect of DEX with lidocaine. And also, we identified the pharmacological relationship of lidocaine and DEX by isobologram analysis on the rat sciatic nerve.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合 計
2007 年度	580,000	0	580,000
2008 年度	760,000	228,000	988,000
年度			
年度			
年度			
総 計	1,340,000	228,000	1,568,000

研究分野：歯科麻酔学

科研費の分科・細目：外科系歯学

キーワード：塩酸デクスメドトミジン・ α_2 受容体・塩酸リドカイン・局所麻酔・活動電位

1. 研究開始当初の背景

(1) 現在の歯科用局所麻酔薬の多くは、作用時間の延長や効力の増強を目的としてアドレ

ナリンやフェリプレシンに代表される血管収縮薬を含有している。しかし、これらは予期せぬ血圧上昇や不整脈などの原因となるため、

より安全で有効な麻酔薬を求めて研究が続けられている。近年、 α_2 受容体作動薬であるクロニジンをリドカインに添加すると、麻酔効果の増強と作用時間の延長が得られることが明らかとなった。しかし、クロニジンは α_2 受容体のpartial agonistであり、投与量が増加すると α_1 受容体を刺激し、血圧上昇を起こす可能性がある。一方、full agonistのDEXは静脈内投与によって一過性の血圧上昇に続いて降圧を生じることが知られているが、これは延髄の孤束核に分布する α_{2A} 受容体を刺激するためだと考えられている。したがって、DEXを局所麻酔薬に添加すれば、心拍数の増加や血圧上昇をおこさずに、効果の増強と作用時間の延長が得られる可能性がある。山下らは、DEX添加リドカインをラット三叉神経に作用させると麻酔時間が延長し効果が増強することを確認した。さらに、これらは末梢血管に存在する α_{2B} 受容体の血管収縮作用によると考察している。一方、真鍋らは、DEXが3%メピバカインの麻酔作用を増強することを観察し、中枢性の鎮痛作用が関与していると結論している。また、Nicholsonらは、末梢の知覚神経のニューロンに α_2 受容体のmRNAが発現していると報告している。そこでわれわれは平成19年度の研究として、*in vitro*でラット坐骨神経線維にDEX及びDEX添加リドカインを作用させて活動電位の変化を記録し、末梢神経に対する直接的な作用について検討した。

(2) われわれは平成 19 年度の研究として、ラット坐骨神経を使用し、DEX は末梢神経のAPを直接抑制すること、また、抑制のメカニズムには K^+ チャネルがかかわっていることを明らかにした。このことから、DEX はリドカインの薬理作用を増強させる可能性がある。一般に、2 種類の薬剤を併用投与し、薬理作用が増強する場合には、相加効果と相乗効果の2つが考えられる。相加効果は作用機序が同じ場合に観察され、併用によっても両者の和以上の反応は得られない。一方、相乗効果は作用機序の異なる薬剤を併用した場合に認められ、両者の和以上の反応が観察される。したがって併用薬剤の効果が相加的か、あるいは相乗的かを明らかにすれば至適投与量の決定のみならず作用機序の解明にも役立つと考えられる。そこでわれわれは平成 20 年度の研究として、リドカイン + DEX 混合液の EC_{50} を決定し、次いで Isobologram 法を用

いて併用効果について解析した。

2. 研究の目的

(1) ラット坐骨神経線維に DEX 及び DEX 添加リドカインを作用させて活動電位の変化を記録し、末梢神経に対する直接的な作用について検討すること。

(2) リドカイン + DEX 混合液の EC_{50} を決定し、次いで Isobologram 法を用いて併用効果について解析すること。

3. 研究の方法

(1) 神経組織の単離

週齢7~8週、体重175~250gの雄性Wistarラットを断頭し、10分以内に左右の坐骨神経を摘出した。摘出した坐骨神経をModified Liley 溶液 (136.8mM NaCl; 5.0mM KCl; 2.0mM $CaCl_2$; 1.0mM $MgCl_2$; 11.0mM Glucose; 2.53mM HEPES; 0.1N NaOHでpHを7.4に調整) を満たした3つの槽をもつプラスチック製のチャンバーに置き、中心の槽と左右の槽との境は白色ワセリン[®]で遮断した。左右の槽には刺激電極と記録電極を配置し、5分間放置した。

(2) 活動電位の測定

電気刺激と活動電位の記録には誘発反応記録装置 (ニューロパックΣ 日本光電工業社) を用いた。坐骨神経の末梢側に双極性に接触させた刺激電極より、持続時間 0.5ms、短形波単一パルス 1Hz で刺激を加え、中枢側から導出した波形を20回加算平均した。刺激の強さはAPの振幅が、刺激強度との相関を示す強さに固定した。脱分極相時間 (Duration of depolarization phase: DDP) は刺激開始後から脱分極相の最高値までの時間とした。

(3) リドカインのAPおよびDDPに対する作用

コントロール波形を確認後、チャンバー内のB槽に1、10、100および1000 μ Mに調整したリドカインを投与した。5分間放置した後APとDDPを測定した。

(4) DEXのAPおよびDDPに対する作用

コントロール波形を確認後、0.1、1、10および100 μ Mに調整したDEXをチャンバー内のB槽に投与した。(3)と同様にAPとDDPを測定した。

(5) DEX+リドカインのAPおよびDDPに対する作用と回復時間の測定

コントロール波形を確認後、DEX 10 μ M+リドカイン100 μ Mをチャンバー内のB槽に投与

した。投与2分後、5分後、10分後にAPとDDPを測定した。投与直後から振幅が50%以下に減少するまでの時間を効果発現時間とした。投与10分後にDEX 10 μ M+リドカイン100 μ Mを除去し、Modified Liley 溶液で2回洗浄した(wash-out)。さらにModified Liley溶液を加え、2分後、5分後、10分後にAPとDDPを測定した。APの消失から再出現までの時間を回復時間とした。

(6) DEX の経時的変化

コントロール波形を確認後、チャンバー内のB槽に10 μ Mに調整したDEXを投与した。投与後、0、5、10、15、20分間放置した後APを測定した。20分間放置終了後、DEXを除去し、Modified Liley 溶液で洗浄した(wash-out)。さらにModified Liley 溶液を加え、5、10分後のAPを測定した。

(7) リドカイン EC₅₀の決定

コントロール波形を確認後、チャンバー内のB槽に、25、50、100、200 および 400 μ Mに調整したリドカインを投与した。投与後、5分間放置した後APを測定した。測定後、プロビット法によりEC₅₀を求めた。

(8) DEX EC₅₀の決定

コントロール波形を確認後、2、4、8、16 および 32 μ Mに調整したDEXをチャンバー内のB槽に投与し、(7)と同様にEC₅₀を求めた。

(9) リドカイン + DEX 混合液 EC₅₀の決定

リドカイン 20 μ g/ml + DEX2 μ g/ml、リドカイン 10 μ g/ml + DEX1 μ g/ml およびリドカイン 5 μ g/ml + DEX0.5 μ g/mlに調整した混合液をチャンバー内のB槽に投与して、(7)と同様にリドカインとDEX混合液のEC₅₀を求めた。

(10)統計学的処理

データの解析は ystat 2006 で行った。リドカインおよびDEXを作用させたときのDDPの変化に関する統計学的検討は、Non-repeated measures ANOVAとDunnett's検定で行った。また、DEX 10 μ M+リドカイン 100 μ Mを作用させたときのAP,DDPの変化に対する統計学的検討およびDEXの作用発現時間に対する統計学的検討は、Repeated measures ANOVAとDunnett's検定で行った。いずれも有意水準を5%に設定し、有意水準がそれ未満であれば統計仮説を棄却した。

4. 研究成果

(1)リドカインのAPおよびDDPに対する作用とEC₅₀の決定

リドカイン投与によってAPは用量依存性に減少し、EC₅₀は100 μ M程度と考えられた。DDPはコントロール値と各濃度の間に有意差を認めなかった。

(2)DEXのAPおよびDDPに対する作用とEC₅₀の決定

DEX投与によってAPは用量依存性に減少し、EC₅₀は10 μ M程度と考えられた。DDPは1 μ M、10 μ M、100 μ Mでコントロール値に対して有意に減少した。

(3)DEX+リドカインのAPおよびDDPに対する作用と回復時間の測定

DEX 10 μ M+リドカイン 100 μ Mの投与によってAPとDDPは有意に減少した。また、wash-out 2分後にはAPは回復傾向を示し、5分後にはコントロール値と有意な差を認めなかった。DDPはwash-out後ただちに回復し、コントロール値と有意な差を認めなかった。

(4)DEX作用発現時間

DEXの10 μ M投与によってAPは時間依存性に減少し、投与5分後でその作用は最大となった。以後、変化はみられなかった。DEXの除去10分後にAPはコントロール値まで回復した。

(5)リドカイン EC₅₀

リドカインの投与によってAPは用量依存性に減少し、EC₅₀は95.63 $\pm$ 11.16 μ Mであった。

(6) DEX EC₅₀

DEX投与によってAPは用量依存性に減少し、EC₅₀は12.19 $\pm$ 1.07 μ Mであった。

(7)リドカイン + DEX 混合液 EC₅₀とIsobologramによる解析

additive line はリドカイン 95.63 μ M と DEX 12.19 μ M を結んだ直線となった。また、リドカイン + DEX 混合液のEC₅₀は9.56 $\pm$ 1.11 μ g/mlであった。この結果から混合液中に含まれるそれぞれの用量は、リドカイン 37.08 μ M、DEX3.67 μ Mとなった。これらの値をIsobologram上にプロットするとDEX + リドカイン混合液のEC₅₀はadditive lineの左下に位置した。

以上の結果からDEXとリドカインは相乗的な薬理作用により末梢神経に対するAPを抑制すると考えられた。

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2件)

- ① 筒井友花子、星合啓子、砂田勝久、
Isobologramを用いた塩酸デクスメデト
ミジン添加塩酸リドカインによる活動
電位抑制効果の検討および EC_{50} の算出、
日本歯科麻酔学会雑誌、査読有、第37巻、
2009、543-547
- ② 筒井友花子、砂田勝久、ラット坐骨神経
に対する塩酸デクスメデトミジン添加塩
酸リドカインの活動電位抑制効果、日本
歯科麻酔学会雑誌、査読有、第36巻、2008、
257-262

〔学会発表〕(計2件)

- ① Yukako Tsutsui, Satoko Hoshiai,
Katsuhisa Sunada, Statistical
analysis of dexmedetomidine and
lidocaine and identify EC_{50} with
isobologram, Dental congress on modern
pain control, 14~17 October 2009,
Gold Coast, Australia
- ② 筒井友花子、星合啓子、砂田勝久、
Isobologramを用いた塩酸デクスメデト
ミジン添加塩酸リドカインによる活動
電位抑制効果の検討および EC_{50} の算出、
日本歯科麻酔学会総会・学術集会、平成
21年10月8日~10日、名古屋市、愛知県

〔その他〕

ホームページ等

平成 21 年度日本歯科麻酔学会・中久喜学術
賞受賞「ラット坐骨神経に対する塩酸デクス
メデトミジン添加塩酸リドカインの活動電
位抑制効果」

6. 研究組織

(1) 研究代表者

筒井 (中野) 友花子 (TSUTSUI YUKAKO)
日本歯科大学・生命歯学部・助教
研究者番号：20434144

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：