

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 25 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24593058

研究課題名(和文) 中枢性鎮痛作用のある GABA 誘導体の全身麻酔への応用 - 麻薬依存型麻酔からの脱却 -

研究課題名(英文) The application of central analgesic activity of chemical derivatives of gamma-aminobutyric acid (GABA) to general anesthesia -the growing out of narcotic-dependent anesthesia-

研究代表者

怡土 信一 (ITO, SHINICHI)

九州大学・歯学研究科(研究院)・助教

研究者番号：00315095

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：静脈内鎮静法前に経口投与したプレガバリンが、麻酔作用に及ぼす効果について検討した。プレガバリン内服群では、BIS値(80-60)および一定のRamsay鎮静スコアにおけるプロポフォル血中濃度が対照群と比較して有意に低かった。現在、ガバペンチンについて同様の臨床試験を遂行中である。ラット海馬CA1領域錐体細胞において、グルタミン酸によるシナプス前神経終末部のCa²⁺濃度上昇をプロポフォルは濃度依存性に抑制した。プロポフォルは、シナプス後膜におけるGABA受容体の感受性増強だけでなく、興奮性神経伝達物質放出にも影響を及ぼすことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We examined the sedative effects of pregabalin on the intravenous sedation (IVS) using propofol. The propofol CTs at the BIS values of 60-80 were significantly reduced in the pregabalin group. The propofol CTs were significantly lowered at Ramsay's sedation score 3-6 in the pregabalin group. We conclude that oral premedication of pregabalin reduced the amount of propofol to obtain acceptable and adequate sedation level.

We investigated the effects of propofol on the glutamate-induced increase in [Ca²⁺]_{pre} in the presynaptic boutons of hippocampal CA1 pyramidal neurons. Propofol dose-dependently suppressed glutamate-induced increase in [Ca²⁺]_{pre} in boutons attached to dendrites, but not to the soma or base of the dendritic tree. Propofol may possibly have some effect on glutamate-regulated neurotransmitter release from excitatory presynaptic nerve terminals through inhibiting the increase in [Ca²⁺]_{pre} induced by glutamate.

研究分野：歯科麻酔学

キーワード：GABA誘導体 全身麻酔 シナプス前神経終末部 神経伝達物質 中枢神経系 プレガバリン ガバペンチン プロポフォル

1. 研究開始当初の背景

近年における麻酔法は、多様化・複雑化する傾向にあり、種々の麻酔薬・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。2007年に販売が開始されたレミフェンタニルの登場以来、我が国における麻酔法も大きく様変わりし、レミフェンタニルをベースとして、静脈麻酔薬や吸入麻酔薬を併用する方法が主流となってきている。レミフェンタニルやフェンタニルなどの麻薬は、強力な鎮痛作用を有する一方で、その副作用である呼吸抑制は麻酔科医にとって避けがたい難題となっている。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、その反面、その特徴のために、術後鎮痛効果を期待することは全くできない。フェンタニルを術後鎮痛の目的で使用する際には、鎮痛効果と呼吸抑制作用を上手にコントロールしなければならず、病棟での管理には十分な注意が必要となる。また、全身麻酔において頻用されているレミフェンタニルであるが、残念ながら、その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。さらに、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すためには、麻薬ばかりに頼らない麻酔法の工夫、開発を怠ってはならない。

我々の研究グループは、2003年よりラット海馬ニューロンにおける Ca^{2+} 濃度変化に関する報告を行っている。麻酔薬の薬理作用は、シナプス後膜側に対する抑制作用に目が行きがちだが、我々は以前からシナプス前神経終末部における作用に着目しており、シナプス前神経終末部の Ca^{2+} チャンネルからの Ca^{2+} 流入抑制作用について検討してきた。N型 Ca^{2+} チャンネルは、シナプス前神経終末部における主要な Ca^{2+} チャンネルであり、その抑制は強力な鎮痛作用を生み出すとされている。しかし、我が国においては、N型 Ca^{2+} チャンネル拮抗薬の鎮痛作用を期待する使用法は承認されておらず、N型 Ca^{2+} チャンネル拮抗作用を有する数少ない薬剤であるシルニジピンも、降圧薬としての使用に止まっている。

近年、注目を集めている、抑制性神経伝達物質である GABA (γ-アミノ酪酸) の化学誘導体ガバペンチンおよびプレガバリンは、我が国では、各々抗てんかん薬および末梢性神経障害性疼痛治療剤として承認されている薬剤である。両薬剤共、その詳細な作用機序は未だに不明であるが、中枢神経系におけるシナプス前神経終末部の Ca^{2+} (カルシウム) チャンネルを抑制し、興奮性神経伝達物質の放出を抑制することが、一つの作用機序として考えられている。さらに、ガバペンチンは脳内 GABA 量を増加させ、GABA トラン

スポーターを活性化することもわかっており、抗てんかん作用のみならず、鎮痛作用も有するとされている。ガバペンチンとプレガバリンは、GABA 誘導体であるが、GABA_A 受容体および GABA_B 受容体には活性がない。シナプス前神経終末部に多数存在する電位依存性 N 型および P/Q 型 Ca^{2+} チャンネルの 2

サブユニットに高い親和性を持ち、これらのチャンネルを介する Ca^{2+} 流入を抑制することで、特に興奮性神経伝達物質の放出を抑制すると考えられている。さらに、GABA 神経において、ガバペンチンは脳内 GABA 量を増加させ、GABA トランスポーターの細胞質から膜への細胞内輸送を促進し、GABA 神経系を亢進させる。ガバペンチンは、元来、抗てんかん薬として開発された薬剤だが、神経因性疼痛および神経障害性疼痛にも有効性が確認されている。また、プレガバリンも神経障害性疼痛に対する効果ばかりでなく、神経因性疼痛にも有効であるという報告もある。

2. 研究の目的

本研究では、中枢神経系において抑制作用を有する GABA 誘導体に着目し、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。

GABA 誘導体による中枢神経系の抑制は、GABA_A 受容体の活性に起因しないという作用機序のため、GABA_A 受容体に作用する多くの全身麻酔薬との併用により、麻酔作用の相乗効果が期待できる。また、GABA 誘導体は薬物相互作用がほとんどないと言われているため、他の麻酔薬との併用が容易になると考えられる。本研究では、GABA 誘導体による中枢神経系抑制作用を利用した麻酔法を開発するため、ガバペンチンおよびプレガバリンと麻酔薬の併用による方法の有効性について検討する。

本研究では、GABA 誘導体の全身麻酔への応用について、次の 2 点より総合的に検討する。

全身麻酔および静脈内鎮静法における麻酔深度、循環動態、術中術後鎮痛に対する GABA 誘導体の効果。

健康ボランティアまたは歯科手術患者を対象とし、麻酔薬の一定量または一定血中濃度(効果部位濃度)における GABA 誘導体使用群とコントロール群との比較検討を行う(臨床研究)。

ラット海馬ニューロンにおけるアゴニスト刺激および脱分極刺激に対する GABA 誘導体の効果。

特に、シナプス前神経終末部における Ca^{2+} 濃度変化を指標として、各種麻酔薬による抑制作用に対する GABA 誘導体の影響を検討する。また、興奮性神経伝達物質放出に対する GABA 誘導体の抑制効果は、 Ca^{2+} チャン

ル抑制作用のみに基づくものなのか、さらに、抑制性神経伝達物質放出に対する影響についても検証する（動物実験）。

GABA 誘導体を麻酔に応用する試みは、現在のところほとんど報告がないため、未開の分野となる。麻酔薬の作用に関する基礎的研究は、前述のように、これまでシナプス後膜の受容体に関する研究は盛んに行われてきたが、伝達物質放出という重要な役割を持っているシナプス前神経終末部に関してはあまりみることができない。神経終末部の Ca^{2+} 動態について、培養細胞やスライス標本では近年盛んに報告されているが、完全に単離されていないニューロンでは、中枢神経系ネットワークの一部としての神経終末部の機能、即ち上位の神経細胞に支配された機能しか推し量ることができない。神経終末部が付着したニューロンを生体から単離することは容易ではないが、我々は现阶段において、単一神経終末部内の Ca^{2+} 濃度変化および伝達物質放出のイメージングに成功している。本研究においては、単離された神経終末部の Ca^{2+} 濃度変化および伝達物質放出を共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察する。

特に歯科領域で需要の多い日帰り全身麻酔や静脈内鎮静法においては、より速やかな覚醒が求められるが、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、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、持続的な鎮痛作用を有する薬剤の使用は重要なポイントとなると考えられる。これらの点から、全身麻酔に GABA 誘導体を応用できれば、独創的かつ画期的な麻酔法になることが期待できる。

3. 研究の方法

本研究は、以下の2つの構成要素から成り、GABA 誘導体を応用した全身麻酔の意義・有用性について総合的に考察するものである。

全身麻酔および静脈内鎮静法における麻酔深度、循環動態、術中術後鎮痛に及ぼす GABA 誘導体の効果。

本臨床研究は、九州大学医系地区部局臨床研究（観察研究）倫理審査委員会の承認を得た後に開始されるものである。

健康ボランティアを対象として、麻酔薬の一定量または一定血中濃度（効果部位濃度）における GABA 誘導体使用群とコントロール群との比較検討を行う。

対象とするボランティアは、全身疾患の既往がない ASA（米国麻酔学会）の術前状態分類 Class 1 の男女とする。年齢は 20 代～30 代を想定しており、具体的には九州大学病院職員および九州大学大学院歯学府大学院生を予定している。

使用する麻酔薬は、TCI (Target Controlled Infusion: 目標血中濃度調節投与) が可能な

プロポフォールを用いる。同一被験者で、GABA 誘導体を服用しない場合と服用した場合について、プロポフォールの効果部位濃度に対する BIS (Bispectral Index) 値と循環動態（血圧、心拍数）、呼吸数、動脈血酸素飽和度の相関関係を調べる。さらに、鎮痛効果の判定をするために、一定の効果部位濃度において軽度な痛み刺激（口腔粘膜への注射針刺入など）を与え、刺激に対する BIS 値および循環動態の変化、体動の有無などを観察する。また、同部位の術後疼痛の差異を評価する。プロポフォールの効果部位濃度は、静脈内鎮静法に用いる濃度および全身麻酔導入に最低限必要な濃度を考慮し、0.0～3.0 $\mu\text{g/ml}$ の範囲で順次変化させ、呼吸抑制に十分配慮して麻酔管理を行う。

ラット海馬シナプス前神経終末部における Ca^{2+} 濃度変化および神経伝達物質放出に対する GABA 誘導体の効果。

ラットをベントパルビタールで麻酔後、断頭して脳を摘出し、厚さ約 400 ミクロンのスライスを作成する。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神経細胞が得られる。

単離したニューロンに Fluo 3-AM または Fluo 4-AM をロードし、共焦点顕微鏡下で Ca^{2+} 測光を行う。次に、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を同定する。各種刺激に対する Ca^{2+} 濃度変化に対して静脈麻酔薬は抑制作用を有するが、GABA 誘導体はこの抑制作用に影響を与えるかどうか確認する。また、FM1-43 取り込み後の各種刺激により、FM1-43 がシナプス小胞より放出されるが、GABA 誘導体のこの効果に対する影響を観察する。共焦点レーザー顕微鏡は既に設置されており、これまで種々の細胞における測定結果を報告している。

4. 研究成果

本研究課題のテーマである「全身麻酔および静脈内鎮静法における麻酔深度、循環動態、術中術後鎮痛に及ぼす GABA 誘導体の効果」について、九州大学医系地区部局臨床研究倫理審査委員会において研究実施が認められた。同倫理審査委員会より GABA 誘導体は 1 剤ずつ試験を行うよう勧告されたため、まずプレガバリンに関する研究を行った。本研究では、静脈内鎮静法 (IVS) を行い、IVS 前に経口投与したプレガバリンが鎮静中の鎮痛・麻酔作用に及ぼす効果について検討した。

健康な成人ボランティア 10 人を対象に、同一被験者に同一条件下で 3 回のプロポフォールによる IVS を施行した。

1 回目はプレガバリンを内服せず (対照群)、2 回目はプレガバリン 100 mg (100 mg 群)、3 回目はプレガバリン 200 mg (200 mg 群) を

IVS 開始 1 時間前に内服させ、各群間で比較検討を行った。プレガバリン内服群では、各 BIS 値 (200 mg 群 : BIS 値 80、70、60 ; 100 mg 群 : BIS 値 70、60) でのプロポフォール血中濃度が対照群と比較して有意に低かった。一定の Ramsay 鎮静スコアおよび Mackenzie 鎮静スコアにおけるプロポフォール血中濃度も、プレガバリン内服群で対照群よりも有意に低かった。プロポフォールによる血管痛に対する VAS 値は、200 mg 群で有意に低かった。痛み刺激に対する反応は、各群間で有意差がなかった。脈拍数は 200 mg 群で有意に減少していたが、血圧および経皮的酸素飽和度は対照群とプレガバリン内服群とで有意差はなかった。覚醒遅延、眠気、かすみ目などの併発症発生頻度および程度は、200 mg 群で有意に高かった。

最終年度にガバペンチンについて同様の臨床試験に着手した。倫理審査委員会の承認後に臨床試験を開始したが、当該年度内のデータ収集は完遂していない。今後、同臨床試験を継続して行う予定である。

動物実験における試みとして、ラット海馬 CA1 領域錐体細胞において、グルタミン酸によるシナプス前神経終末部の Ca^{2+} 濃度上昇をプロポフォールが濃度依存性に抑制することを発表した。プロポフォールの作用は、シナプス後膜における $GABA_A$ 受容体の感受性増強だけでなく、興奮性神経伝達放出にも影響を及ぼすことが示唆された。今後さらに、GABA 誘導體との併用による効果について検討する予定である。

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 2 件)

1. Noriko Karube, Shinichi Ito, Saori Sako, Takeshi Yokoyama. Effects of oral premedication of pregabalin on intravenous sedation using propofol. The 62nd Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research. 2014:84.
2. Shinichi Ito, Noriko Karube, Hitomi Sugiyama, Jun Hirokawa, Seiko Kitahara, Takeshi Yokoyama. Effects of propofol on glutamate-induced calcium mobilization in presynaptic boutons of rat hippocampal neurons. Open Journal of Anesthesiology. 2016; 6 (3): 27-36. DOI: 10.4236/ojanes.2016.63005

[学会発表](計 5 件)

1. 今田弘記、怡土信一、横山武志 . 九州大学病院歯科麻酔科における日帰り全身麻酔症例の臨床統計的観察 . 第 40 回 日本歯科麻酔学会総会・学術集会 . 福岡市 (平成 24 年 10 月 5、6 日)

2. 加留部紀子, 怡土 信一, 横山 武志 . 前投薬としてのプレガバリンが静脈内鎮静法に及ぼす影響 . 第 24 回九州歯科麻酔シンポジウム 北九州市 (平成 26 年 2 月 15 日)
3. Noriko Karube, Shinichi Ito, Saori Sako, Takeshi Yokoyama. Effect of Pregabalin on Intravenous Sedation Using Propofol Target-controlled Infusion. AAOMS (American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons) 96th Annual Meeting, Scientific Sessions & Exhibition, September/8-13/2014, Honolulu, Hawaii, USA.
4. Noriko Karube, Shinichi Ito, Saori Sako, Takeshi Yokoyama. Oral premedication of pregabalin may decrease propofol injection-induced pain. The 7th Annual Meeting of the Federation of Asian Dental Anesthesiology Societies (FADAS), October/11/2014, Niigata, Japan.
5. Noriko Karube, Shinichi Ito, Saori Sako, Takeshi Yokoyama. Effects of oral premedication of pregabalin on intravenous sedation using propofol. The 62nd Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research (JADR), December/4, 5/2014, Osaka, Japan.

[図書](計 0 件)

[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

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
()

研究者番号：

(3)連携研究者

(4)研究協力者
加留部 紀子 (KARUBE Noriko)