

令和 6 年 5 月 24 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09249

研究課題名(和文) 局所麻酔薬は抗酸化作用をもつか？それとも増強作用をもつか？

研究課題名(英文) Are local anesthetics antioxidants or prooxidants?

研究代表者

北野 敬明 (Kitano, Takaaki)

大分大学・医学部・教授

研究者番号：20211196

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：代表的なアミド型局所麻酔薬(mepivacaine, lidocaine, bupivacaine, dibucaine)の抗酸化作用について、hydroxyl radical等9種類のフリーラジカルに対する直接的な消去作用の評価を行った。4種類の局所麻酔薬は、いずれもhydroxyl radicalとascorbyl free radicalを濃度依存的に直接消去する作用を示した。しかし、superoxide anion, tert-butyl peroxy radical, nitric oxide, DPPHに対してはいずれも直接的消去作用を示さなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

局所麻酔薬には直接的な消去作用を示すフリーラジカルと示さないフリーラジカルがあり、その種類は局所麻酔薬によって異なることが明らかになった。局所麻酔薬のフリーラジカル消去作用に差異があることはこれまでに報告されておらず、本研究が初めての報告である。脂質の酸化に対する防止効果も局所麻酔薬によって異なることから、フリーラジカル消去作用の差異が、局所麻酔薬の抗酸化作用に影響を与えていることが示唆された。これらは、病態に応じた麻酔戦略や周術期管理を考える上で、重要な所見であると推察する。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to illustrate the dose-response relationships of the direct scavenging activity of amide-based local anesthetics against multiple free radicals in vitro. Amide-type local anesthetics selectively and directly scavenge some free radicals. Three kinds of free radicals were eliminated by all the four local anesthetics examined. Mepivacaine, lidocaine, bupivacaine, and dibucaine scavenged hydroxyl radicals, ascorbyl free radicals and singlet oxygen were scavenged dose-dependently. Three other free radicals (tert-butoxyl radical, nitric oxide, tyrosyl radical) were not scavenged by all of the four local anesthetics. Superoxide anion, tert-butyl peroxy radical, DPPH were not scavenged by any of the four local anesthetics. These results suggest that local anesthetics have antioxidant properties through their free radical scavenging activities.

研究分野：麻酔学

キーワード：局所麻酔薬 抗酸化作用 フリーラジカル ラジカル消去能 電子スピン共鳴

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会となった我が国では、高齢者の手術が増加している。高齢者は、全身麻酔による周術期合併症のリスクが高いため、全身麻酔の代替として局所麻酔薬を用いた末梢神経ブロックの必要性が高まっている。近年、局所麻酔薬の抗炎症・抗酸化作用に関して多くの報告がされている。最近の研究では、リドカインが、ヒドロキシルラジカルおよび一重項酸素を消去し、スーパーオキシドアニオンを消去しないことが明らかとなっている。しかし、リドカイン以外のアミド系局所麻酔薬がどのフリーラジカル種を直接消去するのか、その全体像については未だ明らかになっていない。

2. 研究の目的

本課題研究は、アミド系局所麻酔薬の複数のフリーラジカルに対する濃度依存的な直接消去能を明らかにすることを目的として実施した。

3. 研究の方法

4種類のアミド系局所麻酔薬 (mepivacaine, lidocaine, bupivacaine, dibucaine) を評価対象として、9種類のフリーラジカル (ヒドロキシルラジカル, スーパーオキシドアニオンラジカル, *tert*-ブチルペルオキシラジカル, *tert*-ブトキシラジカル, アスコルビルフリーラジカル, 一重項酸素, 一酸化窒素, DPPH, チロシルラジカル) に対する直接的なフリーラジカル消去作用を、電子スピン共鳴 (Electron Spin Resonance 以下 ESR) 法を用いて評価した。濃度-反応曲線から IC₅₀ を求め、フリーラジカル消去反応の反応速度定数を推定した。TBARS アッセイにより、局所麻酔薬による脂質の過酸化の抑制を検討した。

4. 研究成果

Figure 1 に典型的な ESR スペクトルを、Figure 2 にメピバカインの濃度-反応曲線を示す。アミド系局所麻酔薬は、フリーラジカルを選択的に直接消去することが明らかとなった (Figure 3)。ヒドロキシルラジカル, アスコルビルフリーラジカル, 一重項酸素の3種類フリーラジカルは、検討した4種類すべての局所麻酔薬によって消去された。*tert*-ブトキシラジカルは dibucaine 以外のすべての局所麻酔薬で消去され、一酸化窒素は mepivacaine で消去されたが他の3つでは消去されなかった。チロシルラジカルは mepivacaine と lidocaine で消去された。スーパーオキシドアニオンラジカル, *tert*-ブチルペルオキシラジカル, DPPH は、4種類の局所麻酔薬のいずれによっても消去されなかった。また、TBARS アッセイにより、局所麻酔薬は過酸化脂質を抑制することが示された。

アミド系局所麻酔薬は、選択的に一部のフリーラジカルを直接消去することが明らかになった。このことが抗酸化作用の機序に関与していることが示唆された。直接的フリーラジカル消去能により、組織の酸化ストレスに対する保護作用が期待できる。例えば、リドカインが周術期の NADPH オキシダーゼ, nNOS, iNOS によって引き起こされる酸化的ストレス傷害を効果的に改善することや、抗炎症作用を持つことが報告されており、その機序の一つとして酸化ストレスの上流におけるヒドロキシルラジカルなどのフリーラジカルを直接的な消去が関与していることが示唆された。このことより、周術期の麻酔管理に局所麻酔を併用することにより、手術侵襲に伴う酸化ストレスに対する保護効果を期待できる可能性が示唆された。しかし、虚血再灌流傷害の最上流で発生するスーパーオキシドアニオンラジカルや一酸化窒素など消去されないフリーラジカルも認められたことから、期待される抗酸化作用の詳細は今後も検討される必要がある。周術期の麻酔管理に局所麻酔を併用することにより、手術侵襲に伴う酸化ストレスに対する保護効果が期待されることが示唆される。

Sato Y, Matsumoto S, Ogata K, Bacal K, Nakatake M, Kitano T, Tokumar O. The dose-response relationships of the direct scavenging activity of amide-based local anesthetics against multiple free radicals. *J Clin Biochem Nutr.* 2023;**73**:16-23. doi: 10.3164/jcfn.22-131.

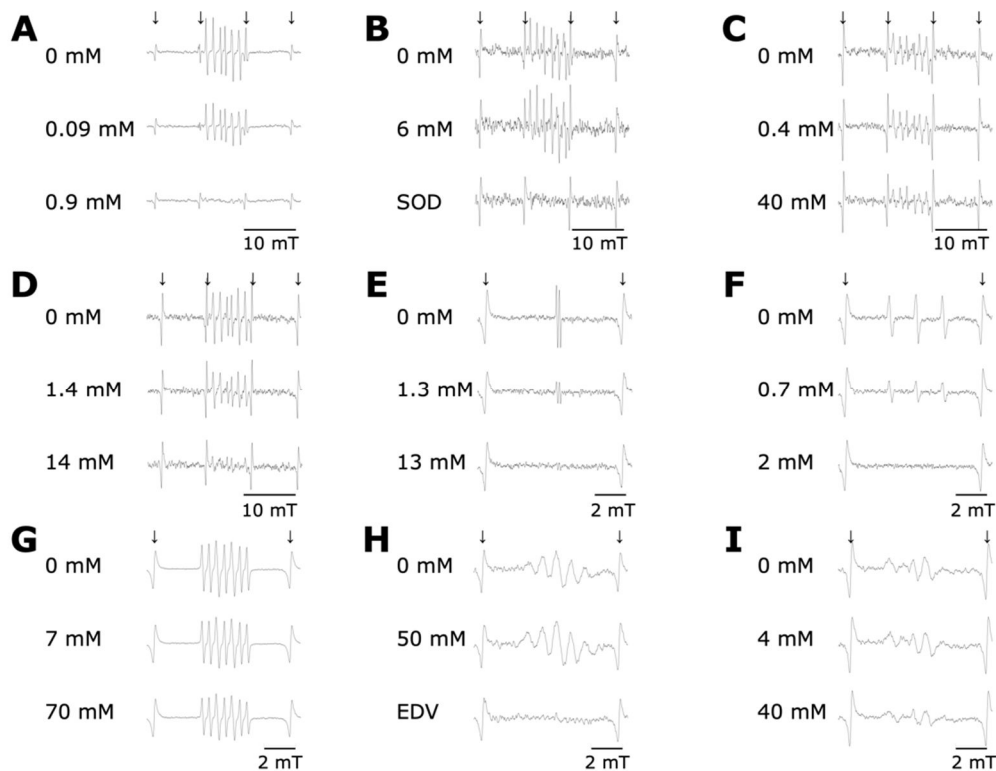


Figure 1 Electron spin resonance (ESR) spectra of free radicals

Typical ESR spectra of free radicals with the addition of various concentrations of mepivacaine; hydroxyl radical (A), superoxide anion (B), *tert*-butyl peroxy radical (C), *tert*-butoxyl radical (D), ascorbyl free radical (E), singlet oxygen (F), nitric oxide (G), DPPH radical (H) and tyrosyl radical (I). Signals on both ends of each spectrum, indicated by arrows, are those of the external standard of Mn^{2+} .

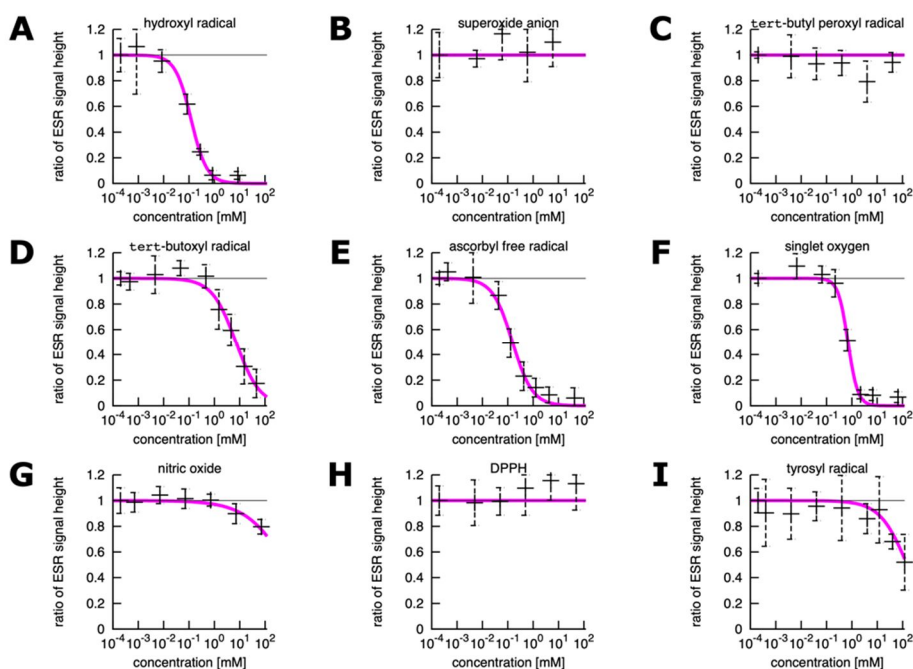


Figure 2 The dose-response curves of direct scavenging activity of mepivacaine against multiple free radicals.

Mepivacaine dose-dependently scavenged hydroxyl radical (A), *tert*-butoxyl radical (D), ascorbyl free radical (E), singlet oxygen (F), nitric oxide (G) and tyrosyl radical (I). However, it did not show radical-scavenging activity against superoxide anion (B), *tert*-butyl peroxy radical (C) and DPPH radical (H). Error bars indicate 95% confidence intervals. The vertical axes indicate ratios of ESR signal height.

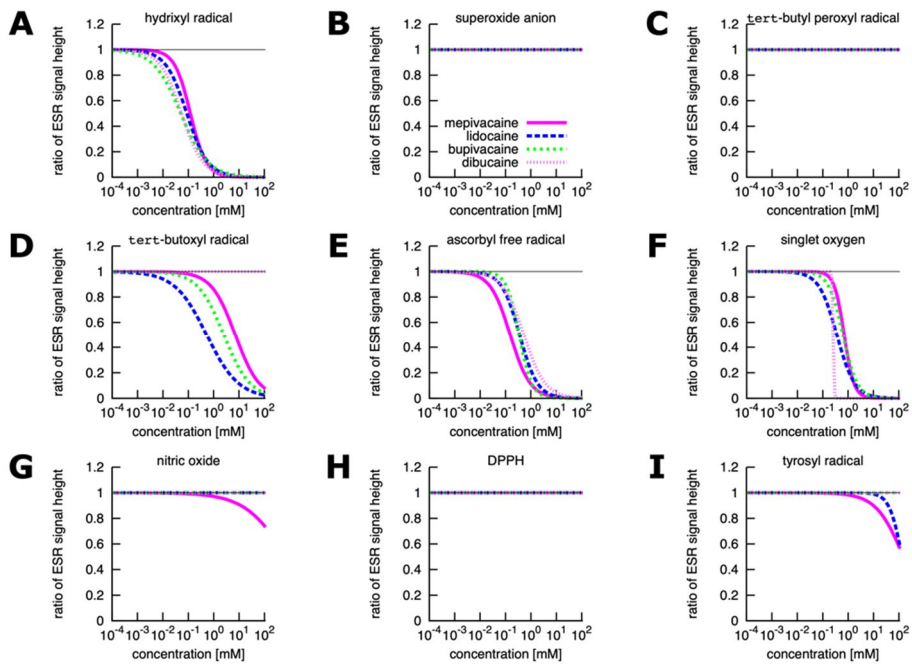


Figure 3 The dose-response curves of direct scavenging activity of local anesthetics against multiple free radicals.

Amide-type local anesthetics selectively and directly scavenge some free radicals. The three kinds of free radicals were eliminated by all the four local anesthetics (Hydroxyl radicals; A , Ascorbyl free radical; E , Singlet oxygen; F) examined. Other three free radicals (tert-butoxyl radical; D, nitric oxide; G, tyrosyl radical; I) were scavenged by not all the four local anesthetics. Concentrations of anesthetics are the same as those used for mepivacaine in Figure 3. The vertical axes indicate ratios of ESR signal height.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Sato Yukiko, Matsumoto Shigekiyo, Ogata Kazue, Bacal Kira, Nakatake Misato, Kitano Takaaki, Tokumaru Osamu	4. 巻 73
2. 論文標題 The dose-response relationships of the direct scavenging activity of amide-based local anesthetics against multiple free radicals	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition	6. 最初と最後の頁 16～23
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3164/jcfn.22-131	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Matsumoto Shigekiyo, Tokumaru Osamu, Ogata Kazue, Kuribayashi Yoshihide, Oyama Yoshimasa, Shingu Chihiro, Yokoi Isao, Kitano Takaaki	4. 巻 71
2. 論文標題 Dose-dependent scavenging activity of the ultra-short-acting 1-blocker landiolol against specific free radicals	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition	6. 最初と最後の頁 185～190
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3164/jcfn.21-157	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Tokumaru O, Ozaki Y, Kawano T, Ogata K, Eshima N, Matsumoto S, Kitano T.
2. 発表標題 Antioxidative activity of ketamine as a direct radical scavenger
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤祐貴子, 松本重清, 尾方和枝, 中武聖, 栗林由英, 北野敬明, 徳丸治
2. 発表標題 アミド型局所麻酔薬のフリーラジカル消去活性の評価
3. 学会等名 第76回日本酸化ストレス学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Tokumaru O, Higuchi A, Kawashima T, Ogata K, Ueno K, Miyamoto S
2. 発表標題 Antioxidative activity of a novel antioxidant "Substance X" as a direct free radical scavenger
3. 学会等名 第97回日本薬理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Osamu Tokumaru, Leon Yamasaki, Kazue Ogata, Shigekiyo Matsumoto, Takaaki Kitano
2. 発表標題 Antioxidative activity of remifentanil as a direct free radical scavenger
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 出村陽実, 尾方和枝, 徳丸治
2. 発表標題 複数のフリーラジカルに対するエチルピルビン酸の濃度依存的な消去活性
3. 学会等名 第71回西日本生理学会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 尾方 和枝, 小野可穂菜, 徳丸治
2. 発表標題 Antioxidative activity of fructose 1,6-bisphosphate as a direct free radical scavenger
3. 学会等名 第94回日本薬理学会年会
4. 発表年 2020年～2021年

〔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
研究分担者	新宮 千尋 (Shingu Chihiro) (30295191)	大分大学・医学部・准教授 (17501)	
研究分担者	徳丸 治 (Tokumaru Osamu) (40360151)	大分大学・福祉健康科学部・教授 (17501)	
研究分担者	松本 重清 (Matsumoto Shigekiyo) (90274761)	大分大学・医学部・准教授 (17501)	

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
---------	---------