



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	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 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	岩本, 理恵
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第12162号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/62193
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Rie_Iwamoto_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏 名 岩 本 理 恵

学 位 論 文 題 名

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

【諸言】局所麻酔薬は細胞内に入って細胞内から Na チャネルに結合し、神経細胞の興奮による Na イオンの流入を阻止し活動電流の発生を抑制することにより麻酔作用を示すとされている。しかし、局所麻酔薬の作用は知覚神経に特異的なわけではなく、運動神経、自律神経はもちろん、心筋、骨格筋、平滑筋を含む全ての細胞膜を安定化してその機能を抑制するとされ、その結果は時に有害な作用につながる。これら全ての作用を Na チャネルの抑制で説明することは困難である。

全ての局所麻酔薬は化学構造に窒素を持つことから、血液脳関門を容易に通過するため、過量投与などで血中濃度が上昇すると中枢作用を示す。中枢神経系の興奮に関しては、局所麻酔薬による大脳皮質の抑制系の遮断や、興奮性の神経伝達物質であるグルタミン酸の放出による刺激等が考えられているが、不明な点が多く残されている。

脳内にはイオン輸送、情報伝達やエネルギー変換に関与する種々の Ca^{2+} 及び Mg^{2+} で活性化される ATP 加水分解酵素が存在するが、それらに対する局所麻酔薬の作用に関する報告は少ない。そこで、著者らは局所麻酔薬による中枢神経系作用に、脳内の Ca-及び Mg- ATPase が関与している可能性があると考え、脳内の Ca-及び Mg- ATPase に対する局所麻酔薬の作用を検討した。

【材料と方法】ラット全脳から Pottorf の方法に従って形質膜（P II）及びミク

ロソーム (PIII) 分画を分離した。Ca-及び Mg- ATPase 活性を pH 7.4 あるいは 9.5 で測定し、活性に対する局所麻酔薬の作用を調べた。局所麻酔薬として procaine, tetracaine, lidocaine, prilocaine, bupivacaine, dibucaine の 6 種類を使用した。また、必要に応じて azide 存在下で活性を測定した。さらに、Ca- ATPase 及び Mg- ATPase 活性に対する局所麻酔薬(lidocaine, tetracaine, dibucaine) の作用が可逆的かあるいは不可逆的かを検討した。

【結果】pH 7.4 での P II Ca- ATPase 活性の局所麻酔薬による阻害の実験では、bupivacaine 及び dibucaine では濃度依存性に有意な阻害作用がみられたが、その他の局所麻酔薬においては低濃度で軽度の活性化が認められた。また、pH 7.4 での P III の Ca- ATPase 活性の阻害実験では、dibucaine($K_{i0.5}$ は 5.6 mM) では活性の阻害が認められたが、他の局麻薬では有意な阻害はみられなかった。

tetracaine や lidocaine では低濃度で活性化が認められた。pH 9.5 での P II Ca- ATPase 活性の阻害実験では、全ての局所麻酔薬で活性阻害が認められた。

tetracaine の 50 %阻害濃度は 1.6 mM で、阻害作用が強くみられたが、活性が完全に抑制されることはなかった。pH 7.4 での P II Mg- ATPase 活性の阻害実験では、活性の低下傾向を示す局所麻酔薬も認められるが、procaine や lidocaine では有意な抑制はみられなかった。また、pH 7.4 での P III Mg- ATPase 活性の阻害実験においても、dibucaine では濃度依存性に有意な阻害がみられたが($K_{i0.5}$ は 2.2 mM) 、他の局麻薬による阻害は有意ではなかった。 tetracaine では低濃度で活性化がみられた。pH 9.5 での P II Mg- ATPase 活性の阻害実験では、全ての局所麻酔薬で濃度依存性の阻害がみられた。 dibucaine と tetracaine による阻害が有意であったが、阻害の程度は完全ではなかった。P II Mg- ATPase 活性の局所麻酔薬による阻害が F- ATPase の阻害である可能性を確かめるために、 pH 9.5 での阻害実験を azide 存在下で行った。その結果、各局所麻酔薬は濃度依存性に

ATPase 活性を抑制し、dibucaine が最も強い阻害を示した。さらに、活性回復実験では、lidocaine, tetracaine 及び dibucaine 共に希釈により活性は回復した。

【考察】6 種類の ATPase 活性のうち、pH 7.4 で最大活性を示す P II 及び P III の 4 種類の Ca- 及び Mg- ATPase 活性は共通した阻害作用を示さなかったため、それ以上の検討は行わなかった。pH 9.5 で最大活性を示す P II の Ca-ATPase 及び Mg- ATPase 活性は各局所麻酔薬により濃度依存的に抑制され、麻酔作用あるいは副作用が強いとされる dibucaine や tetracaine では強い抑制を示した。10 mM の lidocaine の場合 P II Ca- ATPase 活性では約 77.7 %、Mg- ATPase 活性では約 40.9 %に活性が抑制された。2 %の lidocaine 注射液のモル濃度は約 74 mM に相当することから、浸潤麻酔で注入された部位での濃度は P II の Ca-ATPase 及び Mg- ATPase 活性が抑制される濃度と比較すると、相当に高濃度である。過量投与により血中局所麻酔薬濃度が上昇し、血液脳関門を通過して脳内に入った際の濃度に関しては薬物動態論に基づいた検証が必要になるが、脳内に入った局所麻酔薬による Ca- ATPase 及び Mg- ATPase 活性の抑制が有害作用の標的となる危険性についてはさらに検討される必要があると考えられる。本研究において、10 mM までの局所麻酔薬による Ca- ATPase 及び Mg- ATPase 活性の抑制の程度は 100 %ではなかった。これは、今回の部分精製では P II の Ca- ATPase 及び Mg- ATPase 活性はまだ 1 種類ではなく、局所麻酔薬によって阻害されない活性も混在しているからと考えられる。Mg- ATPase については、azide 存在下でも、各局所麻酔薬による活性の抑制が認められたことから、各局所麻酔薬は F- ATPase ではなく、Basal Mg- ATPase 活性を濃度依存性に抑制すると考えた。しかし、Basal Mg- ATPase 活性の機能はまだ不明であり、局所麻酔薬による Basal Mg- ATPase 活性抑制と有害作用の関連を明らかにするためには、Basal Mg- ATPase の機能の解明が必要である。一部の局所麻酔薬では低濃度での軽度の活性化が認められ

た。この現象に関しては、局所麻酔薬の界面活性剤的效果によって、膜酵素である ATPase 活性が軽度増加したと考えられるが詳細は明らかではない。Ca-ATPase 及び Mg-ATPase 活性における活性回復実験では、lidocaine, tetracaine 及び dibucaine のいずれの局所麻酔薬でも、希釈により濃度を下げると活性が回復した。これは、局所麻酔薬による作用は可逆的であり、時間経過により局所の麻酔薬濃度が下がると ATPase 活性の抑制は回復することを示唆する。また、同様の結果は神経系において重要な機能を示す Na, K-ATPase についても報告されている。

【結論】ラット脳には局所麻酔薬により可逆的に活性が抑制される Ca- 及び Mg-ATPase 活性が存在し、脳内に局所麻酔薬が到達すると機能は抑制されることが考えられた。