HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	全身及び局所麻酔薬の作用機序
Author(s)	鈴木, 邦明; 渋谷, 真希子; 長谷, 由理; 平沖, 敏文; 木村, 幸文; 藤澤, 俊明
Citation	北海道歯学雑誌, 37(2), 116-123
Issue Date	2017-03
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/65465
Type	article
File Information	37-02_02_suzuki.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

北海道歯誌　37：116−123，2017.

特　集

全身及び局所麻酔薬の作用機序

Reaction mechanism of general and local anesthetics

鈴木　邦明[1)]　渋谷真希子[2)]　長谷　由理[2)]　平沖　敏文[3)]
木村　幸文[2)]　藤澤　俊明[2)]

日常臨床において，全身麻酔も，局所麻酔も，高い安全性で実施されているが，全身麻酔薬及び局所麻酔薬の詳細な作用機序や，副作用の機序については，いまだに不明な点が多く残されている．全身麻酔の作用機序の仮説は，大きく，脂質に対する作用を重視する非特異説（リピド説）と，特定のタンパク質に対する作用を重視する特異説（タンパク説）とに分けられる．長年にわたる研究の中で，非特異説に傾いたり，特異説に傾いたりしてきたが，現在でも一致はみていない．本稿では，両説の現状を紹介した後に，非特異説に違いないと考えて著者らが行ってきた研究を紹介したい．局所麻酔薬の作用機構は，Na^+チャネルを遮断して神経インパルスの発生と伝導を抑制する，として確定されているが，Na^+チャネル以外のさまざまな受容体，イオンチャネルや酵素に作用することも認められている．局所麻酔作用に付随する種々の作用の詳細，あるいは副作用の機序という点では，不明な点も多い．本稿では局所麻酔薬の作用に関する現状を紹介した後，ATPaseを中心に著者らが行ってきた研究を紹介したい．

Ⅰ．全身麻酔薬[1−4)]

全身麻酔薬には吸入麻酔薬と静脈麻酔薬がある．いずれも中枢神経系の機能全般を可逆的に抑制し，意識消失，無痛，不動，健忘，筋弛緩などの作用を引き起こすが，他臓器に対する副作用に関しては，麻酔薬によって全く異なっている．膨大な研究の蓄積があるにもかかわらず，全身麻酔薬の作用機構は確定されていない．一元説では，すべての麻酔薬は普遍的な機序によって麻酔状態を生ずるとするが，一元説を否定する見解は，個々の薬物はそれぞれ異なった作用機序を持つとする．一元説の中には，麻酔薬にはγ-アミノ酪酸（GABA）の受容体など共通する特定の作用部位があるとする特異説と，特定の結合部位はないとする非特異説（脂質溶解説など）が含まれる．

非特異説を支持する根拠には，大きさや化学構造の異なる分子が，共通の特異的な結合部位や受容体に結合して麻酔作用を示すのは困難であることがある．また，吸入麻酔薬の光学異性体は一般的にほぼ同等の麻酔作用を示すことから，特異的な受容体があるとは考えにくいとする．さらに，全身麻酔薬の薬理学的な拮抗薬が発見されていないことも，特異的な受容体は存在しないということを支持する．

1．脂質溶解説（非特異説）[1−4)]

非特異説の中心をなす説が，Meyer-Overtonの法則により，麻酔薬の作用部位は脂溶性部位であり細胞の脂質二重層膜であるとする脂質溶解説である．吸入麻酔薬は全身のすべての水に分布するが，脂肪組織において最も高濃度となり，麻酔薬のオリーブ油に対する溶解性と麻酔作用の強度にはきれいな相関がある．ほとんどの脂質溶解説では，麻酔薬は脂質二重層膜に溶け込み，一定濃度に達したところで膜タンパク質の機能に変化を与えて全身麻酔状態を生ずると説明する．ヘリウムのような麻酔作用のない気体を用いて高圧をかけると，麻酔作用に拮抗できることも脂質溶解説を支持する．一方，脂質溶解説の弱点は，いくつかの静脈麻酔薬に光学異性体によって麻酔作用強度が異なる立体特異性が示されたことや，麻酔薬と構造が極めて類似しMeyer-Overtonの法則からは麻酔作用が示唆されるのに作用を示さないものが知られていることである．最近，脂質溶解説においてMeyer-Overtonの法則の改良が提唱されている．脂質への直接の溶解度と麻酔作用の比較ではなく，水性と油性との界面における分子の溶解性など，界面での溶解性を考えることにより従来のMeyer-Overtonの法則に合わない薬物の例を説明しようというものである．水

[1)] 〒060−8586 札幌市北区北13条西７丁目
北海道大学大学院歯学研究科　口腔病態学講座　細胞分子薬理学教室
[2)] 〒060−8586 札幌市北区北13条西７丁目
北海道大学大学院歯学研究科　口腔病態学講座　歯科麻酔学教室
[3)] 〒060−8628 札幌市北区北13条西８丁目
北海道大学大学院工学研究院　応用物理学分野

と膜との界面，タンパク質と膜の界面など，麻酔薬は疎水性と親水性の界面で作用するとして説明を試みている．脂溶性と麻酔強度との相関は，麻酔薬の脂溶性の程度が，神経細胞膜の疎水部分の標的タンパク質に到達する濃度に影響する，ということで説明されている．

2．特定のタンパク質に対する作用（特異説）[1-4]

全身麻酔薬は神経の軸索伝導とシナプスにおける伝達の両方に影響するが，シナプス伝達の方を低濃度で調節する．従って，電位依存性のイオンチャネルよりもリガンド依存性のイオンチャネルに対する作用が重要であると考えられる．

麻酔薬はGABA$_A$受容体やグリシン受容体など抑制性の神経伝達を行う受容体の作用を増強する．GABA$_A$受容体のクロライドチャネルは，ハロゲン化吸入麻酔薬，プロポフォール，バルビツール酸系などの麻酔薬の，臨床使用濃度において影響を受ける．GABA$_A$受容体やグリシン受容体に対してほとんど影響を及ぼさない全身麻酔薬は，ケタミン，亜酸化窒素とキセノンだけである．麻酔薬がこれらの受容体に結合すると，γ-アミノ酪酸（GABA）あるいはグリシンに対する親和性を増大させ，より低濃度でアゴニストの作用を発現する．また，イオンチャネルの開口状態を安定化して最大反応も増大させると考えられている．ハロゲン化吸入麻酔薬は，two-pore domain channelとして知られるK^+チャネルも活性化する．一方，麻酔薬はニコチン性アセチルコリン受容体，セロトニンの5-HT3受容体，グルタミン酸のNMDA受容体などの興奮性神経伝達を行う受容体を抑制する．麻酔薬はこれらの受容体のアゴニストに対する親和性には影響することなく，最大反応のみ抑制する．

比較的最近まで，多くの全身麻酔薬がGABA$_A$受容体の作用を増強することから，麻酔作用の発現にはGABA$_A$受容体の作用増強が重要であると考えられてきた．現在は，麻酔薬によるグリシン受容体，ニコチン性アセチルコリン受容体，NMDA受容体に対する作用も重要であると考えられている．従って，特定のタンパク質というより，脂質溶解説に対して，タンパク質作用説という状況である．なお，これらのイオンチャネルに対する麻酔薬の直接の結合部位，たとえばイオンチャネルの内側か外側か，どのサブユニットに結合するのかなどについてはほとんど明らかにはなっていない．また，タンパク質に対する作用の結果からは，Meyer-Overtonの法則に従う麻酔薬の作用については説明することができない．吸入麻酔薬と静脈麻酔薬の全身麻酔作用の機序は異なる，すなわち一元論ではないとして説明されるのかもしれない．

3．リポソームを用いた脂質溶解説に関する研究

1）電子スピン共鳴（ESR）法による解析

著者らは，細胞の形質膜に存在する数種の膜結合型ATPaseに対する全身麻酔薬の作用の研究から，非特異説であると確信した．そこで，リポソームを生体膜のモデルとして，電子スピン共鳴法，あるいは核磁気共鳴法による解析から，全身麻酔薬の作用を物理化学的な作用として明らかにしたいと考え，共同研究者と以下の研究を行った．

渋谷ら[5]は，生体膜の研究によく使用されるステアリン酸スピンラベル剤として，5-doxyl stearic acid（5-DSA）と16-doxyl stearic acid（16-DSA）を選択した．5-DSAと16-DSAはアルキル鎖中のラジカルの位置が異なることから，異なる部位にラベルできると考えられる．そこで，5-DSA及び16-DSAの電子スピン共鳴（ESR）スペクトルを指標に，全身麻酔薬がスピンラベル剤周囲の環境に与える影響について検討した．麻酔薬及び関連薬として，diethylether, halothane, isoflurane, sevoflurane, ethanol, propofol及びthiamylalを使用した．

メタノールを溶媒として測定したところ，5-DSA及び16-DSAのシャープなスペクトルが観察されたが，麻酔薬を添加してもスペクトルの変化は認められず，スペクトルをもとに計算したオーダーパラメータ（S）及び回転相関時間（τ）にも，変化は認められなかった．単なる溶媒中では，麻酔薬はスピンラベル剤周囲の環境に影響を与えることはできないことが示唆された．

そこでSDS（sodium dodecyl sulfate）ミセルを生体膜のモデルとして，スペクトルに対する麻酔薬の影響を調べることにした．SDSでミセルが形成される環境下で5-DSA及び16-DSAを混入してESRスペクトルを測定し，麻酔薬を添加したところ，S及びτの変化が認められた．変化の程度は麻酔薬の種類によって異なり，麻酔薬の種類によってスピンラベル剤周囲の環境変化の程度が異なることが示唆された．SDSミセルの使用により麻酔薬による環境変化の検出が可能となったが，生体膜のモデルとしては不十分であることも明らかであった．

そこで生体膜構成脂質であるphosphatidylcholine（PC）に5-DSA及び16-DSAを混入して，広く生体膜モデルとして使用されている二重層構造の閉鎖小胞であるリポソームを作成した[6]．5-DSA及び16-DSAのESRスペクトルを測定したところ，両者のスペクトル及びSの値が異なることから，両ラベル剤のニトロキシドラジカルは二重層膜の異なる位置に存在することが示された．5-DSA及び16-DSAの分子構造の違いを考慮すると，5-DSAは膜の表層付近に存在し，16-DSAは比較的内部に存在すると推測された．また，両者のSの差から，二重層膜の表層よりも内部の方が，ラベル剤周囲の可動性が高いことが示された．両者のスペクトル，S及びτ値に対する上記７種の全身麻酔薬の作用を測定したところ，いずれも顕著な影響を示さな

かった．この結果は，麻酔薬は脂質二重層膜の表層にとどまっており，ラベル剤の存在する内部まで影響を及ぼさない，すなわち二重層膜内に入らないことを示唆する．上述のように，現在の脂質溶解説は，全身麻酔薬は水-脂質界面で作用すると修正されつつあり，本研究結果はその説を支持するものである．なお，本研究は多重層リポソーム（multilamellar vesicle : MLV）と小さな一枚膜リポソーム（small unilamellar vesicle : SUV）を使用して独立に実験を行ったが，どちらでも同様の結果が得られ，リポソーム膜の形態による影響はないと考えられた．

Shibuyaら[7]は，さらに，生体膜のモデルとしてのタンパク質を保持するリポソームに対する麻酔薬の影響を検討するために，ラット脳のミクロソームあるいはラット脳から精製したNa, K-ATPaseを組み込んだ，大きな一枚膜リポソーム（large unilamellar vesicle : LUV）を作成して，上記と同様の実験を行ったが，得られた結論は同じであった．すなわち，タンパク質の有無にかかわらず，全身麻酔薬はリポソームの脂質二重層膜の内部には入らないと結論した．

木村ら[8]は，リポソームで得られた上述の結果が，リポソームを構成するPCの種類や，測定温度によって影響される可能性について検討した．飽和脂肪酸としてdimyristoylphosphatidylcholine（DMPC）とdipalmytoilphosphatidylcholine（DPPC），不飽和脂肪酸としてdioleoylphosphatidylcholine（DOPC），そして両者の混合脂肪酸としてegg yolk phosphatidylcholine（EYPC）を用いて，5-DSA及び16-DSAを混入したリポソームを作成してESRスペクトルを測定し解析した．その結果，二重層膜における5-DSA及び16-DSAの位置とスペクトルから得られる情報は，PCの種類による影響を受けないこと，また，温度が上昇するとどのPCでもリポソーム膜の流動性は上昇すること，PCの種類により相転移温度が異なるために特定の温度領域での流動性には違いがあるが，液晶層での測定ではPCの違いによる問題は生じないことを確認した．次いで，5-DSA及び16-DSAを混入したDMPC，DOPC，EYPCから作成したMLVを使用して，isofluraneとsevofluraneの作用及び温度の影響をESR測定により解析した[9]．その結果，麻酔薬は低温ほど顕著にリポソーム膜の流動性を増大することと，その作用はsevofluraneよりもisofluraneの方が強いことを明らかにした．

2）核磁気共鳴（NMR）法による解析

電子スピン共鳴（ESR）法による解析から得られた，全身麻酔薬はリポソームの脂質二重層膜内部には入らないとする結論を検証するために，本間らは[10]，フッ素原子を含む吸入麻酔薬の^{19}F-NMRの測定によって，リポソーム膜における吸入麻酔薬の作用部位を検討した．EYPCからMLVあるいはLUVを作成し，MLV及びLUVに対するisoflurane，また，MLVに対するsevoflurane及びdesfluraneの影響を検討するため，^{19}F-NMRスペクトルを測定し，リポソームの有無での線形，化学シフト，縦緩和時間（T_1）及び横緩和時間（T_2）を比較した．また，リポソームにスピンラベル剤5-DSAあるいは16-DSAを混入して^{19}F-NMRスペクトルに対するスピンラベル剤の影響を調べることにより，リポソームにおける吸入麻酔薬分子とスピンラベル剤の位置を検討した．

MLV及びLUV溶液にisoflurane，MLV溶液にsevofluraneあるいはdesfluraneを加えても，^{19}F-NMRスペクトルの線形と化学シフトには変化は認められなかったが，1/T2値は1/T1値に比べ著しく増加した．これらの結果は，リポソーム膜上に結合している吸入麻酔薬分子と結合していない分子が，結合と解離を繰り返す化学交換をしていることを示唆する．次に，吸入麻酔薬に対するリポソーム中の5-DSAおよび16-DSAの影響を調べた．^{19}F-NMRスペクトルの$1/T_1$及び$1/T_2$値は，スピンラベル剤との相互作用によって著しく大きくなり，その程度は5-DSAのほうが大きかった．これらの結果は，5-DSA及び16-DSA電子と^{19}F核との間に磁気的双極子－双極子相互作用が生じた結果と考えられ，影響の大きい5-DSAのほうが16-DSAより吸入麻酔薬分子との距離は近いことを示す．上述したESRスペクトルの解析から，5-DSAのほうが16-DSAよりもリポソーム膜の表層に存在する．すなわち，吸入麻酔薬分子はリポソーム膜の表層側に存在し，膜の内部に入らないことが示唆された．また，isofluraneの分子構造中のCF_3基とCF_2基のうち，CF_2基がリポソームから大きな影響を受けることから，CF_2基がリポソームに向いて結合すると示唆された．これらの結果から，吸入麻酔薬分子はリポソーム表面に対して結合と解離を繰り返す状態で存在し，内部には入らないと結論した．リポソームは生体膜のモデルとして使用されているが，生体膜そのものではないので限界はあるが，著者らの行った一連の研究結果は，最近の脂質溶解説が行き着いた，全身麻酔薬は生体膜との界面で作用するという仮説を支持するものである．

4．生体膜酵素に対する全身麻酔薬及び関連薬の作用に関する研究

著者らは，全身麻酔薬の作用の場が生体膜であるのなら，最初の作用点は脂質であっても，その影響を受けて細胞機能の変化をもたらすのは生体膜に存在する各種受容体，イオンチャネル，あるいは酵素であると考え，生体膜酵素に対する全身麻酔薬及び関連薬の作用を研究してきた．

1）Na, K-ATPaseに対する全身麻酔薬及び関連薬の作用

Na, K-ATPaseは，ほぼすべての動物細胞の形質膜に存在し，神経系においては細胞の興奮性の維持に関与する酵

素である．常時機能する酵素であるため，生体のエネルギー消費量に占める割合も高く，安静時の全細胞の消費エネルギーの３割，神経系においては７割をNa, K-ATPaseが消費すると計算されている．

川田ら[11, 12]は全身麻酔薬および関連薬のウサギ脳Na, K-ATPase活性に対する作用を広範に検討した．揮発性麻酔薬のdiethylether，halothane，isoflurane及びsevoflurane，バルビツール酸系静脈麻酔薬のpentobarbitalとthiopental，ベンゾジアゼピン系薬物のmidazoram，diazepam及びflunitrazepam，そしてdroperidolとketamieは，すべて濃度依存的にNa, K-ATPase活性を抑制した．揮発性麻酔薬に関しては，それぞれの麻酔薬のNa, K-ATPase活性の50％阻害濃度（IC_{50}）と麻酔作用の強さの指標とされるMAC値の間に強い相関（r=0.94）が見られた．また，阻害機構はグループ毎に異なった．揮発性麻酔薬はNa, K-ATPase反応中に出現するリン酸化反応中間体（EP）のK^+感受性を低下させ，ベンゾジアゼピン系薬物はEP形成を抑制し，ketamineはK^+結合酵素からのK^+遊離の過程を阻害することにより，Na, K-ATPase活性を阻害することが示唆された．ヒト麻酔臨床におけるMACと各麻酔薬のIC_{50}を比較すると，halothaneは類似していたが，ether，sevoflurane，isoflurane，enfluraneのIC_{50}値はMAC値と比較して1.6から1.8倍高かった．一方，thiopental及びpentobarbitalのIC_{50}値は，ヒトにおけるEC_{50}値と比較して80から90倍高かった．これらの結果から，少なくとも静脈麻酔薬によるNa, K-ATPase活性の阻害は，麻酔作用ではなく副作用あるいは中毒に関与すると考えられる．同様の結果はウサギ腎臓のNa, K-ATPase活性に対しても得られたことから，脳のNa, K-ATPaseに対する結果は臓器非特異的な作用だと考えられた[13]．

長谷ら[14]はpropofolによるラット脳Na, K-ATPase活性の阻害機構を詳細に解析した．PropofolはNa, K-ATPase活性を濃度依存性に1.03 mMでほぼ完全に抑制した．50％活性阻害濃度は0.26 mMであり，50％の患者が皮膚切開に反応を示さない血中濃度に対して２から３倍高かった．Na, K-ATPase活性の阻害は可逆的であり，阻害の様式は拮抗型でも非拮抗型でもなく，混合型であった．Propofolの作用部位はGABA受容体であるとされている．Na, K-ATPase活性も阻害されるが，臨床血中濃度より高い濃度を要した．

飯田[15]はベンゾジアゼピン系薬物であるmidazoram, diazepam及びflunitrazepamのNa, K-ATPase活性阻害作用を検討した．いずれも濃度に依存して活性を阻害したが，活性阻害濃度は臨床使用濃度と比較して高濃度であり，また，活性阻害はほぼ不可逆的であった．Na, K-ATPaseに対する作用は副作用あるいは中毒に関連するものと考えられた．

神経遮断性麻酔に使用されるdroperidolがNa, K-ATPase活性を抑制するという報告があることから，谷脇[16]はウサギ及びラット脳Na, K-ATPase活性に対するdroperidolの作用を検討した．Droperidolは濃度に依存して活性を阻害し，その作用は可逆的であったが，通常の臨床濃度より高濃度を必要とすることから副作用あるいは中毒に関連するものと考えられた．Droperidolより強力なドパミンD2受容体遮断薬であるspiperone，及び神経遮断性麻酔でdroperidolと併用されるfentanylはNa, K-ATPase阻害作用を示さなかった．

作用点が生体膜であると考えられる揮発性麻酔薬は，濃度依存的にNa, K-ATPase活性を阻害した．Na, K-ATPaseの活性発現には脂質の共存が必須であることから，小野[17]は活性発現に脂質を必要としないアルカリ性ホスファターゼ（ALP）に対する揮発性麻酔薬の作用を比較検討した．実験に用いたether，halothane，sevoflurane，isofluraneなどの揮発性麻酔薬は，Na, K-ATPase活性を阻害したが，腎臓型及び胎盤型ALP活性を阻害しなかった．しかし，ether以外の麻酔薬は小腸型ALP活性を阻害した．ALPはダイマー構造をとることから，サブユニット間の相互作用に影響するSDS存在下で活性を測定したところ，小腸型ALP活性に対する麻酔薬の阻害作用は消失した．これらの結果は，細胞膜結合酵素の方が揮発性麻酔薬の作用を受けやすいが，タンパク質の構造によっては，脂質を必要としないタンパク質であっても揮発性麻酔薬の影響を受けることを示唆する．

２）Na, K-ATPase以外の膜結合型ATPaseに対する静脈麻酔薬の作用

田仲ら[18]はラット脳のCa, Mg-ATPase活性に対するpropofol，pentobarbital及びthiopentalの作用を調べた．いずれの麻酔薬もCa, Mg-ATPase活性を濃度依存的に阻害した．50％阻害濃度は順に0.35，３及び1.5 mMであり，各静脈麻酔薬によるNa, K-ATPase活性の阻害濃度に類似していた．これらの結果から，Ca, Mg-ATPase活性に対する静脈麻酔薬の作用は特異的なものではなく，生体膜を構成する脂質とタンパク質に対する作用の結果として，活性が阻害されたものと考えられた．

一方，宮本ら[19]は，ラット脳のMgで活性化されるV型，F型及びBasalのMg-ATPaseに対するpropofol, pentobarbital及びthiopentalの作用を調べた．いずれの麻酔薬もV型，F型及びBasalのMg-ATPase活性を濃度依存的に阻害したが，propofolはF型Mg-ATPase活性だけを80％程度活性化した．

Propofolやketamineは細胞死を引き起こすという報告があることから，今渡ら[20]は胚性腫細胞株P19EC細胞に対する静脈麻酔薬の作用を検討した．Propofol, pentobarbital及びketamineはいずれも高濃度ではアポトーシスによる細胞死を引き起こした．しかしレチノイン酸

処理によりP19EC細胞を神経細胞に分化させることにより細胞死の作用は低下し，静脈麻酔薬の毒性の発現は細胞の分化の影響を受けることが示唆された．

５．ーまとめー，著者らの研究も含めて

リポソームを用いた研究結果は，全身麻酔薬は生体膜との界面で作用するという最近の脂質溶解説を支持するものであった．タンパク質のモデルとしてATPase活性に対する作用を検討した結果は，麻酔作用の発現よりは高い濃度での阻害が多く，麻酔作用には関係しないと判断せざるを得ない結果がほとんどであった．一方で，ほとんどの全身麻酔薬および関連薬がNa, K-ATPaseなどの膜結合酵素を阻害したことは，作用が非特異的であることを示唆する．全身麻酔薬および関連薬は広範囲の生体膜結合タンパク質に作用するのであろう．そのうち，麻酔作用の濃度で作用するもの，たとえばGABA受容体の亢進は麻酔作用機序となり，より高濃度だと麻酔作用に付随する作用あるいは副作用となるのではないだろうか．このことが全身麻酔薬の安全域が狭い理由だと推測する．脂質に対する作用と，タンパク質に対する作用が独立した事象なのか，関連するのかについては今後も課題として続きそうである．一連の研究からもたらされた結論は非特異説である．

Ⅱ．局所麻酔薬

１．作用機構[1–4)]

局所麻酔薬は神経細胞膜に作用し神経インパルスの発生と伝導を抑制する．正常では，細胞膜の軽度な脱分極により一過性のNa^+に対する透過性の増大が生じるが，局所麻酔薬が細胞の内側から電位依存性のNa^+チャネルの特定部位に結合すると，Na^+の細胞内への流入を阻止する．神経内での麻酔作用が進行するにつれて，電気的興奮性に対する閾値が次第に高くなり，活動電位の立ち上がり速度が減少して，インパルスの伝導が遅くなる．これらの結果，活動電位が伝播する確率が減少し，最終的に神経伝導が停止する．

Na^+チャネルにはサブタイプが存在するが，現在使用されている局所麻酔薬はすべてのNa^+チャネルを阻害するので，様々な副作用をしめす．少なくとも10種のNa^+チャネルアイソフォームが同定されており，そのうち４種が末梢神経系に存在する．これらのうち痛覚の伝導に関与するNa^+チャネルを特異的に遮断できれば，副作用の少ない局所麻酔薬を開発することができる可能性があるが，まだ見いだされていないようである．

一方で，局所麻酔薬は他の膜タンパク質にも結合することができ，生化学的あるいは生理学的な効果を示す．K^+チャネル，Ca^{2+}チャネル，ニコチン性アセチルコリン受容体などのイオンチャネルに加えて，ムスカリン性アセチルコリン受容体，β-アドレナリン受容体，サブスタンスP受容体などのGタンパク質共役型受容体にも影響する．また，GタンパクをGタンパク質共役型受容体から脱共役させて細胞内情報伝達機構を遮断することもある．局所麻酔薬のなかにはNa^+チャネル以外の受容体に作用して治療効果や毒性を示すものもある．たとえば局所麻酔薬がNK1受容体に結合すると，サブスタンスPのNK1受容体への結合を抑制して，疼痛閾値を上昇させる．

２．副作用[1–4)]

局所麻酔薬は電位依存性Na^+チャネルの遮断により局所麻酔作用を示すが，そのほかにも多種多様な作用があり，望ましい作用もあれば有害な作用もある．局所麻酔薬の副作用は中枢神経系と心臓血管系への作用が主であり，ほとんどの局所麻酔薬は中枢神経系に抑制作用と興奮作用をともに起こす．血中濃度が低いと抑制作用を示すが，高いと振戦や痙攣などの興奮作用が出現し，さらに濃度が上昇すると強い中枢神経系抑制作用を示し，呼吸抑制により死に至る．見かけ上の興奮作用は大脳皮質の抑制系が遮断された結果と考えられている．

３．Na, K-ATPase[21)]

静止時の神経細胞膜は，Na^+に対する透過性は低いがK^+に対しては選択的な透過性を示すので，細胞内外で60から90 mVの電位差を維持している．細胞の形質膜に存在しATPの加水分解エネルギーを用いてNa^+を細胞内から細胞外に，K^+を細胞外から細胞内に輸送する酵素Na, K-ATPaseは，電位差を生み出すこのイオン較差を維持する．神経の刺激による活動電位の発生の際は，Na^+チャネルを介したNa^+の流入による脱分極と，K^+チャネルを介したK^+の流出による再分極で終了する．１回の活動電位が終了してもNa^+とK^+の濃度はほとんど変化しないが，この過程によるごく微量のNa^+とK^+の流出入は，Na, K-ATPaseの作用により回復する．

Na, K-ATPaseは動物細胞の場合ほぼすべての細胞の形質膜に存在して，細胞内外のNa^+とK^+の濃度勾配の維持に関与する．その結果，細胞内外の電位差が維持され，神経系，筋肉細胞の興奮性が保たれる．また，Na^+の移動は水の移動を伴うため，細胞内外の浸透圧の維持，その結果としての細胞容積の維持など，基本的な細胞の機能を担う．さらには，Na, K-ATPaseの作り出すNa^+の濃度勾配は，小腸における糖やアミノ酸の二次能動輸送による吸収に利用され，シスプラチンなどの薬物の細胞内取り込みにも関与する．また，Na, K-ATPaseは心不全治療薬である強心配糖体の作用点でもある．Na, K-ATPaseは局所麻酔薬の作用部位である末梢神経系だけでなく，重要な副作用の場である中枢神経系や心臓血管系にも多い．このようなことから，著者らは，Na, K-ATPaseに対する局所麻酔薬の作用を研究してきた．

4．Na, K-ATPaseに対する局所麻酔薬の作用

著者ら[22-24]はウサギとラットの脳，及びウサギの腎臓から精製したNa, K-ATPaseに対するlidocaine，procaine，dibucaineの作用を調べた．いずれも濃度依存的にNa, K-ATPase活性を抑制し，その機構はNa, K-ATPaseのリン酸化反応中間体の形成阻害であり，その作用は可逆的であることを示した．また，ATPase活性を阻害する局所麻酔薬の濃度は局所浸潤麻酔で使用される濃度範囲であった．麻酔作用はprocaine，lidocaine，dibucaineの順序で強くなり，臨床的な麻酔作用の強度及び中毒作用発現の順序と一致していた．これらの結果は，浸潤麻酔によって送り込まれた局所麻酔薬は，その部位に存在するNa, K-ATPase活性を可逆的に阻害することを示し，麻酔作用の一部あるいは副作用に関与が可能であることを示す．また，局所麻酔薬は，Na, K-ATPaseであれば，脳や腎臓などの由来臓器，及びウサギやラットなどの由来動物を区別しないことも確かめられた．

一連の実験に使用しているNa, K-ATPaseは細胞形質膜の断片の中に存在する状態にあり，細胞の内外の区別はないが，酵素活性の発現には脂質の存在が必須である．精製には界面活性剤であるラウリル硫酸ナトリウムを使用しているが，その濃度が高すぎるとタンパク質としては純度を高くできるが，酵素活性は失われる．そこで，黒住[25]らはウサギ脳由来の精製Na, K-ATPase活性に対する局所麻酔薬と脂質の影響を調べた．Dibucaine，bupivacaine，prilocaine，lidocaine，procaineは，それぞれの局所麻酔薬が臨床で使用される濃度範囲で，濃度依存性にNa, K-ATPase活性を阻害した．活性の50％阻害濃度と，局所麻酔薬の力価あるいは毒性のあいだには相関が見られた．生体膜構成脂質であるphosphatidylcholine（PC）とphosphatidylethanolamine（PE）の作用を調べたところ，PCとPEはprocaine以外の局所麻酔薬による阻害を増強し，特にlidocaineによる阻害を強めた．局所麻酔薬のNa, K-ATPaseに対する作用には，細胞膜のリン脂質も影響を与えることが示された．Na, K-ATPase周囲の脂質がNa, K-ATPaseの分子構造あるいはサブユニット間の相互作用に影響し，局所麻酔薬に対する反応性に影響を及ぼす可能性が考えられる．局所麻酔薬の作用には，Na^+チャネルの遮断以外に，脂質に対する親和性が重要であるとの報告もあり，これらの結果はその報告を支持するものである．

5．骨芽細胞由来酵素に対する局所麻酔薬の作用

歯科臨床において，局所麻酔薬は歯槽骨周囲に浸潤麻酔として使用される．作用部位には骨のリモデリングに関与する骨芽細胞や破骨細胞が存在するので，これらの細胞に対する局所麻酔薬の作用を考慮する必要があると考えられるが，詳細は明らかではない．そこで，骨芽細胞が有する酵素活性を指標として，各種局所麻酔薬の作用を検討した．骨芽細胞由来酵素についての報告は見られなかったので，木村[26]らは骨芽細胞由来のCa及びMg-ATPaseと，ヒト骨由来のアルカリ性ホスファターゼ（ALP）に対する局所麻酔薬の作用を検討した．Dibucaine，tetracaine，prilocaine，lidocaine，procaineは臨床使用濃度の範囲で，濃度に依存してCa及びMg-ATPase活性を阻害した．各麻酔薬の両ATPase活性抑制の順序は，臨床的に推定されている各麻酔薬の作用あるいは毒性の強さの順序にほぼ一致していた．Prilocaine，lidocaine，procaineは骨由来のALP活性を阻害したことから，骨形成に影響を及ぼす可能性がある．一方，局所麻酔作用がより強力なdibucaineとtetracaineはALP活性を抑制しなかった．Dibucaineとtetracaineは局所麻酔薬の中では脂溶性が高いとされるが，ALPは形質膜に存在する酵素ではなく，活性発現に脂質の共存を必要としないため，dibucaineとtetracaineによって阻害されなかったと推測される．ALP活性阻害の機構は，局所麻酔の機構や麻酔薬の脂溶性とは関係しないことを示唆する．以上の結果のように，局所麻酔薬は骨芽細胞のCa及びMg-ATPase活性を阻害し，prilocaine，lidocaine，procaineは骨ALP活性を阻害することから，骨形成局所で為害作用を引き起こす可能性がある．

6．局所麻酔薬による脳のCa及びMg-ATPase活性に対する作用

局所麻酔薬は血液脳関門を容易に通過する．局所麻酔薬の重要な有害作用に中枢作用があるが，その作用機序には不明な点が多い．そこで，岩本ら[27]はラット脳の６種類のCa-ATPase及びMg-ATPaseに対する局所麻酔薬の作用を調べた．その結果，procaine，tetracaine，lidocaine，prilocaine，bupivacaine及びdibucaineは，６種のうち２種類のCa-ATPase及びMg-ATPase活性を，臨床で使用される濃度域で濃度依存的に阻害した．局所麻酔作用が強いtetracaineとdibucaineは，他の局所麻酔薬と比較して阻害作用が強かった．また，活性の阻害は可逆的であった．活性が阻害されるATPaseが同定されていないので，今後の課題であるが，脳内に入った局所麻酔薬の副作用に，これらのATPaseの阻害が関与する可能性はあると考えられる．

7．ーまとめー，著者らの研究も含めて

局所麻酔作用がNa^+チャネルの遮断によって引き起こされることは，多くの研究によって確立されている．一方で，局所麻酔薬が各種受容体，イオンチャネル，酵素など様々な生体内のタンパク質に作用することも認められている．これらの作用は，局所麻酔に付随する作用に関与し，あるいは副作用に関連すると考えられる．本稿で紹介したように，局所麻酔薬は，臨床濃度で各種酵素活性を阻害し，その阻害の強さと臨床的な麻酔作用の強さ，毒性は良

く相関する．このことは局所麻酔薬の特異性は低いことを示唆する．臨床的にも注意が必要であり，研究の必要があると考えられる．ただ，これらの非特異的な作用と比較すると，Na^+チャネルの遮断に必要な濃度は十分低いとされている．

謝　　辞

本稿で紹介した研究を一緒に行ってきた多数の大学院生，研究生，教員の皆様と，歯科麻酔学教室及び歯科薬理学教室の皆様に感謝いたします．

参 考 文 献

1） Miller RD eds.（武田純三他，監訳）：Miller's Anesthesia 6 th edition（ミラー麻酔科学）．87-106, 251-300, 453-476, メディカル・サイエンス・インターナショナル，東京，2007.
2） Brunton L, Chabner B, Knollman B eds.（高折修二他，監訳）：Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 12 th edition（グッドマン・ギルマン薬理書）．664-735, 廣川書店，東京，2013.
3） Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ（樋口宗史，前山一隆　監訳）：Rang and Dale's Pharmacology 6 th edition（ラング・デール薬理学）．511-520, 619-626, 西村書店，東京，2011.
4） Golan DE eds.（清野　裕　監訳）：Principles of Pharmacology, The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy（病態生理に基づく臨床薬理学）．129-148, 221-244, メディカル・サイエンス・インターナショナル，東京，2006.
5） 渋谷真希子，鈴木邦明，平沖敏文，木村邦衛，堤　耀廣，福島和昭：スピンラベル剤のESRスペクトルに対する全身麻酔薬の影響．北海道歯誌，24 : 229-237, 2003.
6） 渋谷真希子，平沖敏文，木村邦衛，堤　耀廣，鈴木邦明，福島和昭：リポソーム中に存在するスピンラベル剤のESRスペクトルと全身麻酔薬の影響．北海道歯誌，25 : 68-76, 2004.
7） Shibuya M, Hiraoki T, Kimura K, Suzuki K, Fukushima K : The effects of general anesthetics on ESR spectra of spin labels in phosphatidylcholine vesicles containing purified Na, K-ATPase or microsomal protein. Applied Surf Sci, 262 : 102-106, 2012.
8） 木村邦衛，平沖敏文，渋谷真希子，福島和昭，鈴木邦明：リポソーム中のスピンラベル剤の周辺環境に及ぼすホスファチジルコリンの種類と温度の影響．北海道歯誌，25 : 346-355, 2004.
9） 木村邦衛，平沖敏文，渋谷真希子，福島和昭，鈴木邦明：リポソーム中のスピンラベル剤の周辺環境に及ぼす吸入麻酔薬の影響とその温度依存性．北海道歯誌，25 : 356-367, 2004.
10） 本間将一，平沖敏文，渋谷真希子，鈴木邦明，藤澤俊明：^{19}F-NMR測定によるリポソームを生体膜モデルとした吸入麻酔薬の作用部位の研究．北海道歯誌，印刷中，2015.
11） 川田　達：全身麻酔薬および関連薬がウサギ脳Na^+, K^+-ATPaseに及ぼす影響に関する研究．北海道歯誌，20 : 39-50, 1999.
12） Kawada I, Suzuki K, Matsumoto A, Fukushima K : Diverse inhibitory effects of general anesthetics on Na^+, K^+-ATPase activity in rabbit brain. In Na/K-ATPase and Related ATPases (Eds. Taniguchi K, Kaya S), International Congress Series 1207, 701-704, ELSEVIER, Amsterdam, 2000.
13） Kawada I, Suzuki K, Sakakibara N, Kaneta H, Matsumoto A, Fukushima K : Inhibition of Na^+, K^+-ATPase activity in rabbit kidney by general anesthetics. Oral Ther Pharmacol, 18 : 17-28, 1999.
14） Hase Y, Deyama Y, Yoshimura Y, Suzuki K, Fukushima K : Mechanism for propofol inhibition of Na, K-ATPase activity in rat brain. Hokkaido J Dent Sci, 32 : 147-155, 2012.
15） 飯田　彰：ベンゾジアゼピン系薬物がウサギ脳Na^+, K^+-ATPaseにおよぼす影響．北海道歯誌，21 : 266-276, 2000.
16） 谷脇明宏：ドロペリドールによるラット脳Na^+, K^+-ATPase活性阻害機構に関する研究．北海道歯誌，21 : 256-265, 2000.
17） 小野智史：揮発性麻酔薬のNa, K-ATPaseとアルカリ性ホスファターゼにおよぼす影響に関する研究．北海道歯誌，21 : 245-255, 2000.
18） 田仲宏光，出山義昭，吉村善隆，鈴木邦明，福島和昭：ラット脳カルシウムATPase活性の静脈麻酔薬による抑制．北海道歯誌，32 : 222-229, 2012.
19） 宮本健志，出山義昭，吉村善隆，鈴木邦明，藤澤俊明：ラット脳各種ATPase活性に対する静脈麻酔薬の作用．北海道歯誌，印刷中，2014.
20） 今渡隆成，出山義昭，吉村善隆，鈴木邦明，福島和昭：胚性腫細胞株P19EC細胞の静脈麻酔薬による細胞死に関する研究．北海道歯誌，29 : 61-68, 2008.
21） Kaplan JH : Biochemistry of Na, K-ATPase. Annu Rev Biochem, 75 : 511-535, 2002.
22） 鈴木邦明，川田　達，榊原典幸，金田泰幸，吉村善隆，出山義昭，西方　眞，松本　章：ウサギ脳，腎臓およびラット脳Na, K-ATPaseの局所麻酔薬による阻害．歯科薬物療法, 17 : 133-137, 1998.

23）鈴木邦明，川田　達，飯田　彰，小野智史，吉村善隆，出山義昭，西方　眞，松本　章：局所麻酔薬によるNa, K-ATPase活性の阻害機構と活性阻害の可逆性. 歯科薬物療法, 18 : 79-83, 1999.

24）Suzuki K, Kawada I, Iida S, Ono S, Deyama Y, Nishikata M, Matsumoto A : Inhibition of Na, K-ATPase activity by local anesthetics in rat brain and rabbit brain and kidney. In Na/K-ATPase and Related ATPases (Eds. Taniguchi K, Kaya S), International Congress Series 1207, 747-750, Elsevier, Amsterdam, 2000.

25）黒住章弘，鈴木邦明，飯田　彰，福島和昭：局所麻酔薬によるウサギ脳Na^+，K^+-ATPase活性抑制と脂質による影響．北海道歯誌，24 : 132-141, 2003.

26）木村幸文，渋谷真希子，小畑　真，鈴木邦明，福島和昭：骨芽細胞由来酵素に対する局所麻酔薬の作用．北海道歯誌，28 : 18-26, 2007.

27）岩本理恵，鈴木邦明，長谷由理，渋谷真希子，木村幸文，藤澤俊明：ラット脳のCa-及びMg-ATPase活性の局所麻酔薬による可逆的な抑制．北海道歯誌，印刷中，2015.